

**Министерство здравоохранения Республики Беларусь  
ГУ «Республиканская научная медицинская библиотека»**

**Ministry of Health of the Republic of Belarus  
Republican Scientific Medical Library**

**Достижения  
медицинской науки  
Беларуси**

Выпуск XVIII

Рецензируемый научно-практический ежегодник

**Accomplishments  
of Medical Science  
in Belarus**

18<sup>th</sup> Issue

Минск



РНМБ

2013

**УДК 61 : 001] (476)**  
**ББК 5 (4 Бел)**

**Д 70**      **Достижения** медицинской науки Беларуси = Accomplishments of medical science in Belarus : рецензируемый науч.-практ. ежегодник. Вып. 18 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, ГУ «Респ. науч. мед. б-ка»; ред.: В.И. Жарко (гл. ред.) и др. — Минск : ГУ РНМБ, 2013. — 250 с. : ил.

ISBN 978-985-7044-15-3

Данный сборник подготовлен в целях информационного обеспечения учреждений практического здравоохранения, содействия расширению научных связей, а также продвижения научно-технических разработок государственных медицинских (фармацевтических) научных организаций на внутренний и мировой рынок.

Публикуемые материалы содержат информацию об отдельных результатах научных исследований, выполненных в государственных медицинских (фармацевтических) научных организациях Республики Беларусь в 2012–2013 гг. Сборник предназначен для научных работников, а также специалистов практического здравоохранения.

Компьютерная версия книги размещена в сети Интернет в гипертекстовой базе данных «Достижения медицинской науки Беларуси» на медицинском портале <http://www.med.by>.

**УДК 61(001)(476)**  
**ББК 5**

This collection is prepared with the aim of information support of public health institution, facilitation of scientific links, and advancement of research-and-technology accomplishments of Belarusian scientific medical organization to domestic and world markets.

The materials published contain information on the basic results of the research conducted at the institutions of Belarus' Health Ministry in 2012–2013.

The book is intended for scientists and specialists in public health.

The computer version of the book is placed in Internet in hypertext database “Accomplishments of Medical Science in Belarus” on the medical portal <http://www.med.by>.

### **Редакционный совет:**

В.И. Жарко (гл. редактор)  
Д.Л. Пиневиц (зам. гл. редактора)  
канд. мед. наук, доц. В.А. Филонюк (зам. гл. редактора)  
канд. мед. наук, доц. К.У. Вильчук  
д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич  
д-р мед. наук, проф. Ю.Е. Демидчик  
д-р мед. наук, проф. А.Г. Мрочек  
канд. мед. наук, доц. А.В. Сикорский  
д-р мед. наук, проф. О.Г. Суконко  
канд. мед. наук, доц. А.Л. Танин

ISBN 978-985-7044-15-3

© Министерство здравоохранения  
Республики Беларусь, 2013

© ГУ «Республиканская научная медицинская  
библиотека», 2013.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ И РЕАБИЛИТАЦИИ

УДК 616.8:616.721.6]-036.86

### Технология медицинской реабилитации пациентов с неврологическими проявлениями поясничного остеохондроза

*В.Б. Смычек, И.Я. Чапко, А.Н. Филиппович,  
Н.В. Стахейко, Т.В. Черевко, О.Н. Фрид*

**Рубрики: 76.35.35; 76.29.51**

**НИР:** «Разработать и внедрить экспертно-диагностическую методику количественной оценки неврологических проявлений поясничного остеохондроза и технологию этапной реабилитации данной категории пациентов».

**Сроки выполнения НИР:** I кв. 2010 г. – IV кв. 2012 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф. В.Б. Смычек.

**Источник финансирования:** госбюджет.

Разработанная технология предназначена для организации реабилитации лиц с неврологическими проявлениями (осложнениями) поясничного остеохондроза и вызванными ими ограничениями жизнедеятельности врачами-специалистами реабилитационных поликлинических и стационарных отделений, врачебно-консультационных комиссий организаций здравоохранения, медико-реабилитационных экспертных комиссий, санаторно-курортных учреждений, другими специалистами, непосредственно занимающимися реабилитацией пациентов с неврологическими проявлениями поясничного остеохондроза.

Технология медицинской реабилитации пациентов с неврологическими проявлениями поясничного остеохондроза предусматривает реализацию следующих этапов: выбор объекта реабилитации и предмет реабилитации; экспертно-реабилитационная диагностика; первичная оценка реабилитационного потенциала, краткосрочного и долговременного прогноза реабилитации; дифференцированная реабилитационная оценка с соотношением реабилитанта к клинико-реабилитационной группе и подгруппе; медицинская экспертиза (с оценкой категорий и степени ограничений жизнедеятельности, степени риска инвалидизации); формирование индивидуальной программы реабилитации; практическое выполнение индивидуальной программы реабилитации; оценка эффективности реабилитационных мероприятий и формирование дальнейшего реабилитационного маршрута.

Задачи и содержание конкретных мероприятий этапной реабилитации применяемых методик определяются рядом факторов: характером неврологического синдрома, стадией процесса, индивидуальными психологическими особенностями пациента, морфологическими особенностями (проявлениями) патологического процесса (определяемые при компьютерно-томографическом исследовании структур позвоночника, электронейромиографическом исследовании, рео-

вазографии сосудистой системы нижних конечностей) и др.

Мероприятия медицинской реабилитации должны осуществляться с использованием протоколов медицинской реабилитации, что позволяет учесть принципы этапности, преемственности мероприятий, постепенность возрастания нагрузок с учетом функциональных резервов. Разработанные протоколы реабилитации построены по синдромологическому принципу, дифференцированы в зависимости от степени выраженности нарушений (распределены по функциональным классам). Подраздел реабилитационно-экспертная диагностика содержит методы обследования, которые разделены на обязательные и дополнительные, необходимые для оценки наличия и выраженности нарушений, реабилитационного потенциала, а также динамики восстановления нарушений в процессе реабилитации.

Мероприятия медицинской реабилитации в протоколах представлены объемом реабилитационной помощи (продолжительность курса медицинской реабилитации, кратность курсов в течение года, количество отдельных процедур, продолжительность процедуры, время проведения (при необходимости выстраивания процесса в определенной последовательности) и предполагаемый конечный результат. Протоколы включают критерии оценки эффективности медицинской реабилитации. Определение эффективности реабилитационных мероприятий и формирование дальнейшего реабилитационного маршрута предусматривают конечную оценку реализации этапа реабилитационных мероприятий и определяют достигнутый эффект. На этом же этапе реабилитационного маршрута врачом-реабилитологом составляются рекомендации по дальнейшей медицинской или медико-профессиональной реабилитации (в случае угрозы потери профессиональной пригодности), мероприятиям социальной реабилитации или выносятся рекомендации о направлении пациента для освидетельствования в медико-реабилитационной экспертной комиссии (в случае необходимости продления временной нетрудоспособности или освидетельствования на предмет установления инвалидности).

Отечественные и зарубежные аналоги разработанной продукции отсутствуют.

**Предложения по сотрудничеству:** консультативная помощь при внедрении.

### **The technology of medical rehabilitation of patients with neurological manifestations of lumbar degenerative disc disease**

*V.B. Smychek, I.Ya. Chapko, A.N. Filippovich,  
N.V. Stakheyko, T.V. Cherevko, O.N. Frid*

The developed technology helps to provide rehabilitation for patients with neurological manifestations of the lumbar degenerative disc disease and the limitations caused

by their activity. The technology consists of the following steps:

- select the object and the subject of rehabilitation;
- rehabilitation expert diagnosis;
- initial assessment of rehabilitation potential and prognosis of rehabilitation;
- rehabilitation assessment;
- medical examination and practical implementation of the individual program of rehabilitation;
- evaluation of the effectiveness of rehabilitation measures.

УДК 616.72-002.77-036.82/.85

### Программы медицинской реабилитации пациентов с заболеваниями ревматологического профиля

*В.Б. Смычек, Т.М. Лецинская, Е.В. Власова-Розанская, Н.Л. Львова*

**Рубрики: 76.29.31; 76.35.35**

*НИИР:* «Разработать и внедрить комплексную систему реабилитации пациентов с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой».

*Сроки выполнения НИИР:* 2010–2013 гг.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук Е.В. Власова-Розанская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка программ медицинской реабилитации пациентов с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой.

Для достижения поставленной в исследовании цели проведено клиничко-инструментальное и профессиографическое обследование 193 пациентов с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой. Из них 47 (24,4%) пациентов — с системной красной волчанкой, 44 (22,8%) — с системной склеродермией, 102 (52,8%) — с подагрой. Средний возраст пациентов составил  $54,5 \pm 0,5$  года.

Оценены клинические показатели в зависимости от выявленных нарушений со стороны систем организма, вовлеченных в патологический процесс (анамнез, данные объективного обследования и т.д.); функциональные (показатели инструментального тестирования); профессиографические показатели.

Результаты проведенного обследования в соответствии с разработанными ранее программами реабилитационной диагностики по объективизации состояния пациентов с ревматическими заболеваниями позволили дифференцировать состояние пациентов по 4 функциональным классам (ФК).

В соответствии с ФК состояния систем организма, вовлеченных в патологический процесс, и этапом оказания реабилитационной помощи (стационарным, амбулаторно-поликлиническим) впервые в Республике Беларусь разработаны программы медицинской реабилитации пациентов с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой.

Разработанные и используемые нами стандартизированные программы реабилитации лиц с заболеваниями

ми ревматологического профиля в краткой форме и наглядно отражают весь курс реабилитационных мероприятий в целом и отдельные его этапы, дифференцированные в зависимости от категории пациентов, фазы реабилитации. Структурно они содержат степень выраженности нарушений, методы обследования, которые разделены на обязательные и дополнительные, необходимые для оценки динамики восстановления нарушений в процессе реабилитации. Подробно представлен объем реабилитационной помощи, количество процедур, продолжительность отдельных процедур, время проведения и предполагаемый конечный результат. Внедрение стандартных режимов реабилитации пациентов направлено на унификацию в организации реабилитации в республике.

Разработанные программы включают основные и дополнительные методы экспертно-реабилитационной диагностики, мероприятия физической реабилитации (лечебная гимнастика, дыхательная гимнастика, лечение положением, самостоятельные занятия гимнастикой, дозированная ходьба, тредмил-, велотренировки и т.д.), методы физиотерапевтического лечения, бальнеотерапии, основной базисной и симптоматической медикаментозной терапии, психологической реабилитации.

Разработанные программы не имеют отечественных и зарубежных аналогов.

Таким образом, научная новизна данного исследования заключается в том, что впервые сформированы программы реабилитации пациентов с заболеваниями ревматологического профиля, являющиеся неотъемлемой составляющей современного процесса проведения реабилитационных мероприятий.

Впервые в Республике Беларусь разработаны программы реабилитации пациентов с заболеваниями ревматологического профиля, что позволит повысить качество оказания реабилитационной помощи, прогнозировать исходы медицинской реабилитации, увеличить возврат пациентов к трудовой деятельности.

*Область применения:* реабилитация, ревматология, терапия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в реабилитационных учреждениях республики для повышения эффективности реабилитации пациентов с заболеваниями ревматологического профиля.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### Programs of medical rehabilitation of patients with the diseases of rheumatologic profile

*V.B. Smychek, T.M. Leschinskaya, E.V. Vlasova-Rozanskaya, N.L. Lvova*

Aim of research is the development of programs of medical rehabilitation of patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, gout.

There were examined 193 patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, gout. Among them: 47

(24,4%) patients had systemic lupus erythematosus, 44 (22,8%) — systemic scleroderma, 102 (52,8%) — gout. The average age of patients was 54.5±0.5 years.

For the first time there were developed the programs of medical rehabilitation for patients with the named diseases.

The volume of rehabilitation help, the number of procedures, the duration of separate procedures, and the results are presented in the work.

*Field of application:* rehabilitation, rheumatology, therapy.

*Recommendations for use:* the results of research can be used in rehabilitation departments to increase the efficiency of rehabilitation in patients with the diseases of rheumatologic profile.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.72-002.77-036.82/.85

### Комплексная система реабилитации пациентов с ревматическими заболеваниями

В.Б. Смычек, Т.М. Лецинская, Е.В. Власова-Розанская, Н.Л. Львова

**Рубрики: 76.29.31; 76.35.35**

*НИР:* «Разработать и внедрить комплексную систему реабилитации пациентов с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой».

*Сроки выполнения НИР:* 2010–2013 гг.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук Е.В. Власова-Розанская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка системы комплексной реабилитации пациентов с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой.

Проведено комплексное клиничко-функциональное, профессиографическое обследование 193 пациентов с ревматическими заболеваниями. Из них 47 (24,4%) пациентов — с системной красной волчанкой, 44 (22,8%) — с системной склеродермией, 102 (52,8%) пациента — с подагрой. Средний возраст пациентов составил 54,5±0,5 года.

Клиничко-функциональное обследование пациентов проводилось в соответствии с разработанными программами реабилитационно-экспертной диагностики, включающих основные и дополнительные методы обследования, показатели, их характеризующие, с количественной интерпретацией.

Оценены профессиографические показатели для определения профессиональной пригодности и состояния трудоспособности данной категории пациентов.

Разработана комплексная система реабилитации лиц с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой, представляющей собой комплекс составляющих: общие положения, критерии формирования клиничко-реабилитационных групп, программы реабилитационно-экспертной диагностики, критерии определения реабилитационного потенциала, программы медицинской реабилитации, критерии эффективности реабилитационных мероприятий. Приведены аспекты профессиональной реабилитации: показанные

и противопоказанные факторы трудового процесса, рекомендуемые профессии, критерии ограничения жизнедеятельности — способности к трудовой деятельности, программа профессиональной реабилитации, что обладает несомненной научной новизной и практической значимостью.

Общие положения включают структурные подразделения региональной службы реабилитации, основные направления деятельности, задачи службы в медицинском, социальном и профессиональном аспектах.

Приведены впервые разработанные в Республике Беларусь программы реабилитационно-экспертной диагностики состояния пациентов с ревматическими заболеваниями по клиничко-функциональным параметрам, охватывающие ряд показателей, позволяющих достоверно объективизировать весь спектр инвалидирующих морфофункциональных нарушений, ведущих к социальной недостаточности пациентов с дифференциацией по функциональным классам.

Впервые разработаны критерии определения реабилитационного потенциала в зависимости от выявленных клиничко-функциональных нарушений и профессиографических критериев с определением высокого, среднего и низкого реабилитационного потенциала. Впервые разработаны критерии разделения реабилитантов с ревматическими заболеваниями на клиничко-реабилитационные группы с распределением в зависимости от степени выраженности: ограничений жизнедеятельности, типа и уровня инвалидирующих последствий, имеющегося реабилитационного потенциала.

Одной из основных составляющих комплексной системы являются впервые разработанные в Республике Беларусь программы медицинской и профессиональной реабилитации пациентов с системной красной волчанкой, системным склерозом, подагрой.

Использование разработок НИР в практическом здравоохранении позволит сократить сроки временной нетрудоспособности, снизить тяжесть и уровень первичной инвалидности, повысить качество жизни пациентов, что является критериями эффективности разработанной системы и, в конечном итоге, позволит достичь значимого медико-социального и экономического эффектов.

Разработанная комплексная система не имеет отечественных и зарубежных аналогов.

Таким образом, научная новизна проведенного исследования заключается в том, что впервые разработана комплексная система реабилитации пациентов с заболеваниями ревматологического профиля, являющаяся основой современного процесса проведения реабилитационных мероприятий и медицинской экспертизы состояния данной категории пациентов для определения медико-социальных исходов.

*Область применения:* реабилитация, медико-социальная экспертиза, ревматология, терапия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в реабилитационных и экспертных учреждениях республики для повышения эффективности реабилитации и качества

медико-социальной экспертизы пациентов с заболеваниями ревматологического профиля.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Complex rehabilitation system for patients with rheumatic diseases**

*V.B. Smychek, T.M. Leschinskaya,  
E.V. Vlasova-Rozanskaya, N.L. Lvova*

The aim of research was to develop the system of complex rehabilitation of patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, gout.

There were examined 193 patients with rheumatic diseases. Among them: 47 (24.4%) patients had systemic lupus erythematosus, 44 (22.8%) — systemic scleroderma, 102 (52.8%) — gout. The average age of patients was 54.5±0.5 years.

There was developed the complex system of rehabilitation of patients with the named diseases: general provisions, criteria of formation of clinical rehabilitation groups, programs of rehabilitation and expert diagnostics, criteria of determination of rehabilitation potential, a program of medical rehabilitation, criteria of efficiency of rehabilitation. The program of professional rehabilitation possesses undoubted scientific novelty and practical importance.

УДК 616.33-006.6-089-036.82/85

### **Программы медицинской реабилитации пациентов после оперативного лечения рака желудка**

*Э.Э. Вальчук, Т.Н. Глинская, С.В. Судиловская,  
Е.А. Сироткина, А.Ф. Мартыневский*

**Рубрики: 76.35.35; 76.29.49**

*НИР:* «Разработать и внедрить программы ранней медицинской реабилитации для пациентов с онкологической патологией в условиях реабилитационного стационара республиканского уровня оказания медицинской помощи».

*Сроки выполнения НИР:* 2010–2012 гг.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. Т.Н. Глинская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

После радикального хирургического лечения рака желудка частота встречаемости постгастрэктомических расстройств составляет от 15–20 до 60% и выше. Постгастрэктомические осложнения в совокупности проявляются нарушениями функции пищеварения, трофологического и психологического статуса, опосредованными обменными нарушениями и эндокринными расстройствами, изменениями гематологических показателей, вторичными нарушениями органов и систем (дистрофические процессы, остеопороз). Нарушения функций и структур организма ведут к ограничению способности к передвижению, самообслуживанию, затрудняют общение.

Авторами разработана и используется в клинической практике программа ранней медицинской реабили-

литации пациентов после хирургического лечения рака желудка. Программа медицинской реабилитации предусматривает следующие составляющие:

1. Реабилитационно-экспертная диагностика, которая включает в первые сутки пребывания в отделении медицинской реабилитации осмотр врача-реабилитолога (онколога), оценку степени выраженности клинико-функциональных изменений по функциональному классу (нарушений органов пищеварения, обменных, эндокринных, психологических сдвигов и др.), анализ данных медицинской документации и результатов обследований; в течение 1–2-х сут и пребывания в отделении проведение психодиагностики, электрокардиографии, термометрии, определение профиля артериального давления, шестиминутного шагового теста. По показаниям: анализ крови общий; анализ мочи общий; уровень гликемии; ионограмма; биохимические параметры крови. В течение 2–18-х сут пребывания в отделении с целью контроля и оценки эффективности реабилитационных мероприятий проводится осмотр врача-реабилитолога (онколога) с периодичностью через день. Контроль клинических и биохимических исследований.

По направлению врача-реабилитолога (врача-онколога) проводятся консультации врачей специалистов (врача-гастроэнтеролога, врача-психотерапевта, врача-физиотерапевта) и медицинского психолога.

По показаниям проводятся фиброгастроудоденоскопия, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, копрограмма, анализ кала на скрытую кровь, R-скопия желудка и кишечника.

2. Мероприятия медицинской реабилитации с детализацией конкретных назначений. Перечень мероприятий включает:

- психологическую коррекцию и психотерапию;
- диетотерапию;
- активную физическую реабилитацию (лечебная физкультура);
- пассивную физическую реабилитацию (показанная аппаратная физиотерапия – низкочастотная магнитотерапия, пайлтерерапия, аэроионотерапия, крайневысокочастотная микроволновая терапия, комбинированная двухцветная магнитолазерная терапия, электросонотерапия);
- медикаментозный аспект (по показаниям применение противоязвенных и антацидных лекарственных средств, ферментных препаратов, лекарственных средств, влияющих на обмен в тканях (метаболическая терапия), антианемических лекарственных средств, лекарственных средств для парентерального питания, витаминов);
- фитотерапию;
- обучение в школе пациента.

3. Оценка эффективности медицинской реабилитации.

Нами проведено наблюдение 98 пациентов после оперативного лечения рака желудка, прошедших полный курс стационарной медицинской реабилитации с использованием разработанной программы. При поступлении у пациентов практически в 100% случаев

наблюдался диспептический синдром, в 51% — постгастрэктмические синдромы, в 57% — анемический синдром, в 31,6% — дефицит массы тела; в 86,7% случаев отмечались психоэмоциональные нарушения.

Клиническая эффективность программы реабилитации достигнута у 89,8% реабилитантов ( $p \leq 0,05$ ) за счет полного или частичного нивелирования имеющихся нарушений. После завершения курса медицинской реабилитации клинические проявления диспептического синдрома были нивелированы у 33,0% пациентов ( $p \leq 0,05$ ), болевой синдром — у 20,0% ( $p \leq 0,05$ ). Улучшение гематологических показателей было отмечено у всех пациентов, однако нормализация уровня гемоглобина — только в 41,1% случаев ( $p \leq 0,05$ ). Дисфагические нарушения и проявления демпинг-синдрома носили более стойкий характер, но выраженность клинических проявлений уменьшалась для всех пациентов. Критериями эффективности психологической реабилитации являлись результаты объективного психологического обследования. У 54,1% пациентов отмечалась нормализация психоэмоционального статуса, еще у 22,4% — уменьшалась выраженность проявлений тревоги и депрессии. Редукция тревожно-депрессивной симптоматики была зафиксирована по шкале HADS, достоверно снизились средние значения подшкалы тревоги и подшкалы депрессии ( $p \leq 0,05$ ). По данным теста Спилбергер-Ханина в группе обследованных достоверно снизилась реактивная и личностная тревога ( $p \leq 0,05$ ). Реализация индивидуальной программы реабилитации пациентов после хирургического лечения рака желудка позволяет добиться частичного, а в ряде случаев полного восстановления нарушенных функций.

*Область применения:* реабилитация, онкология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в процессе лечения и медицинской реабилитации пациентов после хирургического лечения рака желудка в реабилитационных, онкологических, хирургических отделениях больниц, при последующем наблюдении в амбулаторно-поликлинических организациях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Medical rehabilitation programs for patients after surgical treatment of stomach cancer**

*E.E. Valchuk, T.N. Glinskaya, S.V. Sudilovskaya,  
E.A. Sirotkina, A.F. Martynovsky*

The authors developed a program of early medical rehabilitation of patients after surgical treatment of stomach cancer, which includes:

1. Rehabilitation and expert diagnostics;
2. Medical rehabilitation procedures with the detailed specification of prescriptions. The list of procedures includes:  
psychological correction and psychotherapy;  
diet therapy;

active physical rehabilitation (therapeutic physical training);  
passive physical rehabilitation (physiotherapy and balneotherapy);  
drug rehabilitation;  
phytotherapy;  
and other.

3. Assessment of medical rehabilitation efficiency.

*Field of application:* rehabilitation, oncology.

*Recommendations for use:* the results of the study can be used in rehabilitation, oncological, somatic in-patient departments to improve life quality in patients after surgical treatment of stomach cancer.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616-036.868-053.9

### **Новые подходы к медицинской реабилитации пациентов пожилого возраста**

*Т.М. Лещинская, С.П. Кускова,  
Е.В. Власова-Розанская, Н.Л. Львова*

**Рубрики: 76.29.51; 76.35.35**

*НИИР:* «Разработать и внедрить унифицированные протоколы медицинской реабилитации лиц пожилого возраста на различных этапах оказания реабилитационной помощи».

*Научный руководитель:* С.П. Кускова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка и внедрение в реабилитационные учреждения Республики Беларусь новых подходов к медицинской реабилитации пациентов пожилого возраста.

В результате исследования разработан стандартизованный подход к медицинской реабилитации пациентов пожилого возраста с полиморбидностью (четкие показания, комплексная оценка степени выраженности нарушений при основном и сопутствующих заболеваниях, комплекс общих базовых критериев и критериев влияния на состояние основных способностей жизнедеятельности, устанавливающих возможность пребывания пациентов в реабилитационном стационаре и возможность самостоятельного посещения амбулаторного отделения реабилитации, уровень и содержание реабилитационного потенциала при сопутствующей патологии, определение реабилитационных этапов, задач и объемов реабилитационной помощи на этапах, клинико-реабилитационных групп); стандартизованные программы реабилитации, методика физической реабилитации пациентов 60–74 лет с сопутствующей патологией.

В основу разработки новых подходов к медицинской реабилитации положены результаты комплексного клинического, инструментального и лабораторного исследования 312 пациентов пожилого возраста (средний возраст  $67,52 \pm 0,26$  года) и 275 пациентов 45–59 лет (средний возраст  $52,17 \pm 0,43$  года). По результатам исследования у пациентов пожилого возраста выявили сочетание 2-х заболеваний в 21,62% случаев, 3-х — у 22,78% пациен-

тов, 4-х — у 27,44%, 5 и более — в 28,16% случаев. На основании того, что заболевания сердечно-сосудистой системы были выявлены у 100% пациентов, вошедших в исследование, кардиологическая патология была определена как основное заболевание. Заболевания эндокринной, дыхательной, пищеварительной, костно-мышечной системы и соединительной ткани были отнесены в группу сопутствующих.

По данным комплексного клиничко-функционального обследования указанных пациентов выявлен массив критериев и факторов, характеризующих степень нарушения дефектных функций. На основании корреляционного и дискриминантного анализа определены диагностические информативные клинические и функциональные признаки. Это позволило определить общие базовые критерии для основного и сопутствующих заболеваний и критерии влияния двух и более систем организма, вовлеченных в патологический процесс и влияющих на ограничения жизнедеятельности.

Указанные критерии (общие базовые и влияния) позволили установить единые требования к порядку объективизации клиничко-функционального состояния пациентов 60–74 лет в процессе медико-социальной реабилитации, оценке последствий основного и сопутствующего заболеваний и их влиянию на классы ограничения жизнедеятельности в зависимости от способностей.

Разработанные новые подходы к медицинской реабилитации пациентов пожилого возраста не имеют отечественных и зарубежных аналогов, направлены на предупреждение прогрессирования сопутствующей патологии, нивелирования последствий основного и сопутствующих заболеваний и в конечном итоге будут способствовать возвращению наибольшего числа пациентов 60–74 лет к социально активной жизни.

Научная новизна исследования заключается в том, что практическому здравоохранению предложены новые подходы к стандартизации медицинской реабилитации пациентов пожилого возраста с сопутствующей патологией, что позволит улучшить качество реабилитации.

*Область применения:* реабилитация, медицинская экспертиза.

*Рекомендации по использованию:* новые подходы к медицинской реабилитации пациентов пожилого возраста предназначены для врачей-реабилитологов, врачей-геронтологов, оказывающих реабилитационную помощь пациентам пожилого возраста с сопутствующей патологией.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **New approaches to medical rehabilitation of elderly patients**

*T.M. Leschinskaya, S.P. Kuskova,  
E.V. Vlasova-Rozanskaya, N.L. Lvova*

For the first time there were developed:

– the indications for carrying out of medical rehabilitation;

– standardization in rehabilitation for 60–74 year-old patients with associated pathology (accurate indications, complex assessment of consequences of the basic and associated diseases and their influence, the level of rehabilitation potential, definition of rehabilitation stages, tasks and objects of rehabilitation help, clinical rehabilitation groups);

– the programs of rehabilitation, the technique of physical rehabilitation in 60–74 year – old patients with the combined pathology;

*Field of application:* rehabilitation, medical examination.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616-056.24-036.865(476)

### **Информационно-аналитическая система изучения и оценки заболеваемости с временной утратой трудоспособности в Республике Беларусь**

*А.В. Копыток, Т.Н. Глинская, Д.С. Казакевич,  
Н.А. Якушина, О.Ф. Щербина, А.С. Изюитко*

**Рубрики: 76.75.75; 76.33.43**

*НИИР:* «Разработать информационно-аналитическую систему изучения и оценки заболеваемости с временной утратой трудоспособности в Республике Беларусь».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. – декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук, доц. А.В. Копыток.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка информационно-аналитической системы изучения и оценки заболеваемости с временной утратой трудоспособности в Республике Беларусь.

Заболеваемость с временной утратой трудоспособности занимает особое место в статистике заболеваемости, так как отражает заболеваемость работающего населения и имеет не только медико-социальное, но и социально-экономическое значение, поскольку напрямую связана с недопроизводством внутреннего валового продукта, значительными расходами средств Фонда социальной защиты населения, определенным риском стойкого снижения (ограничения) профессиональной трудоспособности при наиболее неблагоприятных формах патологии. Следовательно, заболеваемость с временной утратой трудоспособности (ЗВУТ) является социально-демографическим фактором, которое требует всестороннего анализа и систематической научно обоснованной работы по оптимизации показателей.

В связи с вышеизложенным в результате выполненного анализа нормативных и инструктивных документов, регламентирующих проведение экспертизы временной нетрудоспособности (ВН) в организациях здравоохранения, разработаны и утверждены форма государственной статистической отчетности 4-нетрудоспособность (Минздрав) «Отчет о причинах временной нетрудоспособности» и указания по заполнению формы (Постановление Национального статистическо-

го комитета Республики Беларусь № 164 от 08.10.2012.). На основании представленных в форме данных предложена методика анализа данных о заболеваемости с временной утратой трудоспособности. Акцент в организации изучения ВН (сбор информации, обработка и анализ) на основе формы 4-нетрудоспособность переносится на организации здравоохранения, а показатели ЗВУТ предлагается более широко использовать для оценки качества медицинской помощи, организации экспертизы временной нетрудоспособности.

Разработанное прикладное программное обеспечение информационно-аналитической системы изучения и оценки заболеваемости с временной утратой трудоспособности обеспечивает унифицированную технологию сбора, хранения и обработки информации; позволяет: получать обобщенные данные по классам болезней и отдельным заболеваниям для информирования государственных органов управления, организаций здравоохранения, научно-исследовательских учреждений о состоянии заболеваемости как по республике в целом, так и отдельных административных территорий (областей, районов); обосновывать принятие управленческих решений, направленных на повышение эффективности и качества оказания медицинской помощи. Это в свою очередь будет способствовать снижению заболеваемости с временной нетрудоспособностью, и соответственно, позволит снизить экономические затраты, связанные с выплатами пособий по временной нетрудоспособности, т.е. приведет к реальной экономии государственных средств.

*Область применения:* организация и управление здравоохранением, эпидемиология, медицинская экспертиза.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная и методическая помощь при внедрении.

#### **Information and analytic system for study and assessment of morbidity with temporal disability in the Republic of Belarus**

*A.V. Kopytok, T.N. Glinskaya, D.S. Kazakevich,  
N.A. Yakushina, O.F. Scherbina, A.S. Isoitko*

A form of the state statistical reporting 4-disability (the Ministry of Health) and the «Report on the causes of temporal disability» were developed and approved, as well as the guidance on filling in the form (Resolution of the National Statistics Committee of the Republic of Belarus № 164 of 08.10.2012). On basis of the given data there were offered the methods for analysis of the morbidity with temporal disability. The results can be used for assessment of medical care quality and organization of temporal disability examination.

The developed software improves decision-making and increases the efficiency and quality of medical aid.

*Field of application:* organization and management of public health care, epidemiology, medical assessment.

*Offers for cooperation:* consultative and methodological assistance.

УДК 616-036.86-053.81(476)

#### **Система учета, анализа, прогноза инвалидизации лиц молодого возраста в Республике Беларусь**

*A.B. Копыток, Н.А. Якушина, С.И. Луцинская*

**Рубрики: 50.41.25; 76.75.75**

*НИИ:* «Разработать систему учета, анализа, прогноза инвалидизации лиц молодого возраста и программу взаимодействия областных учреждений и организаций, занимающихся реализацией индивидуальной программы реабилитации данного контингента инвалидов».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2010 г. – декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук, доц. А.В. Копыток.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать систему учета, анализа, прогноза инвалидизации лиц молодого возраста и программу взаимодействия областных учреждений и организаций, участвующих в реализации индивидуальной программы реабилитации данного контингента инвалидов.

В структуре первичной инвалидности взрослого населения (18 лет и старше) лица трудоспособного возраста составляют около 42–49%, а по большинству классов болезней и отдельных нозологических форм инвалидность является проблемой молодого возраста (женщины до 44 лет, мужчины до 49 лет). При этом вследствие выхода на инвалидность в молодом возрасте увеличивается риск преждевременной смерти, а в социальном плане встает вопрос о возможности создания полноценных здоровых семей и улучшения демографической обстановки в целом, что в значительной мере определяется здоровьем молодого населения страны.

В связи с вышеизложенным для совершенствования учета инвалидов молодого возраста разработана система учета, анализа и прогноза инвалидизации лиц молодого возраста, включающая в себя подсистему сбора данных (обеспечивающая формирование базы данных на уровне медико-реабилитационной экспертной комиссии), подсистему обработки данных, анализа и прогнозирования (региональные базы данных, содержащие персональную информацию на каждого пациента, прошедшего освидетельствование во МРЭК; банк данных инвалидности республиканского уровня; регламентные выходные таблицы; формы статистической отчетности по инвалидности; протоколы ввода, контроля и корректировки информации; архивные файлы), подсистему стандартизации (единые стандарты обмена информации, регламенты обмена информации, унифицированные справочники), подсистему прикладное программное обеспечение (программные средства для автоматизации процесса формирования базы данных: ввод, контроль и корректировка информации; хранения (архивные файлы) и обработки информации; передачи на вышестоящий уровень; формирования выходных таблиц, форм статистической отчетности).

Разработанная система учета, анализа и прогноза инвалидизации лиц молодого возраста со сквозной технологией сбора информации, хранения данных, передачи данных, единой системой ведения справочников и классификаторов, оперативного анализа данных позволяет: создать единое информационное пространство по вопросам медико-социальной экспертизы и реабилитации инвалидов молодого возраста; осуществлять многоуровневый сбор статистической информации; организовать оперативное статистическое наблюдение; реализовать гибкий и удобный механизм анализа показателей; формировать требуемые показатели для принятия управленческого решения; осуществлять учет объема и структуры потребностей инвалидов молодого возраста в видах и мероприятиях медицинской, профессиональной, трудовой и социальной реабилитационной помощи; отслеживать возможности удовлетворения этих потребностей; прогнозировать необходимые кадровые, финансовые и материально-технические ресурсы для повышения доступности необходимой реабилитационной помощи инвалидам молодого возраста на различных уровнях ее оказания.

*Область применения:* медико-социальная экспертиза, медико-социальная реабилитация.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная и методическая помощь при внедрении.

**A system of registration, analysis  
and prognosis of invalidization of young people  
in the Republic of Belarus**

*A.V. Kopytok, N.A. Yakushina, S.I. Luschinskaya*

A system of registration keeping, analysis and prognosis of disability of young people with end-to-end technology for survey, storage and transfer of the data, a uniform system for reference books and classifiers maintenance and analytical data processing let to create a common information area on medical and social rehabilitation of young invalids; to implement a multilevel statistic information survey; to arrange an efficient statistical observation; to implement a flexible and easy-to-use mechanism of data analysis; to develop the goals for decision making; to maintain the data on the structure of young invalids' need for definite medical, occupational, labor and social rehabilitation; to follow up the possibilities to satisfy these needs; to predict financial, material and technical resources necessary to improve accessibility of the required rehabilitation.

*Field of application:* medical and social assessment, medico-social rehabilitation.

*Offers for cooperation:* consultative and methodological assistance.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ДЕТСКОЙ ОНКОЛОГИИ, ГЕМАТОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

УДК 616.94+616.94-001:[616-006.446-085..06-053.2

### Фармакокинетика колистина, ванкомицина и амикацина при сепсисе и септическом шоке, осложнившим лечение детей со злокачественными новообразованиями

В.И. Захаревич, В.В. Дмитриев

Рубрики: 76.29.49; 76.29.47

**НИР:** «Разработать и внедрить алгоритм лечения сепсиса и септического шока, осложнившего лечение детей с гемобластомами и злокачественными новообразованиями, на основании изучения фармакокинетических параметров колистина, ванкомицина и амикацина и микробиологического мониторинга».

**Сроки выполнения НИР:** январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова.

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — изучить особенности фармакокинетики колистина, ванкомицина, амикацина у детей с нейтропенией и сепсисом, осложнившим лечение детей с гемобластомами и злокачественными новообразованиями.

Взяты образцы крови и определена концентрация антибиотиков в динамике лечения 84 пациентов с гемобластомами и злокачественными новообразованиями в состоянии нейтропении, получавших антибактериальную терапию (амикацин — 23 ребенка, ванкомицин — 27, колистин — 34). Рассчитаны фармакокинетические параметры, включая площадь под фармакокинетической кривой (AUC) антибиотика у 84 детей, получающих терапию ванкомицином (15 пациентов с сепсисом, 12 лиц группы сравнения), колистином (26 пациентов с сепсисом, 8 лиц группы сравнения), амикацином (12 пациентов с сепсисом, 11 лиц группы сравнения). Расчет фармакокинетических параметров выполнен с учетом реальной чувствительности возбудителя сепсиса и минимальной ингибирующей концентрации (МИС) антибактериального лекарственного средства по отношению к патогену.

Выявлена вариабельность фармакокинетических параметров колистина как у пациентов с сепсисом, так и в группе сравнения. Целевые значения AUC/МИС (27,6–45,9) с учетом спектра микроорганизмов, выделенных из гемокультур с 2003 по 2012 г., были достигнуты у 19% пациентов для изолятов *K. pneumoniae*, имеющих МИС колистина 1,0 мг/л; у 38,1% для изолятов *A. baumannii*, имеющих МИС колистина 0,5 мг/л; у 33% для изолятов *A. baumannii*, имеющих МИС колистина 0,75 мг/л; у 19,04% для изолятов *A. baumannii*, имеющих МИС колистина 1,0 мг/л. Для 16,7% изолятов *K. pneumoniae*, 13,3% изолятов *A. baumannii* и 30% изолятов *P. aeruginosa* целевые значения параметра AUC/МИС не были достигнуты ни в одном случае. Рекомен-

дуемый инструкцией по медицинскому применению лекарственного средства колистиметата натрия режим введения (инфузии в течение 30–60 мин 3–4 раза в день) суточной дозы 50000–100000 МЕ/кг с учетом распределения МИС колистина в отношении микроорганизмов не позволяет достичь оптимального значения фармакодинамического показателя индекса AUC/МИС (27,6–45,9) у подавляющего большинства пациентов. Поэтому наиболее целесообразным способом введения колистиметата представляется непрерывное круглосуточное введение с постоянной скоростью. Пороговое значение индекса AUC/МИС (27,6–45,9) было достигнуто у всех пациентов, получавших стандартную суточную дозу колистиметата 50000–125000 МЕ/кг/сут на фоне почечной заместительной терапии в режиме непрерывной вено-венозной гемофильтрации. Избыточно высокие концентрации колистина у пациентов на фоне продленной почечной заместительной терапии могут повысить токсичность лекарственного средства. Поэтому целесообразен терапевтический лекарственный мониторинг остаточной концентрации колистина и непрерывный мониторинг состояния пациента для раннего выявления токсических эффектов.

Несмотря на применение режима дозирования амикацина 14–16 мг/кг/сут с однократным введением суточной дозы целевые значения фармакодинамических параметров практически недостижимы при МИС >8 мг/л (с учетом спектра микроорганизмов, выделенных из гемокультур с 2003 по 2012 г., таковых 18,1% изолятов *E. coli*, 43,33% изолятов *K. pneumoniae*, 40% изолятов *E. cloacae*). При использовании дозы амикацина 25 мг/кг целевые значения индекса C<sub>max</sub>/МИС также не могут быть достигнуты для микроорганизмов с МИС амикацина, превышающей 9 мг/л. Повышение доз более 25 мг/кг (что может привести к токсичности) определяет целесообразность замены амикацина на лекарственные средства других групп или перехода на комбинированную терапию.

Целевые значения остаточной концентрации (10–20 мг/л) ванкомицина были достигнуты лишь у 5 пациентов (33,3%), еще у 5 (33,3%) эти параметры превысили целевые (что повышает риск токсичности), у 5 (33,3%) не достигли целевых (что может привести к неэффективности терапии). Ни у одного пациента группы сравнения не были достигнуты целевые значения остаточной концентрации ванкомицина. Обязательным условием, способствующим достижению целевого значения остаточной концентрации (10–20 мг/л) ванкомицина, является введение расчетной суточной дозы лекарственного средства равными долями (разовая доза) через 8 ч. Целевые значения фармакодинамических параметров ванкомицина практически недостижимы при МИС 2,5 мг/л и более (38,5% изолятов *E. faecium*), а на участке МИС 1–2,5 имеет место существенный риск недостижения целевых значений AUC/МИС без коррекции доз. Поэтому представляется целесообразным

индивидуальный подбор режима дозирования ванкомицина на основании определения МИС возбудителя и терапевтического лекарственного мониторинга остаточной концентрации ванкомицина в крови.

*Область применения:* педиатрия, онкология, гематология, интенсивная терапия неотложных состояний.

*Рекомендации по использованию:* может применяться в учреждениях здравоохранения (их структурных подразделениях) онкологического, педиатрического, хирургического профиля. Разработана инструкция по применению.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Pharmacokinetics of colistin, vancomycin and amikacin in sepsis and septic shock as complications of treatment in children with chemotherapy-induced neutropenia**

*V.I. Zakharevich, V.V. Dmitriev*

The pharmacokinetics of amikacin, vancomycin and colistin were studied during the treatment of 84 patients with chemotherapy-induced neutropenia (amikacin — 23 children, vancomycin — 27, colistin — 34). The pharmacokinetic parameters including area under the curve (AUC) of antibiotics were calculated in 84 children: vancomycin (15 patients with sepsis, 12 patients in the control group), colistin (26 patients with sepsis, 8 patients in the control group.), amikacin (12 patients with sepsis, 11 patients in the control group.). Significant variability of pharmacokinetic parameters in patients with sepsis as well as in the control group was revealed. The optimal method of colistin administration is continuous daily infusion. The administration of vancomycin three times a day vs. twice a day is associated with higher probability of target achievement through concentration (10–20 mg/l). Despite the use of amikacin at the dose of 14–16 mg/kg per day, the target pharmacodynamic parameter ( $C_{max}/MIC$ ) was unreach-able in case of infection caused by a microorganism with minimal inhibitory concentration of amikacin more than 8 mg/l (18.1% of the isolates of *E. coli*, 43.33% of isolates of *K. pneumonia*, 40% of isolates of *E. cloacae*).

*Field of application:* pediatric oncology, hematology.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616-006.482+616.155.392-036.11]-085.277.3-06-053.2

### **Некоторые осложнения противоопухолевого лечения медуллобластомы и острых лейкозов, проведенного в детском возрасте**

*О.В. Карась, Н.Е. Конопля, О.В. Алейникова*

**Рубрики:** 34.03.35; 76.29.33; 76.29.49

*НИИР:* «Разработать метод диспансеризации на основе изучения отдаленных последствий и качества жизни после аутологичных и аллогенных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток, проведенных в детском возрасте».

*Сроки выполнения НИИР:* апрель 2011 г. — декабрь

2015 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф., чл. кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

На сегодняшний день исследования о частоте развития осложнений со стороны щитовидной железы, репродуктивной системы и костной ткани у детей и подростков, получивших лечение медуллобластомы с использованием высокодозной химиотерапии с ауто-трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ВДХТ с аутоТГСК) и острых лейкозов (ОЛ) с аутологичной/аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК/аллоТГСК) в Республике Беларусь не проводились. Аналогичные данные, полученные по результатам эпидемиологических исследований в других странах, не могут быть актуальными для нашей страны в связи с включением новых терапевтических элементов и различием применяемых протоколов.

*Цель* — оценка частоты и сроков возникновения нарушений со стороны щитовидной железы и репродуктивной системы, а также оценка состояния минеральной плотности костной ткани в поясничном отделе позвоночника (МПКТ  $L_2-L_4$ ) у пациентов после противоопухолевого лечения медуллобластомы и острых лейкозов, проведенного в детском возрасте.

Обследованы 24 пациента через  $5,4 \pm 2,2$  года после окончания комплексного лечения медуллобластомы. Частота гипотиреоза составила 54,2% (13/24 пациента), из них в 16,7% (4/24 пациента) случаев он носил транзиторный характер. Заместительная терапия тиреоидными гормонами назначена 9 пациентам. Было установлено, что гипотиреоз возникает уже на первом году после окончания специального лечения, и с увеличением срока наблюдения за излеченными вероятность выявления новых случаев гипотиреоза возрастает (к 8 годам наблюдения вероятность возникновения гипотиреоза составляет около 90%). Включение ВДХТ с аутоТГСК в протокол лечения медуллобластомы не приводит к увеличению вероятности возникновения гипотиреоза ( $p > 0,05$ ). Гонадная дисфункция выявлена у всех 9 пациенток: гипогонадизм у 7/9 (77,6%), гипофункция яичников у 1/9 (11,2%), дисфункция яичников у 1/9 (11,2%). У 6 из 8 пациентов мужского пола выявлены следующие нарушения: гипогонадизм у 5/8 (62,5%), задержка полового развития у 1/8 (12,5%). При дальнейшем анализе были получены следующие выводы для пациентов обоих полов: 1) кумулятивная вероятность развития гонадной дисфункции не зависела от возраста на начало лечения ( $p > 0,05$ ); 2) нарушения репродуктивной функции регистрировались уже на 1 году после окончания специального лечения; 3) с помощью анализа кумулятивной вероятности было показано, что включение ВДХТ с аутоТГСК в протокол лечения медуллобластомы приводит к увеличению вероятности повреждения гонад ( $p < 0,05$ ). Снижение МПКТ в  $L_2-L_4$  отделе позвоночника ( $Z$ -критерий  $\leq -2,0$ ) выявлено у 6/24 пациентов (25%). Объемная МПКТ в  $L_2-L_4$  у обследованных значительно ниже по сравнению со здоровыми сверстниками ( $p < 0,05$ ).

Обследованы 30 пациентов через 3,5 (1,5;5,8) года после проведения аллоТГСК по поводу ОЛ. Частота гипотиреоза составила 33,3% (10/30 пациентов), в т. ч. в 16,7% (5/30 пациентов) случаев он носил транзиторный характер. Заместительная терапия тиреоидными гормонами была назначена четырем пациентам. Установлено, что все случаи гипотиреоза возникали в течение первых 2 лет после проведения аллогенной ТГСК. С помощью анализа кумулятивной вероятности было показано, что включение аллогенной ТГСК в протокол лечения острого лейкоза не приводит к увеличению вероятности возникновения гипотиреоза ( $p>0,05$ ). Гонадная дисфункция (гипогонадизм) выявлена у всех 10 пациенток. У пациентов мужского пола нарушения со стороны репродуктивной системы зарегистрированы в 11 из 15 случаев (73,3%), в т. ч.: гипогонадизм у 10/11 пациентов, задержка полового развития у 1/11. При дальнейшем анализе были получены следующие выводы для пациентов обоих полов: 1) нарушения со стороны репродуктивной функции регистрировались уже на 1-м году после аллогенной ТГСК; 2) включение аллогенной ТГСК в протокол лечения увеличивает вероятность гонадной дисфункции ( $p<0,05$ ). Снижение МПКТ в L<sub>2</sub>-L<sub>4</sub> отделе позвоночника выявлено у 10/30 пациентов (33,3%), асептический некроз головок бедренных костей — у 6/30 (20%). Объемная минеральная плотность костной ткани у исследуемой группы пациентов значимо ниже по сравнению со здоровыми сверстниками ( $p<0,05$ ).

Обследованы 15 пациентов с острым миелоидным лейкозом через 5,1±2,3 года после проведения аутоТГСК. У 3/15 (20%) пациентов был зарегистрирован гипотиреоз на 1-м году наблюдения после окончания лечения, причем у всех он носил транзиторный характер, в связи с чем заместительная терапия тиреоидными гормонами не проводилась. С помощью анализа кумулятивной вероятности было показано, что включение аутологичной ТГСК в протокол лечения острого миелоидного лейкоза не приводит к увеличению вероятности возникновения гипотиреоза ( $p>0,05$ ). Гипогонадизм был зарегистрирован только у одной из 5 пациенток сразу после окончания специального лечения, которой была назначена заместительная терапия женскими половыми гормонами. Было показано, что включение аутологичной ТГСК в протокол лечения острого миелоидного лейкоза не влияет на развитие гипогонадизма у женщин ( $p>0,05$ ). Гипогонадизм на фоне тесткулярной недостаточности был зарегистрирован только у одного из 4 пациентов мужского пола через 1,3 года после окончания специального лечения, которому была назначена заместительная терапия мужскими половыми гормонами. Снижение минеральной плотности костной ткани в L<sub>2</sub>-L<sub>4</sub> отделе позвоночника выявлено у 2/15 пациентов (13,3%). Однако МПКТ в L<sub>2</sub>-L<sub>4</sub> отделе позвоночника в исследуемой группе не отличалась от показателей здоровых сверстников ( $p>0,05$ ).

Таким образом, наиболее часто нарушения со стороны щитовидной железы и репродуктивной системы возникают после лечения медуллобластомы с включением ВДХТ с аутоТГСК и у пациентов с острыми лей-

козами после проведения аллогенной ТГСК, что требует назначения своевременной коррекции. Минеральная плотность костной ткани в поясничном отделе позвоночника также значимо ниже у данных групп пациентов по сравнению со здоровыми сверстниками, что наряду со сниженной физической активностью, predisposes в будущем к развитию серьезных проблем, связанных с остеопорозом. У пациентов после лечения острого миелоидного лейкоза с использованием аутологичной ТГСК не регистрируется значимых нарушений со стороны исследованных систем организма.

*Область применения:* онкология, гематология, трансплантология.

*Рекомендации по использованию:* в ходе исследования разработаны алгоритмы диспансеризации указанных групп пациентов, которые позволят обеспечивать своевременное выявление и коррекцию регистрируемых нарушений со стороны щитовидной железы, репродуктивной системы и костной ткани.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования.

#### **Some complications of the antitumor treatment for medulloblastoma and acute leukemia conducted in childhood**

*O.V. Karas, N.E. Konoplya, O.V. Aleinikova*

Our research revealed that most frequently the disorders of the thyroid and reproductive system are observed in patients who received complex treatment for medulloblastoma including high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation and in patients with acute leukemia after allogenic stem cell transplantation. These disorders need an early treatment. The bone mineral density in the lumbar spine was significantly lower in the above mentioned groups of patients compared to healthy peers, which along with the low physical activity predisposes to serious problems due to osteoporosis. We did not find any significant disorders of the examined organs and systems in patients who received the treatment for acute myeloid leukemia including autologous stem cell transplantation. As a result of the study there were developed the algorithms for prophylactic medical examination of the above mentioned groups of patients. It will allow to detect and treat the disorders of thyroid and reproductive system, and bone tissue at early stages.

*Field of application:* oncology, hematology, bone marrow transplantation.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616-006.6-018-037-092.4

#### **Влияние ИЛ-2, ИЛ-15 и их комбинации с ИЛ-21 на экспансию и активацию селектированных ЕК клеток *in vitro***

*Е.П. Вашкевич, Т.В. Шман*

**Рубрики: 76.03.55; 76.29.33; 76.29.49**

*НИР:* «Разработать технологию *ex vivo* получения трансплантата натуральных киллерных клеток для це-

лей противоопухолевой клеточной иммунотерапии для пациентов с онкологическими заболеваниями».

*Сроки выполнения НИР:* 2011–2013 гг.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Клеточная иммунотерапия с использованием естественных киллерных (ЕК) клеток является перспективной терапевтической стратегией для лечения пациентов с различными типами новообразований. В связи с тем, что по количеству ЕК клетки составляют небольшую фракцию лимфоцитов периферической крови, актуальным является разработка оптимальных протоколов получения максимального количества эффективных цитотоксических клеток. В настоящее время используются различные методы экспансии и активации ЕК: от краткосрочной активации до долгосрочного культивирования в присутствии цитокинов, моноклеарных клеток, различных клеточных линий, в т.ч. EBV-трансформированных и др.

*Цель* — оценка эффективности экспансии, активации и противоопухолевого потенциала ЕК клеток в присутствии интерлейкина (ИЛ)-2, ИЛ-15 и их комбинации с ИЛ-21; анализ влияния криоконсервирования на экспансию, фенотип и цитотоксическую активность ЕК клеток.

Объектом исследования являлись ЕК клетки, полученные из моноклеарных клеток периферической крови 21 здорового донора. МНК выделяли из периферической крови на градиенте плотности при 400g 30 мин, дважды отмывали в культуральной среде.

Использованы культуральные методы, метод точной цитофлуориметрии.

Для исследования экспансии ЕК клеток предварительно проводили их селекцию иммуномагнитным способом из МНК. Чистота выделения достигала  $91,6 \pm 1,2\%$ . До селекции количество ЕК клеток составило  $18,9\%$  от лимфоцитов и  $13,7\%$  от всех клеток, тогда как после селекции —  $96,8\%$  от лимфоцитов,  $77\%$  от всех клеток. После выделения ЕК клетки культивировали в присутствии цитокинов — ИЛ-2, ИЛ-15 и их комбинации с ИЛ-21. Исследуемые цитокины индуцируют пролиферацию ЕК клеток. Так, на 21 сут инкубации прирост ЕК клеток в присутствии ИЛ-2 и ИЛ-15 составил  $13,6 \pm 3,3$  и  $12,5 \pm 3,0$  соответственно, при добавлении ИЛ-21 к ИЛ-2 и ИЛ-15 —  $18,0 \pm 5,2$  и  $17,1 \pm 4,9$  раз соответственно. В контрольных образцах без добавления цитокинов роста ЕК не наблюдалось. На 21 день среди экспансированных наибольшее количество составляли ЕК клетки — более  $80\%$ .

Далее был проанализирован уровень активации ЕК клеток, определенный по экспрессии поверхностного маркера CD69, в присутствии используемых цитокинов. В наших исследованиях показано достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение процента активированных ЕК клеток при их культивировании с ИЛ-2 и ИЛ-15 по сравнению с контрольными образцами на 0 день. На 21 сут более  $90\%$  ЕК клеток экспрессировали маркер CD69. При этом добавление ИЛ-21 не способствовало дополнительному усилению активации.

Также оценивали функциональную активность экспансированных ЕК клеток. В ходе данных экспериментов было показано, что каждый из изучаемых цитокинов — ИЛ-2 и ИЛ-15 достоверно ( $p < 0,05$ ) повышал прямую цитотоксическую активность ЕК клеток в отношении опухолевой линии К-562 на 7, 14 и 21 сут наблюдения по сравнению с лизисом К-562, определенным на 0 день. При соотношении эффектор:мишень 5:1 наблюдали гибель  $60\%$  клеток-мишеней на 21 день культивирования. Сочетание ИЛ-2 и ИЛ-15 с ИЛ-21 не способствовало усилению противоопухолевой активности ЕК.

Цитотоксическую активность ЕК клеток также определяли по экспрессии маркера CD107a. CD107a (LAMP-1 — lysosomal associated membrane glycoprotein) является белком мембраны литических гранул, содержащих гранзим и перфорин. Проведенные нами исследования показали, что инкубация ЕК клеток в присутствии опухолевой линии К-562 способствовала достоверному повышению доли ЕК, экспрессирующих CD107a. Дополнительная стимуляция эффекторов в присутствии ИЛ-2, ИЛ-15 и их комбинации с ИЛ-21 приводила к увеличению экспрессии CD107a на исследуемой популяции лимфоцитов.

Также выявлено, что селектированные интактные (неактивированные) ЕК клетки могут быть подвержены процедуре заморозки и криохранению без значительного изменения их функциональной активности. После разморозки такие ЕК клетки сохраняли способность к экспансии, активации и цитотоксической активности в присутствии ИЛ-2 на уровне, сопоставимом с ЕК клетками, не подвергавшимися заморозке.

*Область применения:* иммунология, гематология, онкология.

*Рекомендации по использованию:* по результатам исследований подготовлена инструкция по применению. Результаты исследований могут быть использованы для разработки и совершенствования методов клеточной иммунотерапии онкологических заболеваний.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по изучению фенотипических и функциональных характеристик ЕК клеток.

#### **Effect of IL-2, IL-15 and their combination with IL-21 on the expansion and activation of selected NK cells *in vitro***

*K.P. Vashkevich, T.V. Shman*

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of expansion, activation, and anti-tumor potential of NK cells in the presence of interleukin (IL)-2, IL-15 and their combination with IL-21; to analyze the impact of cryopreservation procedures on expansion, phenotype and cytotoxic activity of NK cells.

There was shown that IL-2, IL-15 and their combination with IL-21 induced *in vitro* proliferation of isolated population NK cells. When using IL-2 and IL-15 the NK cells number increased by  $13.6 \pm 3.3$  and  $12.5 \pm 3.0$  times respectively, the addition of IL-21 to IL-2 and IL-15 resulted in the increase of NK cells by  $18.0 \pm 5.2$  and  $17.1 \pm 4.9$  times

respectively on the 21-th day of cultivation. The largest number of cells were NK (82.4±3.3%). At the end of cultivation 90% of NK cells were activated according to the expression of the marker CD69, and 60% — in terms of the cytotoxic activity of NK cells.

The selected non-activated NK cells may be exposed to freezing procedure without significant changes in their functional activity. After it these NK cells retained the ability to expansion, activation and cytotoxic activity in the presence of IL-2 at the level comparable to those NK cells that were not frozen.

*Field of application:* immunology, hematology, oncology.

*Recommendations for use:* the results of this research can be used to develop and improve the methods of cellular immunotherapy of cancer.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 575.113:616.155.392-036.11]-053.2

### Аберрации гена IKZF1 при остром лимфобластном лейкозе у детей

А.Н. Мелешко, И.В. Прохореня, С.Н. Доронина

**Рубрика:** 34.15.23

*НИИР:* «Изучение роли структуры и функции генов гематопоэтических транскрипционных факторов в патогенезе и прогрессировании лимфолейкозов и лимфом» в рамках ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация», подпрограмма «Фундаментальная и прикладная медицина».

*Сроки выполнения НИИР:* 2010–2013 гг.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук А.Н. Мелешко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — определение количественного уровня экспрессии разных РНК-транскриптов гена Ikaros при ОЛЛ по сравнению со здоровым костным мозгом, а также сопоставить профиль экспрессии этого гена с наличием делеций в локусе IKZF1 при ОЛЛ.

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) относят к наиболее распространенным онкологическим заболеваниям у детей; включает более 80% всех лимфопролиферативных заболеваний детского возраста. Хотя общая выживаемость достигает 70–75%, рецидивы заболевания остаются существенной проблемой. Классическая диагностика лейкозов как в Республике Беларусь, так и в мировой практике опирается на традиционные методы: цитоморфологическое исследование, иммунофенотипирование с помощью проточной цитометрии, цитогенетический анализ (G-banding) и ПЦР-анализ экспрессии основных химерных онкогенов. В последние годы в крупных мировых онкологических центрах наблюдается все более возрастающая ориентация на более глубокий уровень диагностических и прогностических исследований, в первую очередь выявление молекулярно-генетических изменений (мутаций) с отслеживанием минимальной остаточной болезни. Именно эти анализы позволяют наиболее приблизиться к

пониманию этиологии и патогенеза заболевания, стратификации по группам риска, поиска новых мишеней для терапии и адекватной оценки эффективности терапии. Массивный прорыв исследований в этой сфере происходит в последнее десятилетие в связи с появлением технологии DNA-arrays, в первую очередь EST-array (expressed sequence tags) для анализа экспрессии, CGH- (comparative genomic hybridization) и SNP- (single nucleotide polymorphism) arrays для выявления делеций/вставок и однонуклеотидных замен, соответственно, тысяч генов одновременно. Помимо давно известных перестроек при ОЛЛ, таких как BCR/ABL, E2A/PBX, TEL/AML1 и MLL, обнаружено огромное количество несбалансированных криптических транслокаций, микроскопических делеций и точечных мутаций других генов. Однако значительный интерес представляют гены транскрипционных факторов (ТФ), специфически контролирующей лимфоидную дифференцировку, такие как рax5, EBF-1, IKZF1 (Ikaros), IKZF2 (Helios), IKZF3 (Aiolos). Структурные изменения в этих генах обнаружены у 40% пациентов с В-линейным ОЛЛ, особенно для рax5 гена (31,7%) и Ikaros (28,6%).

Ikaros, кодируемый геном IKZF1, наряду с другими генами IKZF2 (Helios), IKZF3 (Aiolos), Eos и Pegasus относятся к ДНК-связывающим белкам семейства Крупела с цинковыми пальцами. Ikaros является ключевым транскрипционным фактором, регулирующим ранние этапы дифференцировки Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток и дендритных клеток. Гомозиготный knock-out гена IKZF1 у мышей ведет к тяжелому комбинированному иммунодефициту, тогда как гетерозиготный knock-out этого гена приводит к усиленной лимфопролиферации, высокой частоте спонтанных Т-клеточных лейкозов и лимфом, а также аутоиммунным заболеваниям. Это послужило поводом для доказанного позже предположения о роли этого гена в качестве опухолевого супрессора: нарушение его функции у человека характерно для В-лимфоидных лейкозов.

Регуляция функции гена IKZF1 (Ikaros) в норме осуществляется при участии механизма альтернативного сплайсинга. Белок Ikaros, как и другие члены семейства Ikaros, включают два отдельных домена с цинковыми пальцами: 4 ДНК-связывающих цинковых пальца N-конца и 2 цинковых пальца для белок-белковых взаимодействий около C-конца. Ген Ikaros включает семь экзонов и транскрибируется по меньшей мере в 14 различных изоформ по средствам альтернативного сплайсинга с использованием альтернативных экзонов (рис. 1). Так, Ik-1, Ikx, Ik-2, и Ik-3, которые содержат, по меньшей мере, три цинковых пальца на N-части, сохраняют высокоаффинное ДНК-связывание и локализуются в ядре. Изоформы Ik-4–Ik-10, которые имеют менее трех цинковых пальцев, теряют свою ДНК-связывающую активность и локализуются в цитоплазме. Сверхэкспрессия коротких изоформ Ikaros, в первую очередь Ik6, была описана при ОЛЛ.

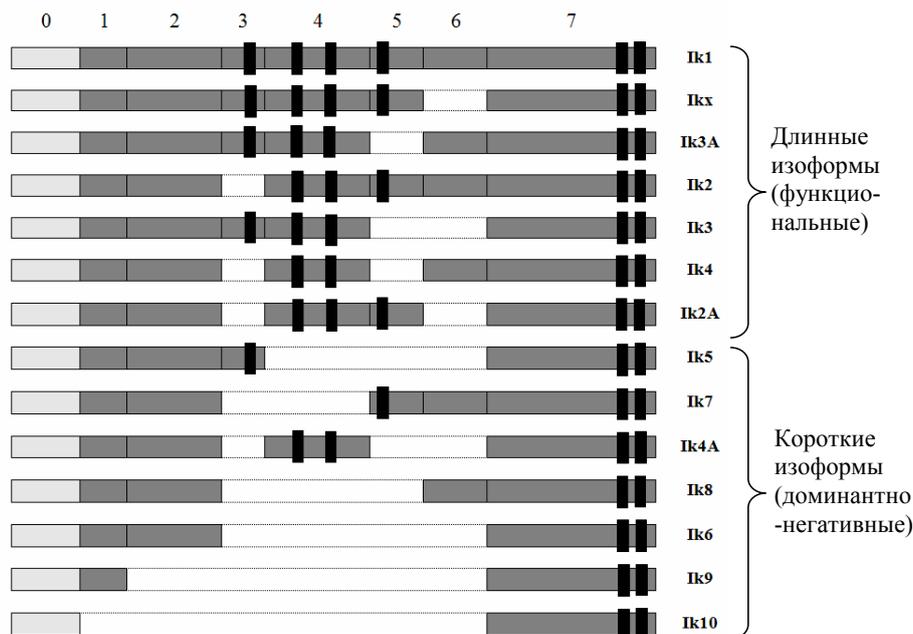


Рис. 1. Схематическое представление генов Ikaros. Цинковые пальцы обозначены черными полосами

Применение метода сравнительной геномной гибридизации (CGH-arrays) в последнее десятилетие показало, что соматические внутригенные делеции в локусе IKZF1 являются очень распространенными при ОЛЛ и составляют 15–20% детских ОЛЛ, 30–50% взрослых ОЛЛ и до 75% BCR-ABL1 позитивных лейкозов. Наиболее частой является делеция кодирующих экзонов 3–6 — одна из причин сверхэкспрессии короткой изоформы Ik6. Ряд исследований доказал, что делеции в гене IKZF1 являются независимым неблагоприятным прогностическим маркером. Связь между делециями в локусе IKZF1 и изменениями в сплайсинге гена, а также прогностическое значение экспрессии разных изоформ этого гена так и остались не до конца изученными.

### 1. Пациенты и образцы клеток

Материалом исследования были образцы клеток костного мозга детей, больных острым лейкозом. На данном этапе размер выборки составляет 172 отдельных анализируемых образца от 130 пациентов с ОЛЛ. Среди них 116 образцов первичного ОЛЛ и 56 рецидивов. Поскольку одна из задач всего проекта — изучение участия генов ТФ в рецидивировании ОЛЛ, мы старались включить в исследование максимально возможное количество парных случаев: первичный — рецидив. В анализируемой выборке 38 парных случаев, в т. ч. 32 пары первичный ОЛЛ — рецидив и 5 пар рецидив первый — рецидив второй, 1 пара из двух рецидивов. Из 172 образцов ОЛЛ 147 имеют В-клеточный иммунофенотип, 25 — Т-клеточный.

Еще 36 образцов составляли контрольную или модельную группу. Основным адекватным контролем является костный мозг здоровых доноров. Восемнадцать образцов здорового КМ и 4 образца здоровых доноров периферической крови (ПК) составляли контрольную группу.

### 2. Выделение мононуклеарных клеток (МНК), выделение РНК и синтез кДНК

Образец КМ (ПК) наслаивали на 0,5 объема Histopaque 1077 (Sigma, США) и центрифугировали при

комнатной температуре в течение 25 мин при 1000 g. Интерфазный слой, содержащий МНК, переносили в чистую пробирку и дважды отмывали в ФСБ (400 g, 10 мин, при +40°C) и подсчитывали микроскопически в камере Горяева. Выделение суммарной РНК проводили с использованием набора Tri-Reagent в соответствии с инструкциями производителя. Обратной транскрипцией кДНК было получено из РНК с использованием Oligo-dT18 (Праймтех, РБ) MMLV транскриптазы (Promega, США) либо Superscript® II RT (Invitrogen, США).

### 3. Количественный анализ экспрессии методом ПЦР «в реальном времени» и ПЦР-анализ делеций в гене IKZF1

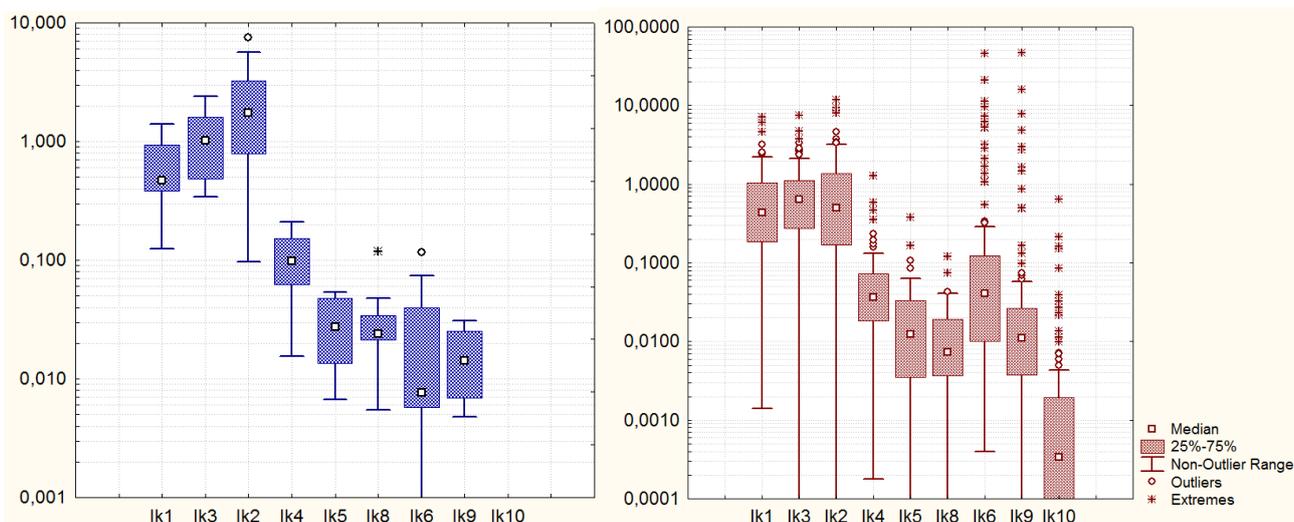
Мы использовали вариант RQ-PCR с парой праймеров и TaqMan-зондом, меченным флуоресцентной меткой FAM, JOE, или ROX на 3'-конце и гасителем 5'ВНQ. Последовательность праймеров и зондов были подобраны нами для изолированного измерения каждой изоформы. Реакция проводилась в 20 мкл с 50% 2x TaqMan Universal PCR MasterMix (Applied Biosystems, USA), 500 нг ДНК, 500 нг каждого праймера и 150 нг ТМ-зонда. Анализ проводился на приборе Rotor-Gene 6000 (CorbettResearch, Австралия). Делеции ΔEx3–6 и ΔEx1–6 определялись с помощью традиционной ПЦР с праймерами, подобранными к соответствующим интронам на удалении в 300–400 нуклеотидов от предполагаемой точки разрыва.

Профиль экспрессии транскриптов гена Ikaros в нормальном костном мозге и при ОЛЛ

Прежде всего, мы оценили уровень экспрессии изоформ гена Ikaros в образцах нормального костного мозга здоровых доноров. Следует отметить, что транскрипты Ikaros сами по себе не являются патогенетическими и встречаются в нормальных гемопоэтических клетках. Патогенетическое значение сверхэкспрессии или низкой экспрессии отдельных изоформ является лишь гипотезой. Изменение в уровне экспрессии может быть

вызвано физиологическими причинами или различаться в клетках разной линии либо стадии дифференцировки. Фракция мононуклеарных клеток нормального костного мозга включает в себя различные типы клеток. Выявить патогенетическое значение aberrанной

экспрессии какого-либо гена можно, лишь сравнивая здоровую группу с разными группами лейкозов. Сравнение профиля экспрессии Ikaros в норме и патологии представлено на рис. 2.

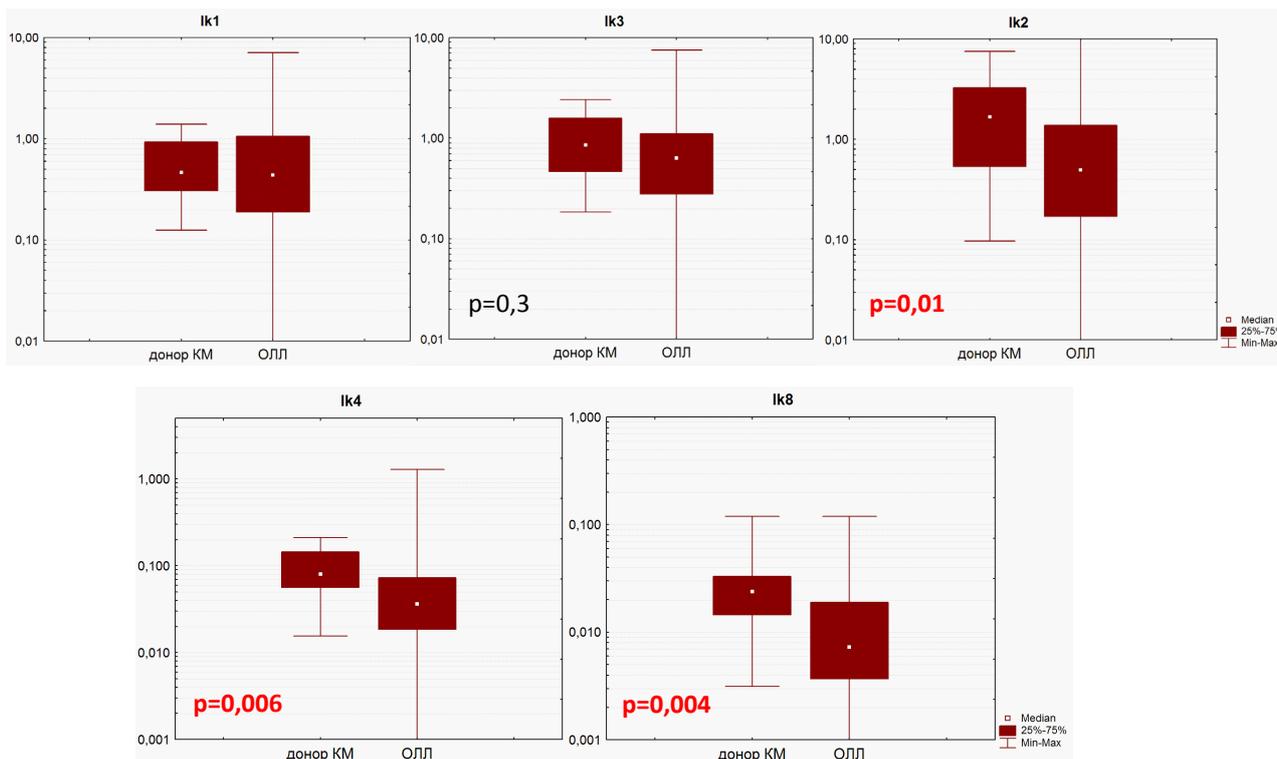


**Рис. 2. Профиль экспрессии изоформ транскрипционных факторов в нормальном костном мозге. А — здоровый костный мозг доноров. В — ОЛЛ**

Единицей измерения экспрессии служат относительные единицы, указывающие уровень определяемой мишени относительно контрольного гена ABL (ген «домашнего хозяйства»). Таким образом, экспрессию разных мишеней можно сравнивать между собой. Для гена Ikaros в здоровом КМ явно преобладает экспрессия длинных, функциональных изоформ Ik1, Ik3, Ik2. Наиболее сильная экспрессия характерна для Ik2, что было показано нами на прежних этапах работы более

грубым методом анализа в полиакриламидном геле. Выраженность этой изоформы в 2–4 раза превышает уровень контрольного гена.

Короткие, нефункциональные изоформы гена Ikaros — Ik4, Ik5, Ik6, Ik8 и Ik9 в здоровом костном мозге экспрессируются на значительно более низком уровне — от 0,1–0,01 от контрольного гена и ниже. Самая короткая изоформа, Ik10, практически не экспрессируется вообще. Несмотря на схожесть общего профиля между



**Рис. 3. Сравнение экспрессии изоформ Ikaros в группах доноров КМ и пациентов с ОЛЛ**

донорами и пациентами с ОЛЛ у последних в части случаев наблюдается сверхэкспрессия отдельных изоформ, в первую очередь коротких Iк6, Iк9, Iк10.

#### 4. Сравнение экспрессии длинных изоформ Iкагос при ОЛЛ и в здоровом КМ

Сравнение экспрессии изоформ Iкагос пациентов с ОЛЛ с донорами КМ выполнялось методом непараметрической статистики (Mann-Whitney U Test) (рис. 3). В лейкозных клетках уровень экспрессии длинных изоформ был немного снижен, достоверно для Iк2 ( $p = 0,01$ ). Это длинные, функциональные изоформы, содержащие функциональный ДНК-связывающий домен.

Интересно, но экспрессия коротких изоформ Iк4 ( $p = 0,006$ ) и особенно Iк8 ( $p = 0,004$ ) также снижена в опухолевых клетках по сравнению с контролем. Эта зависимость на первый взгляд противоречит исходной гипотезе об участии коротких изоформ в патогенезе

ОЛЛ. Iк4 сохраняет экзон 4, содержащий два цинковых пальца. Iк8 не содержит ДНК связывающего домена вовсе и является определенно доминантно-негативной изоформой. Те же закономерности характерны и для групп В- и Т-линейного ОЛЛ.

#### 5. Аберрантная экспрессия Iк6 и Iк9 при ОЛЛ

Среди всех изоформ гена Iкагос наибольшие отклонения при ОЛЛ выявлены для самых коротких изоформ — Iк6 и Iк9. Эти отклонения не затрагивают всю группу пациентов с ОЛЛ. Большинство лейкозов имеет примерно нормальный профиль экспрессии изоформ гена Iкагос с небольшими вариациями, обычно в сторону снижения всех изоформ (репрессии транскрипции гена Iкагос). Но в отдельных случаях ОЛЛ наблюдается сверхэкспрессия на уровне, превышающем норму на 2–3 порядка.

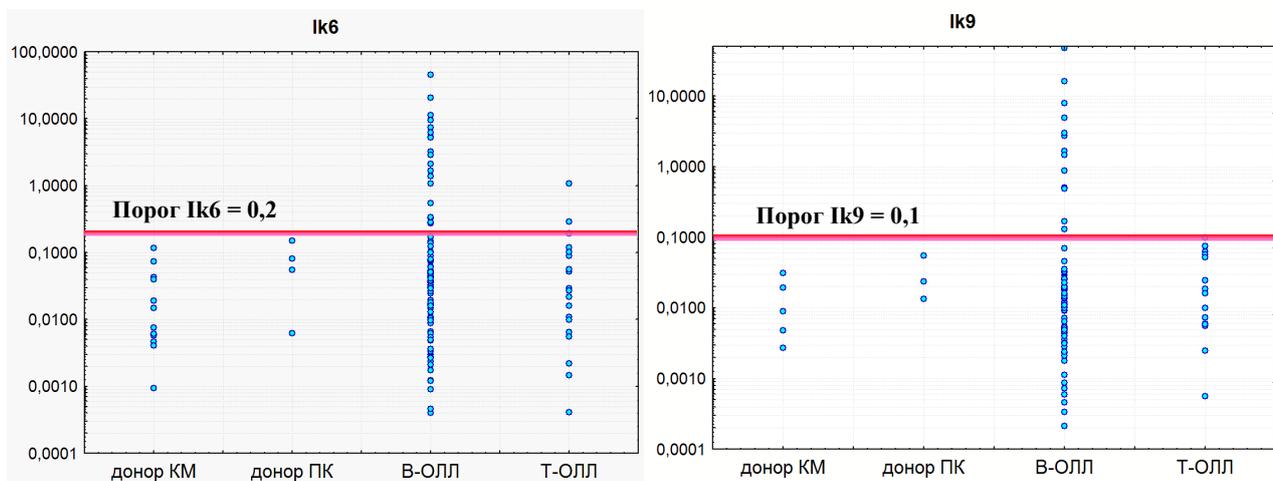


Рис. 4. Распределение по уровню экспрессии Iк6 и Iк9 в группах доноров КМ и пациентов с ОЛЛ

Причина этого явления пока не ясна, но существенно, что это не статистическое количественное увеличение, а качественный признак. Поскольку анализ RQ-PCR все-таки является количественным, требуется установление критерия, отличающего сверхэкспрессию Iк6 от нормы. Для этого была построена точечная гистограмма распределения экспрессии Iк6 и Iк9 (рис. 4).

Медиана уровня Iк6 в лейкозных клетках составила 0,041. Максимальное значение экспрессии Iк6 в костном мозге здоровых доноров — 0,151, медиана — 0,015. Таким образом, разделение по медиане, как это часто применяется для качественной оценки экспрессии генов, не подходит, так как планка будет занижена. Реалистичный порог сверхэкспрессии Iк6 превышает верхний возможный уровень в здоровом КМ. Исходя из распределения случаев в логарифмической шкале (рис. 4), было решено выбрать пороговым значение 0,2. С учетом этого критерия 24 из 116 образцов (20,7%) имели сверхэкспрессию Iк6.

В нормальных лимфоцитах костного мозга Iк9 экспрессируется на уровне 0,007–0,025 (медиана 0,014). В лейкозных бластах Iк9 экспрессируется с большим разбросом значений, также как и Iк6, однако диапазон уровней и медиана Iк9 несколько ниже, чем для Iк6. Исходя из различий между контрольными группами и

распределением уровня Iк9 в логарифмической шкале в общей группе пациентов с ОЛЛ (рис. 4), было решено выбрать в качестве порогового критерия значение 0,1. С учетом этого критерия 13 из 116 образцов (11,2%) ОЛЛ имели сверхэкспрессию Iк9. Все 13 случаев сверхэкспрессии Iк9 имели В-линейный фенотип ОЛЛ (13/85, 15,3%) и во всех этих случаях сверхэкспрессия Iк9 совпадала со сверхэкспрессией Iк6. Можно заключить, что появление этих двух коротких изоформ при ОЛЛ определяется одним и тем же фактором.

В отличие от Iк6 и Iк9, которые имеют низкий физиологический уровень экспрессии, самая короткая изоформа, Iк10, в норме практически не выявлялась. В одном случае нормального КМ зафиксирован уровень Iк10=0,0036. В связи с этим определение порогового уровня для сверхэкспрессии этой изоформы затруднено. В такой ситуации лейкоз оценивается как Iк10-позитивный в случае любой воспроизводимой амплификации с характерной логистической формой кривой ранее 40 цикла с  $\Delta Ct$  в репликах (дуплете или триплете)  $\leq 2$ . Опираясь на такой технический критерий, мы признали Iк10-позитивными четыре случая ОЛЛ с уровнем значения Iк10 выше 0,1. Такой уровень, аналогичный Iк9, был выбран в качестве рабочего критерия для оценки статуса экспрессии Iк10 у пациентов с ОЛЛ.

## 6. Внутригенные делеции в локусе IKZF1

Согласно последним данным при ОЛЛ в гене IKZF1 (Ikaros) с относительно высокой частотой встречаются внутригенные делеции, ассоциированные с плохим прогнозом. Генетические поломки этого локуса при лейкозах разнообразны, но в большинстве случаев ОЛЛ сводятся к всего к двум доминирующим типам делеций — делеции, включающие 3–6 кодирующий экзон (4–7 экзон мРНК) и 1–6 кодирующий экзон (2–7 экзон мРНК) (рис. 5).



Рис. 5. Два наиболее типичных варианта делеций в локусе IKZF1 при ОЛЛ. Примечание: нумерация экзонов включает первый, нетранспируемый экзон

Анализ делеций в локусе IKZF1 выполнялся двумя методами: традиционной ПЦР и методом RQ-PCR. В изучаемой группе ОЛЛ был выполнен скрининг двух наиболее частых типов делеций в локусе IKZF1 — делеции, включающие 3–6 кодирующий экзон (4–7 экзон мРНК) и 1–6 кодирующий экзон (2–7 экзон мРНК). Для этого использовались оба описанных выше метода — классическая ПЦР для всех образцов и RQ-PCR для сомнительных случаев, подтверждения данных электрофореза и при наличии сверхэкспрессии коротких изоформ Ikaros.

Делеция в локусе IKZF1 была выявлена у 26 из 172 пациентов с ОЛЛ (15%). В половине этих случаев делеция выявлялась методом RQ-PCR в минорных субпопуляциях лейкозных бластов (менее 1% клеток). За исключением одного случая Т-ОЛЛ, в котором определялась делеция IKZF1 методом RQ-PCR на уровне  $10^{-4}$ , делеции были характерны для В-линейного ОЛЛ и составляли 25 из 147 (17%) этой группы.

В 25 из 26 случаев ОЛЛ была выявлена делеция ΔEx3–6, в трех случаях делеция ΔEx1–6 (у двух пациентов обнаружены две делеции одновременно). В одном случае ОЛЛ делеция ΔEx1–6 обнаруживалась в субклоне. У одного пациента П-к делеция ΔEx1–6 была выявлена при первичном диагнозе и ей сопутствовала также делеция ΔEx3–6. Примечательно, что при рецидиве заболевания у этого пациента делеция ΔEx1–6 не выявлялась, а делеция ΔEx3–6 присутствовала, но как показал анализ нуклеотидной последовательности, иная, чем при первичном диагнозе. Это говорит о том, что две или все три делеции происходят из разных клонов лейкозных клеток. О биаллельных и олигоклональных делециях IKZF1 уже сообщалось ранее.

## 7. Связь между делециями в локусе IKZF1 и aberrантным сплайсингом Ikaros

Мы проанализировали соотношения между делециями в гене IKZF1 и экспрессией коротких изоформ гена Ikaros. Высказаны две гипотезы возникновения aberrантной экспрессии коротких изоформ гена Ikaros. Согласно первой, F. Klein et al., такой альтернативный сплайсинг является результатом эпигенетического воздействия, в т. ч. вызванного биохимическими эффектами химерного онкогена BCR/ABL. Другой точки зрения придерживается проф. С. Mullighan et al., указывая единственной причиной aberrантного сплайсинга наличие делеций в гене.

Всего 115 пациентов с ОЛЛ были проанализированы на уровне ДНК на наличие генных делеций и на уровне РНК на экспрессию коротких изоформ гена Ikaros. Полученные результаты представлены в табл.

Таблица

Соотношение делеций в локусе IKZF1 гена со сверхэкспрессией коротких доминантно-негативных изоформ гена Ikaros (Ik-DN)

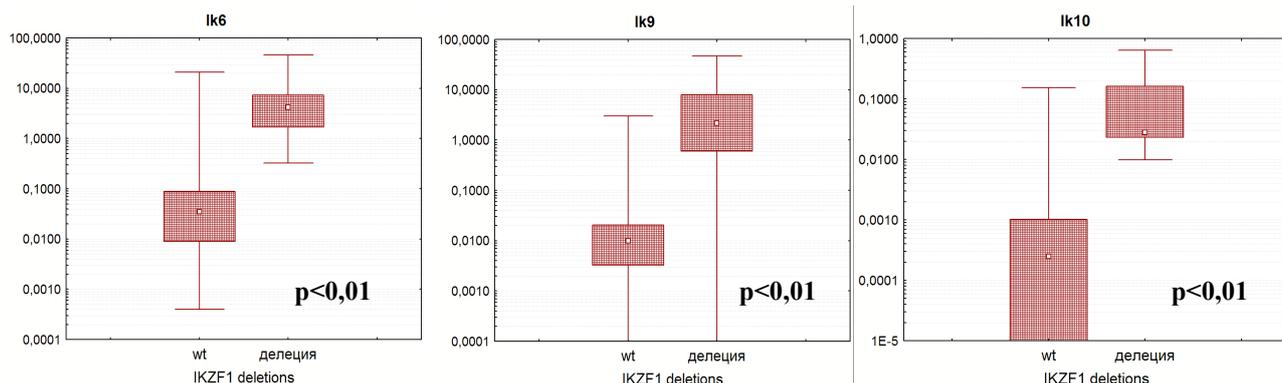
IKZF1 deletions	Ik-normal	Ik-6	Ik-6,9	Ik-6+10	Ik-DN	Всего
wt	84	6	2	1	9	93
Субклон	6	4	2	0	6	12
Делеция	0	0	7	3	10	10
Всего	90	10	11	4	25	115

Примечание: субклон означает наличие делеции в минорных субклонах опухолевых клеток

Как видно из таблицы, наличие делеции в локусе IKZF1 сильно ассоциировано со сверхэкспрессией коротких изоформ ( $p < 0,0001$ , Chi-квадрат). В отсутствие делеции только у 9 из 93 обследованных с ОЛЛ (9,7%) встречалась сверхэкспрессия Ik-DN, причем в 7 случаях это была только экспрессия Ik6, а еще в 2 случаях — сверхэкспрессия Ik6 и Ik9. При наличии делеции, из 10 пациентов с ОЛЛ была сверхэкспрессия у 7 — Ik6 и Ik9, еще у 3 пациентов — еще и Ik10. В случаях ОЛЛ с делецией в минорных субклонах опухолевых клеток была промежуточная ситуация — в 6 случаях был нормальный профиль экспрессии Ikaros, в 6 — сверхэкспрессия Ik-DN.

Нами были проанализированы различия в количестве экспрессии отдельных изоформ гена Ikaros в группах ОЛЛ с наличием и отсутствием делеции (рис. 6). Экспрессия длинных изоформ Ikaros была несколько снижена при наличии делеции (достоверно для Ik1 и Ik4). Ik8 также был несколько снижен при делеции, что вновь характеризует Ik8 как физиологическую изоформу. При этом сверхэкспрессия коротких изоформ очень сильно коррелировала с наличием делеций. Это справедливо в равной степени для Ik6, 9, 10.

Таким образом, можно заключить, что фенотипические проявления делеций в гене Ikaros, вызванные делециями в его локусе, связаны не с падением экспрессии гена в целом (длинных изоформ), а именно сверхэкспрессии коротких изоформ. Однако вопрос о при-



**Рис. 6. Экспрессия длинных и коротких изоформ гена Ikaros в зависимости от статуса гена IKZF1. Представлены случаи делеции IKZF1 во всех клетках лейкоза**

чинах и механизмах aberrантного сплайсинга в отсутствии делеций остается открытым.

Была разработана панель праймеров и флуоресцентно меченных TaqMan-зондов, позволяющая измерять с помощью метода RQ-PCR экспрессию 9 изоформ гена Ikaros. Дизайн исследования был оптимизирован и унифицирован всего для 2 зондов. Первый, Ex4<sub>TM</sub>, меченный флуоресцентной меткой JOE, применялся для определения изоформ Ik1, Ik3, Ik2, Ik4. Второй, Ex7-5'<sub>TM</sub>, меченный флуоресцентной меткой ROX, применялся для выявления коротких изоформ Ik5, Ik8, Ik6, Ik9, Ik10.

В лейкозных клетках профиль экспрессии изоформ гена Ikaros в большинстве случаев сходен с таковым для нормального костного мозга. При этом отмечено некоторое уменьшение уровня экспрессии изоформ гена Ikaros относительно здорового костного мозга. В лейкозных клетках достоверно снижена экспрессия Ik2, Ik4 и Ik8.

Аберрантная сверхэкспрессия изоформ Ik6, Ik9, Ik10 была выявлена в 24, 11 и 4 случаях ОЛЛ соответственно. Это основное качественное изменение в экспрессии гена Ikaros, обнаруженное главным образом при В-линейном ОЛЛ (30%). Во всех случаях сверхэкспрессия изоформы Ik9 или Ik10 сопутствовала Ik6, что говорит об их сцепленном характере регуляции этих изоформ. В 9 из 25 случаев Ik-DN лейкозов сверхэкспрессия Ik6 была единственной короткой изоформой.

Делеция в локусе IKZF1 была выявлена у 26 из 172 пациентов с ОЛЛ (15%). В половине этих случаев делеция выявлялась методом RQ-PCR в минорных субпопуляциях лейкозных бластов (менее 1% клеток). За исключением одного случая Т-ОЛЛ делеции были характерны для В-линейного ОЛЛ и составляли 25 из 147 (17%) в этой группе. В 25 из 26 случаев ОЛЛ была выявлена делеция ΔEx3–6, в трех случаях делеция ΔEx1–6.

Примечательно, что мутации IKZF1 часто охватывают не всю субпопуляцию лейкозных клеток, но возникают в субпопуляциях лейкозных клеток. Это указывает на то, что aberrации IKZF1 не являются инициальными, патогенетическими событиями, а возникают в ходе прогрессии заболевания как вторичные события. Это подтверждается также нестрогим наследованием aberrаций IKZF1 в парных случаях

первичный — рецидив или первый и второй рецидив. Отмечены случаи, когда делеции IKZF1 или сверхэкспрессия Ik-DN изоформ пропадали или появлялись при рецидиве заболевания.

Сверхэкспрессия Ik-DN изоформ является основным проявлением нарушений в гене IKZF1 при лейкозах на уровне транскрипции и сплайсинга. По нашим данным, сверхэкспрессия Ik-DN сильно ассоциирована с наличием внутригенных делеций в локусе IKZF1. Подтверждается, что делеция 3-6 экзонов этого гена, соответствующих ДНК-связывающему домену белка Ikaros, приводит к сплайсингу оставшихся экзонов с образованием Ik6, Ik9, Ik10. Однако эти изоформы обнаруживались и в некоторых случаях ОЛЛ без делеции. Можно допустить, что у этих пациентов были делеции IKZF1, не выявляемые используемыми методами или что какие-то другие мутации или эпигенетические факторы приводят к сверхэкспрессии Ik-DN изоформ.

*Область применения:* клиническая гематология, молекулярная генетика.

*Предложения по сотрудничеству:* включение анализа IKZF1 гена в работу организаций здравоохранения, проводящих диагностику и лечение острых лейкозов.

#### **Aberration of ikzf1 gene in acute lymphoblastic leukemia in children**

*A.N. Meleshko, I.V. Prokhorennya, S.N. Doronina*

Modern molecular-genetic methods of acute lymphoblastic leukemia (ALL) research revealed the alterations of the number of new genes, involved in pathogenesis. The most frequent of them are the transcription factors of lymphoid differentiation, such as pax5, EBF-1, IKZF1 (Ikaros), IKZF2 (Helios), IKZF3 (Aiolos). Ikaros, coded by IKZF1 gene, is a key factor of early lymphocytes development. Knock-out of IKZF1 leads to high frequency of lymphoid malignancies and autoimmune disorders. The Ikaros protein contains 4 DNA-binding zinc fingers forming DNA-binding domain near the N-terminus. The IKZF1 gene contains 8 exons and it is transcribed as at least 16 isoforms due to alternative splicing. Long isoforms (Ik1–3) have at least three zinc fingers that are able to bind DNA and considered to be functional. Short isoforms (Ik6, 8, 9,

10) lack two or more zinc-finger domains and impair the function of Ikaros proteins in a dominant-negative manner (Ik-DN).

In this study the estimation of Ikaros isoforms expression was performed by RQ-PCR in bone marrow (BM) blast cells of primary and relapsed ALL patients in comparison with mononuclear cells of healthy BM donors. ALL samples were also screened for IKZF1 deletions at the genomic DNA level by PCR. 172 BM samples from 130 ALL patients were analyzed, including 56 relapses and 38 paired cases. 18 BM from healthy donors made a control group. The profile of Ikaros expression was similar in the majority of patients. The levels of Ik2, Ik4 and Ik8 isoforms were significantly lower. In 18 (27.3%), 3 (4.5%) and 1 (1.5%) of 66 cases there was found the aberrant overexpression of Ik6, Ik9 and Ik10 respectively. Short isoforms Ik6, Ik9, Ik10 were aberrantly overexpressed in 24, 11 and 4% cases respectively. The deletions in IKZF1 locus were found in 26 of 172 ALL cases. Both IKZF1 deletions and Ik-DN overexpression were mostly limited to B-lineage ALL. There was strong positive correlation between the deletions and the level of Ik6, 9, 10, and negative correlation of deletions with Ik1 and Ik4.

Pair cases mostly displayed the same Ikaros status of both genomic and expression level. However, there were 3 cases of (dis)appearing subclones with deletions of Ik-DN overexpression at relapse, which prove that IKZF1 aberrations may be both initial and secondary event in leukemia progression.

УДК 616.155.392.8-036.11-018:578.264.3]-08

**Изучение спектра альтернативных форм сплайсинга пре-мРНК гибридного онкогена *AML1/ETO* в лейкозных клетках пациентов с ОМЛ, содержащих транслокацию *t(8;21)(q22;q22)*, на протяжении курса терапии**

*А.А. Мигас, О.А. Мишкова, О.В. Алейникова, В.В. Гринева, Т.В. Романовская*

**Рубрика: 34.15.23**

**НИР:** «Анализ альтернативных форм сплайсинга пре-мРНК гибридного онкогена *AML1/ETO* в клетках острого миелоидного лейкоза, содержащих транслокацию *t(8;21)(q22;q22)*» в рамках ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация», подпрограмма «Фундаментальная и прикладная медицина».

**Сроки выполнения НИР:** 2011–2013 гг.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова.

**Источник финансирования:** госбюджет.

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — это гетерогенное заболевание, которое классифицируется на основании наличия специфических цитогенетических аномалий, т. е. согласно Франко-Американо-Британской (FAB) классификации лейкоэмических клеток и иммунофенотипов. Одна из наиболее часто идентифицируе-

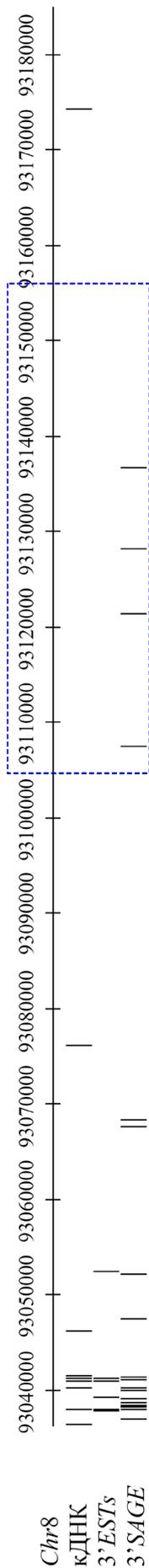
мых в случаях лейкемии транслокаций располагается между хромосомными сегментами 8q22 и 21q22. Такая транслокация ассоциирована примерно в 40% случаев FAB-M2 ОМЛ и в 8–20% всех случаев ОМЛ в зависимости от генетических предпосылок и географии популяции. Транслокация (8;21) также наблюдается примерно в 6% случаев ОМЛ М1 и гораздо реже в ОМЛ М0, М4, М5 и других миелоидных неоплазиях. Хотя для взрослых пациентов транслокация (8;21) является маркером, указывающим на более благоприятный прогноз, для детей вероятность долгосрочной ремиссии составляет около 30%.

Несмотря на обширные данные литературы, на сегодняшний день нет четкого представления о многообразии РНК-продуктов гибридного онкогена *AML1/ETO* в клетках ОМЛ и их функциональной значимости при ОМЛ. Кроме того, до конца не ясна прогностическая значимость уровня экспрессии гибридного онкогена *AML1/ETO* и индивидуального спектра его РНК-продуктов для пациентов, больных ОМЛ с транслокацией *t(8;21)(q22;q22)*.

Исходя из вышесказанного, нами была сформулирована следующая цель — изучить спектр альтернативных форм сплайсинга пре-мРНК гибридного онкогена *AML1/ETO* в лейкозных клетках пациентов, больных ОМЛ, содержащих транслокацию *t(8;21)(q22;q22)*, на протяжении курса терапии.

Первой задачей, стоявшей перед нами в ходе данного исследования, была экспериментальная верификация альтернативных точек терминации транскрипции гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1* с помощью специфических обратных праймеров в клетках острого миелоидного лейкоза, содержащих транслокацию *t(8;21)(q22;q22)*.

На данном этапе экспериментальной верификации предсказаний новой описательной биоинформационной модели гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1* мы сосредоточились на четырех областях предполагаемой терминации транскрипции, идентифицированных путем анализа полноразмерных кДНК гена *RUNX1T1* из баз данных *GenBank* и *dbEST*. Эти области соответствуют 3'UTR-экзонам 12a(6a), 15a(9a), 17a(11a) и 17 гена *RUNX1T1*. Наличие в клетках положительной по транслокации *t(8;21)(q22;q22)* формы острого миелоидного лейкоза транскриптов гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1*, терминированных по указанным экзонам, подтверждалось с помощью ПЦР. В качестве матрицы для ПЦР использовалась кДНК, полученная с помощью реакции обратной транскрипции тотальной РНК из лейкозных клеток. Затравками в ПЦР служили пары праймеров, одним из которых был прямой праймер *RUNX1-exon 6\_FP*, направленный к экзону 6 гена *RUNX1*, а вторым — один из обратных праймеров, направленных к указанным выше областям предполагаемой терминации транскрипции. Характеристика всех использованных на данном этапе работы праймеров представлена в табл. 1.



Ген *RUNX1T1* человека транскрибируется с антисмысловой цепи. Область этого гена, вовлеченная в рекомбинационные события при транслокации  $t(8;21)(q22;q22)$ , взята в пунктирный прямоугольник. Все потенциальные сайты терминации транскрипции, которые могут входить в состав гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1*, расположены слева от рекомбинационной области

Рис. 1. Распределение потенциальных сайтов терминации транскрипции у гена *RUNX1T1* человека, идентифицированных на основе экспериментальных данных

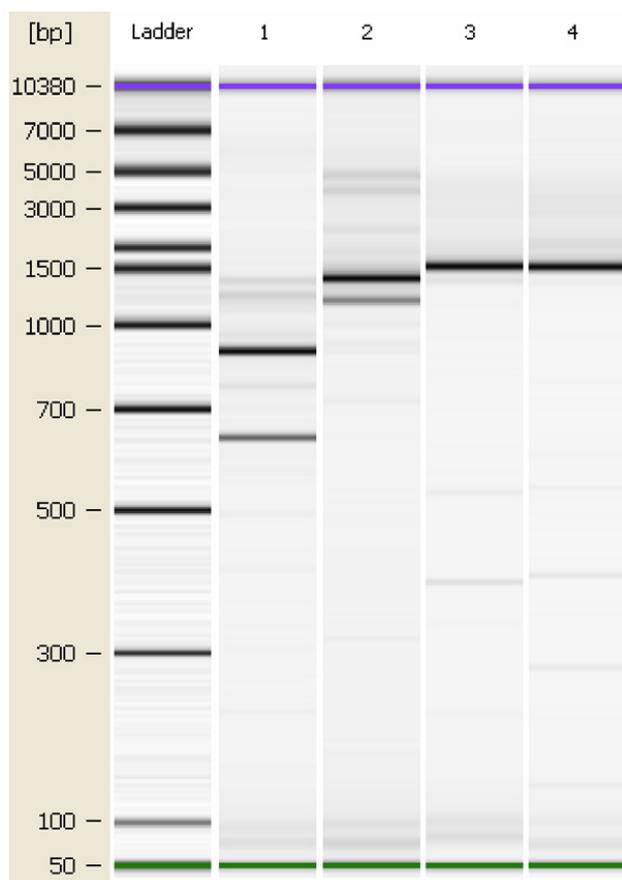
Таблица 1

Краткая характеристика праймеров, предназначенных для экспериментальной верификации новых потенциальных областей терминации транскрипции гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1* с помощью ПЦР

Название праймера	Последовательность праймера, 5' → 3'	Длина праймера (нуклеотиды)	Температура плавления праймера, °C
<i>RUNX1-exon 6_FP</i>	AAAAGCTTCACTCTGACCCATCA	22	+61,1
<i>RUNX1T1-exon 12a(6a)_RP</i>	GTGTAGTGGAAAGAGCACTG	20	+59,5
<i>RUNX1T1-exon 15a(9a)_RP</i>	AATGTGACCTCATATGACCCAG	22	+60,9
<i>RUNX1T1-exon 17a(11a)(v.1)_RP</i>	GTTGGTATAACTGTGCAGCTCT	22	+61,4
<i>RUNX1T1-exon 17(v.1)_RP</i>	AGTTTCACTCGCTTACGG	20	+61,4

**Примечания:**

1. Нуклеотидные последовательности всех праймеров были подобраны с помощью программы *NCBI Primer-BLAST*;
2. Температура плавления праймеров была рассчитана с помощью программного пакета *HYBRID* при концентрации одновалентных катионов 45 ммоль/л, двухвалентных катионов 1,5 ммоль/л и температуре +37°C.



ПЦР была остановлена в фазе плато (30-й цикл амплификации).

Один микролитр каждой пробы был проанализирован на приборе *Agilent 2100 Bioanalyzer* с использованием набора реагентов *Agilent DNA 7500 Kit* (*Agilent Technologies GmbH*, Германия). Дорожка 1: амплификация с парой праймеров *RUNX1-exon 6\_FP* и *RUNX1T1-exon 12a(6a)\_RP*. Дорожка 2: амплификация с парой праймеров *RUNX1-exon 6\_FP* и *RUNX1T1-exon 15a(9a)\_RP*. Дорожка 3: амплификация с парой праймеров *RUNX1-exon 6\_FP* и *RUNX1T1-exon 17a(11a)(v.1)\_RP*. Дорожка 4: амплификация с парой праймеров *RUNX1-exon 6\_FP* и *RUNX1T1-exon 17(v.1)\_RP*

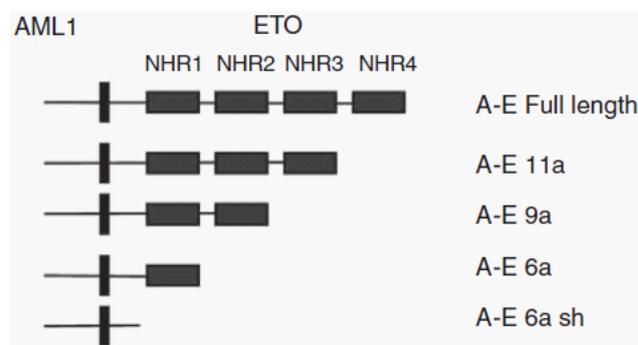
**Рис. 2. Экспериментальная верификация новых потенциальных областей терминации транскрипции гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1* с помощью ПЦР**

Как это показано на рис. 2, продукты амплификации были разделены с помощью полиакриламидного гель-электрофореза, элюированы и секвенированы. Для всех изученных потенциальных областей терминации транскрипции гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1* было подтверждено наличие специфических РНК-продуктов. При этом нами пока не обнаружено включение 3'UTR-экзонов 12a(6a), 15a(9a), 17a(11a) и 17 гена *RUNX1T1* в качестве внутренних экзонов в состав гибридной РНК.

Таким образом, при транскрипции гибридного гена *RUNX1/RUNX1T1* помимо канонической области терминации в районе 3'UTR-экзона 17 гена *RUNX1T1* могут использоваться еще как минимум три области для прекращения транскрипции — в районе 3'UTR-экзонов 12a(6a), 15a(9a) и 17a(11a). Без сомнения, благодаря этим дополнительным областям терминации должен

расшириться репертуар РНК-транскриптов гибридного гена.

Следовательно, нами было принято решение более глубоко изучить соотношение АЕ, АЕ6а и АЕ9а, АЕ17, АЕ17а РНК-транскриптов гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* в клетках пациентов с ОМЛ с транслокацией *t(8;21)(q22;q22)* до начала и после завершения курса терапии. На данный момент, для гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* описано огромное разнообразие альтернативных транскриптов. Влияние полноразмерного транскрипта АЕ и продукта его экспрессии на процесс патогенеза ОМЛ уже достаточно хорошо изучено, чего нельзя сказать об альтернативных изоформах. Несмотря на это в последнее время наблюдается существенный прогресс в понимании механизмов, посредством которых данные транскрипты влияют на процесс лейкогенеза. Одними из таких транскриптов являются АЕ6а и АЕ9а (рис. 3).



**Рис. 3. Структура транскрипционных вариантов АЕ, АЕ6а и АЕ9а гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1***

Как видно из приведенного рис., транскрипты АЕ6а и АЕ9а не включают в свой состав последовательности, кодирующие ряд ключевых для гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* белковых доменов. Несмотря на этот факт для обеих изоформ получены предварительные данные, свидетельствующие в пользу их важности в процессе лейкогенеза. Согласно экспериментальным данным, полученным на мышинных моделях, транскрипт, включающий экзон 6а, увеличивает клоногенный потенциал клеток, позитивных по *t(8;21)(q22;q22)*. Наличие транскрипта, включающего экзон 9а, способствует более быстрому развитию лейкоза с блоком дифференцировки клеток на более ранних стадиях, а также, предположительно, более вероятному рецидиву.

Таким образом, основываясь на описанных выше результатах исследований, мы поставили перед собой задачу изучить особенности экспрессии данных транскрипционных вариантов АЕ6а, АЕ9а, АЕ17а, АЕ17 гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* в группе пациентов с ОМЛ, позитивных по транслокации *t(8;21)*.

Для предварительной оценки экспрессии транскрипционных вариантов АЕ, АЕ6а и АЕ9а гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* в образцах пациентов с ОМЛ, позитивных по транслокации *t(8;21)*, нами были отобраны двенадцать соответствующих случаев (табл. 2).

Таблица 2

## Пациенты, включенные в исследование

Пациент	Возраст/пол	Диагноз	Протокол лечения	Цитогенетика
1	8/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2006	45,X-Y, t(8;21)(q22;q22) [10]
2	13/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2003	46,XY,t(8;21)(q22;q22)[10]
3	3/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2006	46,XY,t(8;21)(q22;q22)[10]
4	8/Ж	ОМЛ М2		46, XX, t(8;21)(q22;q22) [7]; 46, XX, t(8;21)(q22;q22), inc [10];
5	9/Ж	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2006	45.X,-X,t(8;21)(q22;q22)[15]
6	11/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2003	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22) [9]
7	16/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2006	46, XY, t(8;21)(q22;q22) [15]
8	6/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2006	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22) [12]
9	6/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2003	46,XY,t(8;21)(q22;q22)[16]
10	13/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2003	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22) [11]
11	12/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2000	46 XY,del(6)(q15q21), t(8 ;21)(q22 ;q22), del(9)(q22q34)[19]46XY, t(8 ;21)(q22 ;q22) [1]
12	16/М	ОМЛ М2	ОМЛ ММ-2003	46 XY,t(8;21)(q22;q22), del(9)(q12q32)[10]

Для каждого пациента анализ проводился в двух точках: на момент постановки диагноза и в состоянии ремиссии. Оценка экспрессии анализируемых изоформ проводилась методом ПЦР на кДНК пациентов. В качестве прямого праймера использовался праймер к 6 экзону гена *RUNX1*, в качестве обратного для полного транскрипта АЕ — праймер к 17 экзону гена *RUNX1T1*, для транскрипта АЕба — к 6а экзону гена *RUNX1T1*, для транскрипта 9а — к 9а экзону гена *RUNX1T1*, для транскрипта 17а — к 17а экзону гена *RUNX1T1* (табл. 3).

После того, как нами были идентифицированы наиболее вероятные области терминации транскрипции, отработанный для модельной клеточной линии Kasumi 1 подход (рис. 2) мы применили для анализа спектра альтернативных форм сплайсинга пре-мРНК гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* в лейкозных клетках 12 пациентов с ОМЛ, содержащих транслокацию t(8;21)(q22;q22), на протяжении курса терапии.

Полученные в результате проведенных ПЦР фрагменты были очищены в полиакриламидном геле и идентифицированы с помощью секвенирования. В результате для каждого пациента нами был получен профиль возможных транскриптов, на момент постановки диагноза и по достижении ремиссии оканчивающихся на экзоны 6а, 9а, 17, 17а (табл. 4).

Для всех пациентов наблюдалась амплификация фрагмента полноразмерного транскрипта АЕ как в материале, взятом на момент постановки диагноза, так и в период, когда пациент находился в клинической и морфологической ремиссии. Полученные результаты согласуются с данными литературы. Неоднократно описаны случаи обнаружения химерного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* методом ОТ-ПЦР в образцах пациентов, находящихся в длительной цитогенетической и морфологической ремиссии.

Транскрипты, оканчивающиеся на экзон 17а, не были обнаружены ни в одном из образцов. Лишь для модельной клеточной линии наблюдалась амплификация фрагмента транскрипта АЕ17а. Вероятно, включение экзона

17а в транскрипты химерного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* является достаточно редким событием, если учесть, что согласно нашим данным, он наблюдался лишь в 1 из 13 образцов.

Фрагменты транскриптов с экзонами 6а в нашем исследовании наблюдались у большей части пациентов как в первичных образцах, так и в материале, взятом на момент ремиссии. Интересно отметить в трех случаях: 1, 3 и 6 транскрипты, содержащие данный экзон, обнаруживались лишь в ремиссии. Согласно данным литературы, включение экзона 6а в транскрипты химерного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* увеличивает клоногенный потенциал клеток.

Транскрипты, оканчивающиеся на экзон 9а, обнаруживались в образцах всех 12 пациентов на момент постановки диагноза. Проведенные ранее исследования показали, что в группе пациентов, в образцах которых обнаруживались транскрипты данного типа, риск рецидива повышен по отношению к группе без данного типа транскриптов. В нашей группе подобной корреляции не наблюдалось, так как все 12 пациентов, включенных в исследование, находятся в ремиссии, и ни у одного не наблюдалось рецидивов. Можно предполагать, что подобные различия в результатах между нашими исследованиями и ранее опубликованными данными были получены по причине разницы в чувствительности подходов. Вероятно, что используемый нами подход является более чувствительным и с большей вероятностью обнаруживает транскрипты, представленные в клетке в очень небольшом количестве.

Таким образом, можно предположить, что не только наличие транскриптов, оканчивающихся на экзоны 6а и 9а гена *RUNX1T1*, но и их количество играет определенную роль в дальнейшем течении заболевания. Следовательно, дальнейшее изучение спектра альтернативных форм сплайсинга пре-мРНК гибридного онкогена *AML1/ETO* методами количественной ПЦР позволят уточнить прогностическую значимость обнаруженных нами вариантов транскриптов. Данные количествен-

RUNX1T1-эxon 12a(6a)\_RP > RUNX1-эxon 6\_FP  
 RUNX1T1-эxon 15a(9a)\_RP > RUNX1-эxon 6\_FP  
 RUNX1T1-эxon 17a(11a)\_RP > RUNX1-эxon 6\_FP  
 RUNX1T1-эxon 17\_RP > RUNX1-эxon 6\_FP

**Рис. 4. Схематическое представление ESTs фрагментов, амплифицируемых для анализа разнообразия РНК транскриптов химерного онкогена RUNX1/RUNX1T1 в образцах пациентов с ОМЛ, позитивным по транслокации t(8;21)**

Таблица 3

Краткая характеристика праймеров, предназначенных для экспериментальной верификации новых потенциальных областей терминации транскрипции гибридного гена RUNX1/RUNX1T1 с помощью ПЦР

Название праймера	Последовательность 5'→3'	Длина праймера (нуклеотиды)	GC, %	Температура плавления праймера, °C
Прямые праймеры, специфические к экзонам гена RUNX1 человека				
RUNX1-эxon 6_FP	ААААГСТСАСТТГАССАТСА	22	40,9	+61,1
Прямые праймеры, специфические к экзонам гена RUNX1T1 человека				
RUNX1T1-эxon 12a(6a)_RP	GTGTAGTGGAAAGAGCACTG	20	50,0	+59,5
RUNX1T1-эxon 15a(9a)_RP	ААТТГАССТСАТАТГАСССAG	22	45,6	+60,9
RUNX1T1-эxon 17(v.3)_RP	ГТТТГТТГТГТТТСТССТСGG	20	50,0	+58,4
RUNX1T1-эxon 17a(11a)(v.2)_RP	АТГСТГТГАГГТСССТАТG	19	53	+57,5

Таблица 4

Идентифицированные фрагменты транскриптов AE6a, AE9a, AE17a, AE17 гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 в образцах пациентов с ОМЛ

Пациент	AE6a		AE9a		AE17a		AE17	
	Первичный	Ремиссия	Первичный	Ремиссия	Первичный	Ремиссия	Первичный	Ремиссия
1		6-8b.9.10.11.12a	6-8a.13.15a	6-8b.10.11.12.13.14.15a 6-11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17
2	6-8b.9.10.11.12a		6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.10.11.12.13.14.15a 6-11.12.13.14.15a		Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
3		6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a	6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
4	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	6-11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
5	6-8b.9.10.11.12a 6-8b.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.10.11.12.13.14.15a	6-11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
6		6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.10.11.12.13.14.15a	6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
7	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
8	6-8b.9.10.11.12a 6-8b.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
9	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
10	6-8b.9.10.11.12a 6-8b.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
11	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.13.15a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.10.11.12.13.14.15a 6-11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	
12	6-8b.9.10.11.12a 6-8b.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12a	6-8b.9.10.11.12.13.14.15a 6-8b.13.15a	6-8b.13.15a	Отсутствует	Отсутствует	6-8b.9.10.11.12.13.14.15.16.17	

ных исследований также лягут в основу модифицированного варианта метода диагностики минимальной остаточной болезни у прошедших курс лечения пациентов с ОМЛ, положительным по транслокации t(8;21)(q22;q22).

*Новизна:* изучен спектр альтернативных форм сплайсинга пре-мРНК гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* в лейкозных клетках пациентов, больных ОМЛ, содержащих транслокацию t(8;21)(q22;q22), на протяжении курса терапии и в состоянии ремиссии.

*Область применения:* онкология, гематология, трансфузиология.

*Рекомендации по использованию:* полученные данные лягут в основу модифицированного варианта метода диагностики минимальной остаточной болезни у прошедших курс лечения пациентов с ОМЛ, положительным по транслокации t(8;21)(q22;q22).

*Предложения по сотрудничеству:* результаты, полученные в ходе выполнения проекта, перспективны в плане дальнейшего практического применения, могут быть использованы в фундаментальных исследованиях по биологии опухолевой клетки, а также внедрены в практику учебных учреждений.

#### **Investigation of chimeric oncogene AML1/ETO alternative splicing isoforms spectrum in leukemic cells of patients with AML positive for t(8;21)(q22;q22) translocation over the treatment course**

*A.A. Migas, O.A. Mishkova, O.V. Aleinikova, V.V. Grinev, T.V. Romanovskaya*

There was analyzed the chimeric oncogene AML1/ETO alternative splicing isoforms spectrum in leukemic cells of patients with AML positive for t(8;21)(q22;q22) translocation. As a result there were no transcripts with termination at 17a exon observed in the samples of 12 patients. The expression of transcripts terminated at 6a and 9a exons of *RUNX1T1* gene was observed mostly in all analyzed samples even in morphological remission regardless of disease severity and prognosis.

*Field of application:* oncology, hematology, molecular biology and transfusiology.

УДК 616.15-018:575.21:[616.155.392-024.23-036.11]-08-053.2

#### **Взаимосвязь количества стволовых клеток, выявляемых по фенотипу CD34+CD38- или CD34+CD38-CD19+, и ответа пациентов на индукционную терапию при В-клеточных острых лейкозах у детей**

*Т.В. Шман, Л.В. Мовчан, А.В. Тарасова, О.В. Алейникова*

**Рубрики: 76.29.33, 76.29.49**

*НИИР:* «Разработать методологию выявления лейкоэмических стволовых клеток и определить их диагностическое значение у детей с острыми лейкозами».

*Сроки выполнения НИИР:* 01.01.2011 — 31.12.2013.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Актуальной проблемой в онкологии является выявление и характеристика стволовых опухолевых клеток, которые инициируют и поддерживают рост опухоли, а также способствуют прогрессии заболевания. К настоящему времени опубликованы данные о прогностическом значении инициального количества лейкоэмических стволовых клеток (ЛСК) при ОМЛ, хроническом миелоидном лейкозе (ХМЛ), а также остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ). Высокий процент лейкоэмических клеток с фенотипом CD34+CD38- при ОМЛ у взрослых достоверно ассоциируется с высоким уровнем минимальной остаточной болезни и худшей выживаемостью. Сходным образом, большая бессобытийная выживаемость была выявлена в случаях с низким содержанием CD34+CD38- лейкоэмических клеток при ОМЛ у детей.

В случае с ОЛЛ до настоящего момента нет единого мнения о фенотипе ЛСК. Однако установлено, что количество клеток с фенотипом CD34+CD38-, также как и CD34+CD38-CD19+, на момент диагностики лейкоза прямо коррелирует с содержанием остаточных лейкоэмических клеток на этапах терапии ОЛЛ у детей.

Также актуальным является отслеживание ЛСК на этапах химиотерапии для оценки риска развития рецидива и эффективности терапии. Для подтверждения принадлежности клеток с фенотипом CD34+CD38- к лейкоэмическому клону используют дополнительные маркеры, к которым относятся CD123, CD47, CLL-1/hMICL, CD7, CD56, CD19, CD90+, CD96 и др.

Помимо экспрессии специфических маркеров стволовые клетки могут быть идентифицированы и выделены по функциональным тестам, одним из которых является определение активности в клетках фермента альдегид дегидрогеназы (АДГ).

*Цель* — проанализировать количество стволовых клеток, выявляемых по CD34+CD38-(CD19+) фенотипу, и их взаимосвязь с ответом на индукционную терапию у детей с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом.

*Объект исследования* — клетки костного мозга пациентов с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом.

Использованы метод проточной цитофлуориметрии, анализ базы данных.

Нами была проанализирована зависимость между количеством клеток, имеющих иммунофенотип CD34+, CD34+CD38- и CD34+CD38-CD19+, и показателями ответа на программную химиотерапию. В качестве показателей ответа используется количество бластных (опухолевых) клеток на 15-й день терапии (по данным морфологического анализа), а также уровень минимальной остаточной болезни (МОБ, остаточные опухолевые клетки) на 15 и 36-й дни. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Согласно данным, представленным в таблице, видно, что инициальное количество клеток в анализируе-

Таблица 1

Корреляционная зависимость между количеством ранних предшественников и показателями ответа на терапию

	Количество бластных клеток в КМ на 15-й день, n=109	Уровень МОБ на 15-й день n=111	Уровень МОБ на 36-й день n=109
CD34+	0,22, p=0,02	0,19, p=0,04	0,03, p=0,7
CD34+CD38-	0,21, p=0,03	0,29, p=0,002	0,13, p=0,16
CD34+CD38-CD19+	0,22, p=0,02	0,29, p=0,002	0,14, p=0,13

мых субпопуляциях прямо коррелирует с количеством бластов, выявляемых по данным морфологического анализа на 15-й день индукционной терапии в костном мозге пациентов. Более того, выявлена прямая корреляция между количеством клеток в популяциях с фенотипом CD34+, CD34+CD38- и CD34+CD38-CD19+ и уровнем остаточных лейкоэмических клеток, определяемых методом проточной цитофлуориметрии на 15-й день лечения. Однако подобной связи содержания кле-

ток с ранним иммунофенотипом и количеством лейкоэмических клеток согласно данным цитометрии на 36-й день терапии не выявлено.

Далее в табл. 2–4 представлены количества клеток в изучаемых субпопуляциях в зависимости от ответа на терапию. В таблице 2 ответ на терапию определялся по количеству бластных клеток морфологическим методом на 15-й день лечения.

Таблица 2

Количество бластных клеток (морфологический метод подсчета) в зависимости от ответа на терапию на 15-й день

Количество бластных клеток	N	Количество клеток в субпопуляциях, % медиана (25-75 перцентили)		
		CD34+	CD34+CD38-	CD34+CD38-CD19+
<1%	32	26,5 (2,7–63,4)*	0,7 (0,07–4,9)*	0,05 (0,03–4,7)*
1–5%	40	61,4 (15,7–90,9)	1,6 (0,1–6,3)	1,6 (0,1–4,4)
>5%	37	75,7 (24,9–92,2)	3,2 (1,2–6,0)	2,7 (1,1–5,9)

Примечание: \*p<0,05 по сравнению с группой лиц с содержанием бластных клеток >5%.

В табл. 3 представлено количество ранних предшественников пациентов с различным уровнем МОБ,

определенной методом проточной цитофлуориметрии на 15-й день терапии.

Таблица 3

Количество ранних предшественников в зависимости от уровня МОБ на 15-й день

Количество бластных клеток	N	Количество клеток в субпопуляциях, % медиана (25-75 перцентили)		
		CD34+	CD34+CD38-	CD34+CD38-CD19+
<0,01%	22	35,1 (2,4–73,8)	0,7 (0,1–3,7) *p=0,07	0,4 (0,04–3,7)
>=0,01%	89	64,0 (16,0–92,3)	2,1 (0,5–5,8)	2,0 (0,2–5,5)

Примечание: \*по сравнению с группой лиц с содержанием бластных клеток >=0,01%.

При использовании теста **Kruskal-Wallis** были выявлены достоверные различия в количестве CD34+CD38- и CD34+CD38-CD19+ клеток между группами пациентов с различным уровнем МОБ на 15-й день (метод проточной цитофлуориметрии, p=0,01).

В табл. 4 представлено количество ранних предшественников в группах пациентов с различным уровнем МОБ, определенным методом проточной цитофлуориметрии на 36-й день терапии.

Таблица 4

Количество ранних предшественников в зависимости от уровня МОБ на 36-й день

Количество бластных клеток	N	Количество клеток в субпопуляциях, % медиана (25-75 перцентили)		
		CD34+	CD34+CD38-	CD34+CD38-CD19+
<0,01%	65	42,9 (5,6–90,8)	0,9 (0,4–4,0) *p=0,07	0,8 (0,09–3,7) *p=0,05
>=0,01%	44	71,5 (21,2–90,9)	3,3 (0,8–5,9)	2,7 (0,7–5,6)

Примечание: \*по сравнению с группой лиц с содержанием бластных клеток >=0,01%.

Таким образом, более высокое инициальное содержание лейкоэмических клеток с фенотипом CD34+CD38- и CD34+CD38-CD19+ ассоциируется с худшим ответом на терапию на 15-й день по результатам морфологического анализа и уровню МОБ, а также на 36-й день согласно данным МОБ.

**Область применения:** иммунология, гематология, онкология.

**Рекомендации по использованию:** по результатам исследований подготовлен проект инструкции по приме-

нению «Метод определения количества стволовых лейкоэмических клеток при острых лейкозах». Результаты могут быть использованы для мониторинга ответа на терапию пациентов с острыми лейкозами.

**Предложения по сотрудничеству:** совместные исследования по изучению фенотипических и функциональных особенностей лейкоэмических стволовых клеток в различных группах хронических и острых лейкозов.

**The correlation of leukemic stem cells percentage and the outcome of induction therapy in B-lineage acute lymphoblastic leukemia in children**

*T.V. Shman, A.V. Tarasova, L.V. Movchan, O.V. Aleinikova*

One generally accepted theory is that leukemia is maintained by leukemia stem cells (LSCs), that play the central role in drug resistance and metastasis.

The aim of our study was to evaluate LSCs percentage and their prognostic meaning for in children B-precursor acute lymphoblastic leukemia.

We investigated cord blood samples from 87 children with B-ALL. The percentage of LSCs in the blast population was determined. The response to induction therapy was evaluated by morphological tests and minimal residual disease (MRD) detection.

We observed, that initial increased level of LSCs correlates with a poor response to induction chemotherapy. For

example, the average content of CD34+CD38-CD19+ was 0.13% (0.01–3.7) for MRD-negative (<0.01% of blasts) and 2.1% (0.2–5.7) for MRD-positive (>0.01% of blasts) patients at 15 day of induction chemotherapy ( $p<0.05$ ). We compared the proportion of LSCs within the blast population in both diagnostic groups at day 36 and found that MRD-positive patients had higher content of LSC, than MRD-negative: 3.3% (1.4–5.7) and 0.6% (0.06–3.7) respectively ( $p<0.05$ ).

The LSCs percentage correlates significantly with a lack of complete response for patients with B-ALL.

*Field of application:* immunology, hematology, oncology.

*Recommendations for use:* the of this research can be used to develop and improve the methods of outcome assessment in patients with B-ALL.

*Offers for cooperation:* joint research.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИ

УДК 616.832-004.2:[616.523:578.825.11]-08

### Метод комплексной терапии рассеянного склероза, ассоциированного с герпетическими вирусами

*С.А. Дракина, М.А. Хмара, С.М. Ровбут, С.А. Лихачев*

**Рубрики:** 76.29.51; 76.03.41; 76.03.43

*НИИР:* «Разработать и внедрить схему вирусологической диагностики и способ комплексной терапии рассеянного склероза, ассоциированного с герпесвирусами».

*Сроки выполнения НИИР:* июнь 2008 г. — декабрь 2010 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.А. Лихачев.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Существуют различные способы медикаментозного лечения рассеянного склероза. Чаще всего лечение сопровождается использованием глюкокортикостероидных гормонов (метилпреднизолон) и/или плазмафереза, однако при этом далеко не всегда наблюдается быстрое и полное восстановление нарушенных неврологических функций.

*Цель* — повышение эффективности лечения рассеянного склероза, ассоциированного с герпетическими вирусами, путем применения комплексной терапии с сочетанным назначением ацикловира или его аналогов и метронидазола в результате более полного восстановления неврологического дефицита и снижения числа рецидивов.

Основанием для комплексной терапии являются данные вирусологических и серологических исследований: обнаружение ДНК герпетических вирусов в сыворотке, цельной крови или ликворе, а также данные серологических исследований: наличие специфических IgM или IgG. **Последние должны превышать контрольные значения в 3-4 раза.**

Сущность способа комплексной терапии пациентов с рассеянным склерозом, ассоциированным с герпетическими вирусами: проводят патогенетическую медикаментозную терапию рассеянного склероза и в течение 14–21 дня совмещают ее с терапией ацикловиром, который вводят через каждые 8 ч в дозе 10–15 мг/кг массы тела внутривенно капельно в 150–250 мл физиологического или рингераклатного раствора, и метронидазолом, который вводят в дозе 500 мг внутривенно капельно в объеме 100 мл 2 раза в день после введения ацикловира.

Способ осуществляется следующим образом. Для приготовления раствора ацикловира во флакон с 250 мг лекарственного средства вводят 10 мл воды для инъекций или раствора натрия хлорида для инъекций (0,9%). Флакон осторожно взбалтывают до полного растворения содержимого. Подготовленный раствор ацикловира добавляют к инфузионному раствору, который также

хорошо взбалтывают для перемешивания. Рекомендованную дозу ацикловира в растворе с содержанием не более 5 мг/мл (0,5%) лекарственного средства следует вводить в виде медленной внутривенной инфузии более 1 ч. Рекомендуется использовать инфузионные растворы в упаковках по 100 мл, даже если это даст концентрацию ацикловира существенно ниже 0,5%. Таким образом, один инфузионный раствор объемом 100 мл можно использовать для любой дозы ацикловира между 250 и 500 мг (10 и 20 л разведенного раствора). Для доз между 500 и 1000 мг ацикловира должен быть использован второй инфузионный раствор этого объема. Раствор ацикловира для внутривенных инфузий остается стабильным в течение 12 ч при комнатной температуре (от 15 до 20°C). Поскольку в состав раствора не включен никакой антибактериальный консервант, растворение и разведение должны производиться полностью в асептических условиях непосредственно перед введением лекарственного средства, а неиспользованный раствор уничтожается. При помутнении раствора и выпадении кристаллов его не следует использовать.

У пациентов с нарушением функции почек и у лиц пожилого возраста дозирование ацикловира необходимо соотносить с уровнем клиренса креатинина.

Вместо ацикловира может быть использован ганцикловир (цимевен), который также вводят внутривенно капельно из расчета 5 мг/кг с постоянной скоростью в течение 1 ч каждые 12 ч (пациентам с нарушенной функцией почек увеличивают время между инъекциями или снижают дозу).

Метронидазол 500 мг (100 мл) вводят в течение 20 мин. Смешивание 10% декстрозы, пенициллина G калия и раствора рингера с метронидазолом для внутривенных вливаний противопоказано, так как эти вещества химически несовместимы. Метронидазол для внутривенных вливаний также не следует смешивать с другими лекарственными средствами.

Технический результат — повышение эффективности базисного (патогенетического) лечения пациентов, больных рассеянным склерозом, ассоциированным с герпетическими вирусами, за счет более полного восстановления неврологического дефицита и снижения рецидивов методом комплексной терапии с сочетанным применением ацикловира или его аналогов и метронидазола.

Применение изобретения поясняется конкретными клиническими примерами.

*Пример 1.* Пациент К.Д.Г., 25 лет, находился на стационарном лечении в РНПЦ неврологии и нейрохирургии с 16.04.2010 по 30.04.2010, медицинская карта стационарного пациента № 615/299. Поступил с жалобами на слабость в правых конечностях, нарушение чувствительности с 2-х сторон примерно с грудного уровня, неустойчивость при ходьбе, эмоциональную неустойчивость. Считает себя больным око-

ло 5 лет. В крови обнаружены повышенные титры к герпетическим вирусам. В неврологическом статусе: эмоционально лабилен, критика снижена. Черепные нервы: ограничение движений глазных яблок кнаружи на 30° с 2-х сторон, фонация мягкого неба. Сила в правой ноге снижена до 3 баллов. Тонус в руках гипотоничен, в правой ноге — дистоничен. Сухожильно-периостальные рефлексy с расширением рефлексогенных зон D>S. **Синдром Якобсона–Ласке с 2-х сторон.** Симптом Оппенгейма и Бабинского справа. Нарушение чувствительности по типу полиестезии преимущественно в дистальных отделах конечностей. Мимопадание при выполнении координаторных проб, выраженная неустойчивость в позе Ромберга. Диагноз: рассеянный склероз, ассоциированный с герпетическими вирусами, рецидивно-ремиттирующее течение с умеренно выраженным парезом правой ноги и умеренным стволово-мозжечковым синдромом. На фоне стандартной базисной (патогенетической) терапии (солу-медрол) отмечалась незначительная положительная динамика. Назначен курс ацикловира совместно с метронидазолом по приведенной в описании изобретения схеме. При выписке отмечено улучшение в виде увеличения силы в правой ноге до легкого пареза (4–4,5 балла), менее выражена атаксия при ходьбе.

*Пример 2.* Пациентка З.Л.В., 30 лет, находилась на стационарном лечении в РНПЦ неврологии и нейрохирургии с 08.09. по 21.09.2010, медицинская карта стационарного пациента № 488/1428. Жалобы на слабость в нижних конечностях, шаткость при ходьбе, неловкость движений в конечностях. Считает себя больной около 8 лет. В крови обнаружены повышенные титры к герпетическим вирусам. В неврологическом статусе: астенизирована, плаксива. Мелкоразмашистый горизонтальный нистагм. Сила в проксимальных отделах ног снижена до 4 баллов. Сухожильно-периостальные рефлексy высокие, зоны расширены D=S. **Симптом Бабинского с двух сторон.** Интенционный тремор при выполнении координаторных проб. Неустойчива в позе Ромберга. Походка атактическая. Диагноз: рассеянный склероз, ассоциированный с герпетическими вирусами, рецидивно-ремиттирующее течение с легким парезом в ногах и умеренным стволово-мозжечковым синдромом. Пациентке совместно с внутривенной пульс-терапией метилпреднизолоном назначен ацикловир с метронидазолом по схеме, приведенной в описании выше. При выписке отмечено улучшение в виде восстановления силы в ногах, более четкого выполнения координаторных проб, большей устойчивости в позе Ромберга.

*Вид патентной защиты:* патент № 17282; патентовладелец — ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии»; срок действия — 20 лет.

*Область применения:* неврология и инфекционные заболевания, Метод может быть использован для лечения пациентов с рассеянным склерозом при выделении герпетических патогенов из цельной крови, сыворотки или ликвора. Предназначен для врачей-специалистов неврологических, инфекционных стационаров област-

ных, районных и городских больниц, поликлиник.

### **Method of complex treatment of multiple sclerosis associated with herpes viruses**

*S.A. Drakina, M.A. Khmara, S.M. Rovbut, S.A. Likhachev*

There was developed the method of treatment of patients with multiple sclerosis associated with herpes viruses. The patients are treated during 14–21 days with acyclovir which is administered every 8 hours in the dose 10–15 mg/kg of body weight intravenously at 150 or 250 ml saline solution, ringerlaktatis and metronidazole which is administered in the dose of 500 mg intravenously to 100 ml volume twice a day after the administration of acyclovir.

To prepare the solution of acyclovir we mix 250 mg of the drug and 10ml of water for injection or sodium chloride for injection (0.9%). The vial is shaken to dissolve the content. Acyclovir solution was added to the infusion solution. The recommended dose of acyclovir solution containing not more than 5mg/ml (0.5%) of the drug is administered as a slow intravenous 1-hour infusion. One infusion of 100 ml can be used for any dose of acyclovir between 250 and 500 mg (10 and 20 liters of the diluted solution). For doses between 500 and 1000 mg of acyclovir there is used the second volume of infusion solution. Acyclovir solution for intravenous infusion is stable for 12 hours at room temperature (15 to 20°C).

*Field of application:* designed for neurological hospitals, infectious disease hospitals, and outpatient clinics.

УДК [616.858: 616.74-009.12]-085

### **Оценка эффективности медикаментозной коррекции мышечной ригидности при болезни Паркинсона**

*С.А. Лихачев, В.В. Вацилин, Л.А. Василевская*

**Рубрики: 76.29.51; 76.13.23**

*НИР:* «Изучить нейрофизиологические механизмы биологической коррекции двигательных расстройств при болезни Паркинсона, разработать программы лечения двигательных нарушений с использованием различных видов стимуляции афферентных систем».

*Сроки выполнения НИР:* 2009–2010 гг.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.С. Лихачев.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Ригидность при болезни Паркинсона (БП) представляет собой повышение мышечного тонуса по пластическому типу, обусловленное одновременным сокращением мышц агонистов и антагонистов. Мышечная ригидность ограничивает скорость и амплитуду движений и может быть причиной мышечных болей и контрактуобразования в суставах конечностей и позвоночника.

Оценка ригидности проводится клинически на основании субъективных ощущений испытателя о со-

противлении мышц испытуемого при пассивных движениях в суставе. Клинический метод в связи с субъективной оценкой мышечного тонуса не может характеризоваться должной воспроизводимостью и надежностью, а разрабатываемые шкалы для количественной оценки изменений тонического состояния мышц не обладают достаточной валидностью.

Для количественной оценки мышечной ригидности был предложен ряд методик. Первые из них измеряли силу, требуемую для сгибания произвольно расслабленной конечности на фиксированное расстояние. Позднее для исследования мышечного тонуса было предложено использовать анализ длиннолатентных ответов рефлексов на растяжение, однако в связи с широким разбросом результатов у здоровых лиц и лиц, больных БП, данный метод не нашел признания для оценки выраженности ригидности. Также с целью оценки выраженности мышечной ригидности предлагалось использовать электронейромиографию (ЭНМГ), но данный метод позволяет лишь констатировать изменения продолжительности тонической активности на электромиограмме в начале движения, наблюдаемой у пациентов с БП в отличие от здоровых лиц. В последнее время появление новых поколений датчиков обуславливает разработку методов измерения ригидности, основанных на регистрации смещения приложенной силы, однако данные методы не отражают изменения контрактильных свойств мышц.

*Цель* — создание нового метода оценки эффективности коррекции мышечной ригидности по данным изменения показателей спекл-оптической миограммы у пациентов с болезнью Паркинсона.

В разработанном нами методе спекл-оптической оценки мышечной ригидности показатели, характеризующие биомеханические нарушения.

Сущность метода заключается в том, что кожу в области исследуемой мышцы облучают когерентным излучением в оптическом диапазоне до и через 1 ч после приема леводопы, регистрируют спектр спекл-поля, определяют среднюю частоту спектра ( $\langle F \rangle$ ) и коэффициент асимметрии спектра ( $A_s$ ) при максимальном напряжении мышцы и после 10-кратного сокращения/

расслабления мышцы, затем делают вывод об эффективности коррекции ригидности мышц кисти по изменению величин  $\langle F \rangle$  и  $A_s$ .

Обследование пациента проводится в положении сидя, приемно-осветительный датчик располагается в верхней трети тыльной поверхности предплечья. Регистрируются флуктуации интенсивности спекл-поля, рассеянного кожей, освещенной источником лазерного излучения над длинным лучевым разгибателем кисти, последовательно сначала во время произвольного максимального разгибания кисти, при котором сокращается длинный лучевой разгибатель кисти, и далее сразу после 10-кратного разгибания и сгибания кисти в лучезапястном суставе (тест с нагрузкой) в течение 15–30 с. Расчет спектров производят в диапазоне частот 1–62 Гц. В качестве амплитудно-частотных параметров спектра анализируется коэффициент асимметрии спектра  $A_s$  и средняя частота спектра  $\langle F \rangle$ . Оценка мышечной ригидности определяется путем сравнения показателей спекл-оптической миограммы ( $\langle F \rangle$  и  $A_s$ ) после 10-кратного разгибания и сгибания кисти в лучезапястном суставе с их значениями при максимальном разгибании кисти. Оценка эффективности коррекции ригидности мышц проводится сравнением динамики показателей в различных функциональных условиях до лечения с их динамикой в аналогичных условиях после приема леводопы.

Оценка эффективности коррекции мышечной ригидности проведена у 27 пациентов с II–III стадией БП в возрасте 50–65 лет. Результаты представлены в виде медианы и межквартильного интервала. Степень достоверности определяли с помощью критерия Вилкоксона. За уровень статистической достоверности принимали  $p < 0,05$ .

Полученные результаты представлены в табл.

До приема леводопы после 10-кратного разгибания и сгибания кисти наблюдали тенденцию к увеличению исследуемых показателей по отношению к данным, наблюдаемым во время произвольного максимального разгибания кисти. Это свидетельствует о том, что после окончания теста с нагрузкой у пациентов с БП не происходит расслабления мышцы. После приема ле-

Таблица

Спекл-оптические показатели тонуса длинного лучевого разгибателя кисти у пациентов с БП до и после приема леводопы Me (LQ-HQ)

Функциональное состояние мышцы	Средняя частота спектра, $\langle F \rangle$	Коэффициент асимметрии спектра, $A_s$
До приема леводопы		
Произвольное максимальное разгибание кисти (сокращение мышцы)	25,76 (23,52; 28,78)	0,595 (0,47; 0,8)
После 10-кратного максимального разгибания и сгибания кисти в лучезапястном суставе	26,26 (24,26; 28,45)	0,605 (0,51; 0,78)
После приема леводопы		
Произвольное максимальное разгибание кисти (сокращение мышцы)	26,37 (23,91; 28,42)	0,64 (0,51; 0,78)
После 10-кратного максимального разгибания и сгибания кисти в лучезапястном суставе	24,57 (22,3; 27,7) $p=0,03$	0,53 (0,42; 0,71) $p=0,04$

водопы средняя частота спектра после теста с нагрузкой снизилась на 7%, а коэффициент асимметрии спектра уменьшился на 17% по сравнению со значениями, зарегистрированными во время произвольного максимального разгибания кисти. Выявленная динамика параметров спекл-оптической миограммы в этих условиях свидетельствует об уменьшении выраженности ригидности длинного лучевого разгибателя кисти после приема леводопы.

Представленные данные позволяют сделать вывод о возможности применения предлагаемого спекл-оптического метода для оценки эффективности коррекции ригидности мышц лекарственными средствами леводопы.

*Вид патентной защиты:* патент № 16633; патентовладелец — ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии»; начало действия патента 16.09.2010.

*Область применения:* неврология.

*Рекомендации по использованию:* данный метод может быть использован для оптимизации тактики лечения и оценки эффективности коррекции ригидности мышц у пациентов с БП.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Evaluating the effectiveness of pharmacological correction of muscular rigidity in Parkinson's disease**

*S.A. Likhachev, V.V. Vaschilin, L.A. Vasilevskaya*

There was developed a new method for evaluating the effectiveness of the correction of muscular rigidity in patients with Parkinson's disease (PD).

The skin of the studied muscle was irradiated with coherent radiation in the optical range before and 1 hour after levodopa administration. The spectrum speckle field was recorded. There was determined the average frequency of spectrum ( $\langle F \rangle$ ) and spectrum asymmetry (As) in maximal muscle tension and after 10-time reduction / relaxation of the muscles. There was made a conclusion about the effectiveness of muscle rigidity correction.

*Field of application:* neurology.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.74-009.1—085.372-07

### **Определение показаний для введения ботулотоксина типа А при оромандибулярной дистонии**

*С.А. Лихачев, Т.Н. Чернуха, С.А. Навоша*

**Рубрика: 76.29.51**

*НИИР:* «Разработать и внедрить в практику систему медицинской реабилитации пациентов с осложненными формами мышечной дистонии».

*Сроки выполнения НИИР:* 2010–2012 гг.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.А. Лихачев.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — оценить особенности клинических проявлений оромандибулярной дистонии (ОМД), предло-

жить эффективные методы лечения и реабилитации.

ОМД является одной из форм идиопатической мышечной дистонии и сопровождается насильственными движениями и болевыми ощущениями в нижней половине лица.

В ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии» обследовано 25 пациентов с ОМД, из них у 11 (44,0%) ОМД наблюдалась как один из симптомов сегментарной мышечной дистонии. Средний возраст пациентов составлял  $49,6 \pm 8,1$  года, средний возраст дебюта заболевания —  $38,5 \pm 8,6$  года (наиболее раннее начало — 27 лет, наиболее позднее — 53 года). Выделяли 7 типов ОМД: дистоническое сведение челюстей наблюдалось у 6 (24,0%) пациентов, дистоническое разведение челюстей — у 7 (28,0%), дистоническое смещение нижней челюсти — у 2 (8,3%), периоральная дистония — у 2 (8,3%), лингвальная дистония — у 2 (8,0%), фарингеальная дистония — у 1 (4,0%), комбинированные формы ОМД — у 5 (20,0%).

У 5 (20,0%) пациентов наблюдалась положительная динамика на фоне медикаментозной терапии (бензодиазепинов, холинолитиков). Инъекции ботулотоксина типа А (БТА) при ОМД были выполнены у 14 пациентов. Введение ботулотоксина применялось при недостаточном эффекте от медикаментозной терапии и при наличии стойкого и выраженного характера гиперкинеза. В сложных случаях введения осуществлялись совместно врачом-неврологом и врачом-челюстно-лицевым хирургом. Выбор мышц-мишеней определялся визуально и пальпаторно, для установления ориентиров введения в мышцы полости рта инъекции осуществлялись при сонографическом контроле. С дифференциально-диагностической целью для уточнения степени участия в гиперкинезе жевательных мышц предложена блокада нижнечелюстного нерва через вырезку нижней челюсти с обеих сторон, при этом уменьшение насильственных движений в оромандибулярной области через 5 мин после блокады являлось показанием для лечебного введения БТА в жевательные мышцы головы с обеих сторон.

При дистоническом сведении челюстей через 30 дней после инъекции наблюдалось улучшение у 7 (100%) пролеченных пациентов в виде уменьшения выраженности насильственных движений, улучшения речи, жевания. Побочных реакций от введения БТА при дистоническом сведении челюстей не наблюдалось. Эффективность инъекций сохранялась в течение длительного времени, в среднем в течение 5-7 мес. При дистоническом разведении челюстей после инъекции БТА наблюдали улучшение у 5 (71,4%) из 7 пациентов, однако эффект терапии был кратковременным и сохранялся в течение 1–2 мес. В одном случае после инъекции БТА с 7 по 15 сут наблюдалась дисфагия умеренной степени.

При выборе методов лечения ОМД важен индивидуальный подход, привлечение смежных специалистов, в т. ч. для проведения локальных инъекций БТА.

*Вид патентной защиты:* патент № 16705 С.А. Лихачев, Т.Н. Чернуха, С.А. Навоша «Способ определения показаний для введения ботулотоксина типа А

при оромандибулярной дистонии» от 20.07.2012, ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии».

*Область применения:* неврология.

*Рекомендации по использованию:* методы диагностики и лечения ОМД могут быть использованы при дифференциальной диагностике с челюстно-лицевой патологией, а также для повышения эффективности лечения пациентов с ОМД.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Determination of indications for introduction of botulinum toxin type A in oromandibular dystonia**

*S.A. Likhachev, T.N. Chernukha, S.A. Navosha*

Oromandibular dystonia (OMD) is a form of dystonia, which is manifested by violent movements in the lower half of the face. For the complex treatment of patients with OMD there was used botulinum toxin type A. Injections of botulinum toxin. A is an effective and safe method of treatment of this disease.

УДК 616.89-008.453.3-085.372-07

### **Способ определения ориентиров для введения средства ботулотоксина типа А при писчем спазме**

*Т.Н. Чернуха, С.А. Лихачев, Н.И. Черненко, Ю.Н. Рушкевич*

**Рубрика: 76.29.51**

*НИР:* «Разработать и внедрить в практику систему медицинской реабилитации пациентов с осложненными формами мышечной дистонии».

*Сроки выполнения НИР:* 2010–2012 гг.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.А. Лихачев.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучить особенности клинической картины писчего спазма (ПС), и предложить методы лечения и реабилитации пациентов.

ПС – одна из форм мышечных дистоний, сопровождающаяся насильственными движениями в руке при письме, что приводит к резкому замедлению письма, грубому изменению почерка, сопровождается социальной дезадаптацией и снижением качества жизни.

В РНПЦ неврологии и нейрохирургии обследован 31 пациент с ПС. Средний возраст дебюта заболевания составил  $24,7 \pm 1,2$  года (от 7 до 37 лет). При развитии ПС в юношеском возрасте заболевание чаще имело прогрессирующее течение по сравнению с группой лиц с дебютом заболевания в зрелом возрасте. В группе наблюдаемых пациентов выраженность дистонии в руке по шкале Burke-Fahn-Mardsen составила  $3,4 \pm 0,5$  балла, степень нарушения функции письма —  $2,7 \pm 0,4$  балла.

У 18 (58,1%) пациентов наблюдалось сгибание кисти и пальцев при письме, разгибание зафиксировано в значительно меньшем количестве случаев — 7 (22,5%), у небольшой части — 6 (19,4%) имелся тремор руки

при письме и напряжение мышц предплечья, когда нельзя было выделить направление преимущественного дистонического сокращения.

По течению заболевания выделяли стационарное течение у 10 (32,3%) пациентов, медленно прогрессирующее — у 15 (48,3%), прогрессирующее — у 6 (19,4%). При анализе анамнеза установлено, что прогрессирующее и медленно прогрессирующее течение наблюдалось преимущественно у пациентов, у которых сохранялась интенсивная нагрузка на руку в виде письма при невозможности изменить условия труда.

При первичном установлении диагноза ПС проводилась беседа с пациентом о необходимости ограничить продолжительность письма в течение дня, объяснялась важность правильности позы при письме (исключение письма в вынужденной позе, на коленях и т.п.), давались рекомендации пациенту по рациональному оборудованию рабочего места, рекомендации по возможности минимизировать письмо. В дебюте ПС было эффективно применение ручек с мягким нажимом пера, достаточно действенным было применение эргономической авторучки Ринг-Пен.

Локальные инъекции ботулотоксина типа А (БТА) применялись при выраженных формах ПС, когда насильственное сокращение мышц руки возникало при написании нескольких слов, а остальные методы терапии и реабилитации были исчерпаны. В качестве вспомогательных методов для определения ориентиров при введении БТА предложено использовать сонографическое исследование. При УЗИ мягких тканей предплечья, в т.ч. во время письма возможно более точно выявить наиболее заинтересованные мышцы, определить расположение нервно-сосудистых пучков, глубину залегания мышц и толщину подкожно-жировой клетчатки, после чего на основании полученных данных проводились инъекции БТА.

Лечение ботулотоксином получили 11 пациентов с ПС. Наиболее часто инъекции проводились в локтевой и лучевой сгибатели кисти, круглый пронатор, поверхностные сгибатели пальцев, реже в глубокие сгибатели пальцев, плечелучевую мышцу, супинатор, разгибатели кисти и пальцев.

Эффект от лечения оценивали через 1 мес., положительную динамику в виде увеличения скорости письма, улучшения разборчивости почерка, уменьшения боли и дискомфорта в руке при письме наблюдали у 7 (63,7%) пациентов. При дальнейшем наблюдении через 3 мес. хороший стойкий эффект зафиксирован у 4 (36,3%) пациентов с ПС, у 2 из них наблюдалось преимущественное разгибание кисти и пальцев при письме, у 2 — сгибание кисти и пальцев. Эффекта не отмечали у 4 (36,3%) пациентов, причем у 2 из них наблюдалось преобладание дрожания при письме. Серьезных побочных эффектов не отмечали, только один пациент пожаловался на преходящую неловкость (с 3 по 5 неделю) в указательном пальце правой руки при надавливании на левую кнопку мыши для компьютера, но при этом оценил эффект от лечения как отличный, так как почерк стал более разборчивым, а письмо более продол-

жительным.

Накопленный опыт показывает, что ранняя диагностика и успешная терапия симптомов ПС является кропотливым занятием, требует индивидуальной работы с пациентом. Важно своевременное установление диагноза при начальных проявлениях ПС, когда возможна немедикаментозная коррекция симптомов болезни. Применение БТА оправдано при тяжелых формах ПС, когда другие методы терапии и реабилитации исчерпаны.

*Вид патентной защиты:* патент № 14023 С.А. Лихачев, Т.Н. Чернуха, Н.И. Черненко, Ю.Н. Рушкевич «Способ определения ориентиров для введения препарата ботулотоксина типа А при писчем спазме» от 26.10.2010.

*Область применения:* неврология.

*Рекомендации по использованию:* методы диагностики и лечения ПС могут быть использованы для повышения качества оказания помощи пациентам с мышечными дистониями при дифференциальной диагностике с другими заболеваниями нервной системы.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Method of injection of botulinum toxin type A in writer's cramp**

*T.N. Chernukha, S.A. Likhachev, N.I. Chernenko, Y.N. Rushkevich*

It is important to diagnose the initial manifestations of writer's cramp when non-pharmacological correction is still possible. The use of botulinum toxin type A therapy is indicated in severe forms of writer's cramp. The best effect is observed when there is used the sonographic monitoring of the forearm muscles.

УДК 616.832.12-008.6-07

#### **Метод ранней диагностики дисфункции нижнего моторного нейрона на шейном уровне спинного мозга**

*С.А. Лихачев, Ю.Н. Рушкевич, Н.М. Тарасевич*

**Рубрика: 76.29.51**

*НИИР:* «Изучение патогенетических механизмов формирования моторных, сенсорных, вегетативных нарушений при нейрогенных пароксизмальных состояниях, нервно-мышечных и нейродегенеративных заболеваниях на основании клинко-инструментальных, нейрогуморальных исследований».

*Сроки выполнения НИИР:* 01.01.2011 — 31.12.2013.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.А. Лихачев.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Изобретение относится к медицине, в частности неврологии, и может найти применение для диагностики дисфункции нижнего моторного нейрона при патологии нервной системы.

Фасцикуляции относятся к одному из основных признаков поражения нижнего моторного нейрона и явля-

ются проявлением спонтанной активности всей двигательной единицы — комплекса, состоящего из двигательной клетки, ее аксона и группы иннервируемых этим аксоном мышечных волокон.

Важное значение в диагностике заболеваний нижнего моторного нейрона имеют электрофизиологические исследования, целью которых является подтверждение нейронального характера поражения в клинически заинтересованных областях, а также выявление электрофизиологических доказательств дисфункции нижнего моторного нейрона в клинически интактных областях.

Болезнь моторного нейрона — это нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся гибелью верхних и нижних моторных нейронов и неуклонным прогрессированием. Диагностика болезни моторного нейрона основывается на анализе совокупности клинических проявлений, данных анамнеза, результатов лабораторно-инструментальных исследований.

Наиболее близким по технической сущности из известных способов идентификации поражения нижнего моторного нейрона является способ, основанный на анализе клинко-электронейромиографических данных (Эльскориальские критерии, 2000). В ходе сбора анамнеза и неврологического обследования необходимо выявить доказательства дегенерации верхнего и/или нижнего моторных нейронов на четырех уровнях (мозгового ствола, шейный, грудной или пояснично-крестцовый отделы спинного мозга). С целью верификации поражения нижнего моторного нейрона производится игольчатая электронейромиография на трех уровнях (голова или шея, рука, нога).

В клинической практике встречаются случаи, когда при неврологическом осмотре выявление фасцикуляций в диагностически сложных случаях может быть затруднено: при выраженном слое подкожно-жировой клетчатки либо при незначительной выраженности фасцикуляций. Для электронейромиографии описанные трудности не являются препятствием, но инвазивность и болезненность методики, а также технические сложности при исследовании верхнешейного отдела спинного мозга затрудняют диагностику.

Сущность метода диагностики дисфункции нижнего моторного нейрона на шейном уровне спинного мозга, включающего предварительное выявление признаков поражения нижнего моторного нейрона по данным неврологического осмотра и электронейромиографии, заключается в том, что дополнительно осуществляют исследование вызванных акустическим стимулом вестибулярных миогенных потенциалов с мышц шеи и диагностируют дисфункцию нижнего моторного нейрона при выявлении фасцикуляций в зоне иннервации шейных сегментов.

Результат заключается в том, что использование вызванных акустических вестибулярных миогенных потенциалов позволяет провести раннюю диагностику фасцикуляций в сегментах, иннервируемых шейным отделом спинного мозга, определить генерализацию процесса и темпы прогрессирования заболевания, что позволит своевременно выбрать рациональную лечеб-

ную тактику. Применение вызванных стимулом вестибулярных миогенных потенциалов позволяет повысить эффективность диагностики в клинически и диагностически сложных случаях, является абсолютно безболезненной, наглядной методикой.

Реализацию метода осуществляют следующим образом. При клиническом выявлении признаков поражения нижнего мотонейрона проводят исследование вызванных акустическим стимулом вестибулярных миогенных потенциалов на вестибулометрическом комплексе типа «InterAcoustics». Предварительно перед исследованием места для крепления электродов в области лба по средней линии чуть ниже границы роста волос, области сосцевидных отростков с обеих сторон и области проекции кивательных мышц в верхней их трети очищают последовательной обработкой кожи спиртом, абразивной пастой и затем снова спиртом. Далее в вышеуказанные области накладывают одноразовые электроды, при этом на лобную область — электрод черного цвета (заземление), на область сосцевидного отростка справа — электрод красного цвета, на область сосцевидного отростка слева — электрод синего цвета. Активный (референтный) электрод желтого цвета размещают на верхней трети проекции сосцевидно-ключичной мышцы, сначала на правой стороне, затем на левой, поочередно. После этого на уши накладывают наушники, с поочередной звуковой стимуляцией щелчками в 100 дБ, подаваемыми вначале на правое, затем на левое ухо, при этом сторона, с которой проводят звуковую стимуляцию, соответствует стороне наложения активного электрода, а голова пациента максимально повернута в сторону, противоположную стороне звуковой стимуляции. В ходе исследования регистрируют ответы при повороте головы пациента вправо, а затем — влево (4-кратное повторение обследования). Вызванные вестибулярные миогенные потенциалы по характеру являются поверхностной миограммой, полученной с мышц шеи в результате акустической стимуляции, а при интерференции волн, наблюдаемой при спонтанных фасцикуляциях и сокращениях в ответ на акустический стимул, паттерн вестибулярных потенциалов представляет собой многоволновую кривую (Colebatch J.G, 2004). Если в результате исследования получаемые волны являются многоволновой кривой, то можно сделать заключение о поражении нижнего мотонейрона на шейном уровне спинного мозга.

Метод апробирован у 30 человек, из них 15 пациентов основной группы — с болезнью моторного нейрона, шейно-грудной формой; группу сравнения составили 10 пациентов с поражением плечевого сплетения, 5 — с цервикальной миелопатией. Вовлечение нижнего мотонейрона шейного отдела спинного мозга в патологический процесс было выявлено только у пациентов с шейно-грудной формой болезни моторного нейрона, у которых регистрировалась описанная выше многоволновая кривая.

*Вид патентной защиты:* патент № 16725 от 29.08.2012, патентообладатель — ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии».

*Область применения:* неврология, нейрофизиология.

### **The method of diagnostics of the lower motor neuron dysfunction in the cervical spinal cord**

*S.A. Likhachev, Y.N. Rushkevich, N.M. Tarasevich*

The method of diagnostics of the lower motor neuron dysfunction in the cervical spinal cord includes a preliminary identification of the signs of lower motor neuron lesion according to the neurological examination and electromyography. There was carried out the study of acoustic stimulus of vestibular myogenic potentials of the neck muscles.

The use of acoustic vestibular myogenic potentials promotes early identification of fasciculations in the segments innervated by the cervical spinal cord. It helps to determine the generalization process and the rate of disease progression. The use of incentive vestibular myogenic potentials can improve the efficiency of diagnosis in clinical and diagnostically difficult cases.

*Field of application:* neurology.

УДК 616.832.12-079.4

### **Метод дифференциальной диагностики болезни моторного нейрона на шейном уровне спинного мозга и цервикальной миелопатии**

*С.А. Лихачев, Ю.Н. Рушкевич, Н.М. Тарасевич*

**Рубрика: 76.29.51**

*НИИР:* «Изучение патогенетических механизмов формирования моторных, сенсорных, вегетативных нарушений при нейрогенных пароксизмальных состояниях, нервно-мышечных и нейродегенеративных заболеваний на основании клинико-инструментальных, нейрогуморальных исследований».

*Сроки выполнения НИИР:* 01.01.2011 — 31.12.2013.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.А. Лихачев.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Дифференциальная диагностика болезни моторного нейрона и цервикальной миелопатии имеет важное значение, так как от этого зависит выбор терапии (консервативный или нейрохирургический) и прогноз заболевания.

Болезнь моторного нейрона — группа тяжелых неврологических заболеваний, в клинике которых на первый план выступает синдром поражения корковых, бульбарных и переднероговых мотонейронов. Цервикальная миелопатия представляет собой хроническое ишемическое поражение спинного мозга, связанное с компрессионными сосудистыми и структурными изменениями при дегенеративно-дистрофических изменениях позвоночника.

Сочетание амиотрофий и пирамидных нарушений характерно для обоих заболеваний. Диагноз уточняется с помощью данных рентгенографических исследований, нейровизуализации и отсутствия генерализованных денервационных изменений при игольчатой электронейромиографии, характерных для болезни мо-

торного нейрона. Шейной миелопатии не присуще наличие фасцикуляций в нижних конечностях. Выявление признаков сдавления дурального мешка на шейном уровне при шейной миелопатии является показанием для нейрохирургического лечения, противопоказанного при болезни моторного нейрона.

Наиболее близким по технической сущности из известных способов дифференциальной диагностики этих заболеваний является способ, основанный на анализе клинических, рентгенологических и нейрофизиологических данных (игольчатая электронейромиография на трех уровнях: голова или шея, рука, нога, соматосенсорные вызванные потенциалы). Признаками поражения нижнего мотонейрона при этом являются: спонтанная активность в виде потенциалов фасцикуляций, фибрилляций и положительных острых волн, а также тенденция к увеличению длительности, амплитуды и количества фаз потенциалов двигательных единиц (признаки нейрональной денервации). При цервикальной миелопатии – сегментарной спинальной патологии потенциалы фасцикуляций локализуются в соответствующем миотоме.

Задача метода состоит в повышении эффективности дифференциальной диагностики болезни моторного нейрона и цервикальной миелопатии.

Сущность метода дифференциальной диагностики заключается в том, что дополнительно исследуют вызванные акустическим стимулом вестибулярные миогенные потенциалы с мышц шеи. С учетом клинических и нейрофизиологических результатов диагностируют дисфункцию нижнего моторного нейрона на шейном уровне спинного мозга, если при исследовании вызванных вестибулярных миогенных потенциалов выявляют многоволновую кривую, отражающую фасцикуляцию, или диагностируют цервикальную миелопатию, если справа и слева выявляют асимметрию вестибулярных миогенных потенциалов.

Применение вызванных акустическим стимулом вестибулярных миогенных потенциалов позволяет повысить эффективность дифференциальной диагностики в клинически сложных случаях, является абсолютно безболезненной, наглядной методикой.

Реализация метода осуществляют следующим образом. При дифференциальной диагностике болезни моторного нейрона и цервикальной миелопатии изучают болезнь моторного нейрона и цервикальную миелопатию на вестибулометрическом комплексе «Inter Acoustics». Предварительно перед исследованием места для крепления электродов в области лба по средней линии чуть ниже границы роста волос, области сосцевидных отростков с обеих сторон и области проекции кивательных мышц в верхней их трети очищают последовательной обработкой кожи спиртом, абразивной пастой и затем снова спиртом. Далее в вышеуказанные области накладывают одноразовые электроды, при этом на лобную область – электрод черного цвета (заземление), на область сосцевидного отростка справа — электрод красного цвета, на область сосцевидного отростка слева — электрод синего цвета. Актив-

ный (референтный) электрод желтого цвета размещают на верхней трети проекции сосцевидно-ключичной мышцы, сначала на правой стороне, затем на левой, поочередно. После этого на уши накладывают наушники с поочередной звуковой стимуляцией щелчками в 100 дБ, подаваемыми вначале на правое, затем на левое ухо. При этом сторона, с которой проводят звуковую стимуляцию, соответствует стороне наложения активного электрода, а голова пациента максимально повернута в сторону, противоположную стороне звуковой стимуляции. В ходе проведения исследования регистрируют ответы при повороте головы пациента вправо, а затем — влево (4-кратное повторение обследования). Вызванные вестибулярные миогенные потенциалы по характеру являются поверхностной миограммой, полученной с мышц шеи в ответ на акустическую стимуляцию. При интерференции волн, наблюдаемых при спонтанных фасцикуляциях и сокращениях в результате акустического стимула, паттерн вызванных акустическим стимулом вестибулярных миогенных потенциалов представляет собой многоволновую кривую. Если в результате исследования получаемые волны являются описанной многоволновой кривой, то можно сделать заключение о нейрональном поражении при болезни моторного нейрона. При выявлении асимметрии вызванных акустическим стимулом вестибулярных миогенных потенциалов диагностируют хроническое ишемическое поражение спинного мозга при цервикальной миелопатии.

Метод апробирован у 30 человек, из них 15 пациентов основной группы — с болезнью моторного нейрона, шейно-грудной формой; группу сравнения составили 10 пациентов с поражением плечевого сплетения, 5 — с цервикальной миелопатией. Вовлечение нижнего мотонейрона шейного отдела спинного мозга в патологический процесс было выявлено только у пациентов с шейно-грудной формой болезни моторного нейрона, у которых регистрировалась описанная выше многоволновая кривая. При обследовании пациентов с цервикальной миелопатией выявлялась асимметрия вызванных акустическим стимулом вестибулярных миогенных потенциалов.

*Вид патентной защиты:* патент № 17089 от 29.08.2012, патентообладатель — ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии».

*Область применения:* неврология, нейрофизиология.

### **The method of differential diagnosis of motor neuron disease in the cervical spinal cord and cervical myelopathy**

*S.A. Likhachev, Y.N. Rushkevich, N.M. Tarasevich*

Differential diagnosis of motor neuron disease and cervical myelopathy is important because it affects the choice of treatment (conservative or neurosurgical) and the prognosis of the disease.

The use of acoustic stimulus, caused by vestibular myogenic potentials, improves efficiency of the differential diagnosis in clinically complex cases. It is absolutely painless and transparent method.

*Field of application:* neurology, neurophysiology.

УДК 616.831-006-091-02

**Клинико-морфологические механизмы роста  
нейроэпителиальных опухолей,**

**контаминированных вирусом простого герпеса**

*Т.В. Жукова, А.Ф. Смянович, А.Л. Танин, Л.П. Пархач,  
С.Д. Безубик, А.А. Ширинский, А.И. Ахремчук*

**Рубрики:** 76.29.42; 76.29.49

*НИР:* «Разработать клинико-морфологические критерии прогнозирования рецидивов нейроэпителиальных опухолей и рекомендации по тактике их лечения».

*Сроки выполнения НИР:* I кв. 2011 г. — IV кв. 2015 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. акад. НАН Беларуси А.Ф. Смянович.

*Организация-соисполнитель:* ГУ «Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать клинико-морфологические критерии прогнозирования рецидивов нейроэпителиальных опухолей и рекомендации по тактике их лечения.

На основании изучения особенностей роста основных групп нейроэпителиальных опухолей, контаминированных вирусом простого герпеса (ВПГ), выявлена общая стратегия их развития, заключающаяся в каскадности изменений биологического поведения клеток и эндотелия сосудов, происходящего на фоне прогрессирования опухолевого процесса.

Часть вирусного генома, попавшая в опухолевую и эндотелиальную клетку, изменяет скорость роста популяции клеток-хозяев. Возникшее в ответ на изменение в клеточном геноме хозяина продуктивное воспаление стимулирует процессы пролиферации, изменяя скорость апоптоза. Экспрессия антиапоптозного фактора bcl-2 увеличивается поочередно в опухолевых и эндотелиальных клетках в зависимости от фазы роста опухоли, который начинается с увеличения количества сосудов. При репродукции вновь возникшего генетического материала, морфологически проявляющегося ростом внутриядерных герпетических включений I типа, экспрессия bcl-2 увеличивается в большей степени за счет эндотелиальных клеток. При сравнении выборки экспрессии p53 и bcl-2 нейроэпителиальных опухолей на фоне хронического воспаления и при его обострении выявлено статистически достоверное увеличение экспрессии bcl-2 в опухолях, протекающих на фоне обострения хронического воспаления ( $p < 0,002$ ). При анализе экспрессии bcl-2 в опухолевых и эндотелиальных клетках обнаружено, что во время обострения продуктивного воспаления экспрессия bcl-2 в эндотелиальных клетках опережает таковую в опухолевых в среднем в 3 раза по всем группам нейроэпителиальных образований.

При попадании части вирусного генома в эндотелиальную клетку происходит подавление трансмиграции лейкоцитов к месту повреждения. Fas-рецептор,

экспрессированный на лейкоцитах, как на эндотелиоцитах, содержит цитоплазматический «домен смерти», необходимый для передачи сигнала, приводящего к апоптозу. Предполагается, что функция Fas-лиганда на эндотелии состоит в предотвращении миграции лейкоцитов через запуск в них апоптоза. Снижение экспрессии Fas-лиганда эндотелием может являться важнейшим фактором в процессе нормального воспалительного ответа, определяющим выраженность миграции лейкоцитов в ткань. В частности, фактор некроза опухоли- $\alpha$ , являющийся вторичным сайтом прикрепления ВПГ, снижает экспрессию Fas-лиганда эндотелием, стимулируя при этом миграцию лейкоцитов. Эндотелиальные же клетки в обычных условиях проявляют устойчивость к апоптозу, что проявляется повышенной экспрессией ими антиапоптозного фактора bcl-2. Это объясняет факт поэтапного изменения экспрессии CD8 опухолевой тканью и сосудами в зависимости от уровня экспрессии антител к ВПГ. Цитотоксические Т-лимфоциты служат главным фактором в иммунном контроле вирусных инфекций.

При изучении историй болезни пациентов с глиомами установлено, что в случаях, когда опухоль протекает на фоне обострения хронического воспаления, рецидив наступает в 2 раза скорее. У пациентов с глиобластомами он выявляется от 3 до 6 мес., в то время как на фоне хронизации процесса эти опухоли рецидивируют в интервале 9–12 мес. Для пациентов с анапластическими астроцитомами и анапластическими олигодендроглиомами этот период составляет 6–9 и 12–18 мес. соответственно. При глиомах низкой степени злокачественности (IGr) на фоне обострения хронического воспаления в первые 12–24 мес. 30% опухолей рецидивируют с повышением степени злокачественности. Эти же опухоли, протекающие на фоне хронического воспаления, не проявляют себя до 5 лет включительно.

Опухолевые клетки в отличие от эндотелиальных обладают способностью к независимости роста, нечувствительностью к антиростовым сигналам, способностью избегать апоптоза, а также неограниченным потенциалом к репликации ДНК. Этому «помогает» часть генома ВПГ, попавшая в опухолевую клетку. В нейроэпителиальных опухолях в устойчиво трансформированных вирусом клетках устанавливается равновесие, когда вирус не убивает клетку, а клетка сохраняет часть вирусного гена при размножении. Это достигается в результате интеграции онкогенных вирусных генов в клеточный геном или перехода вируса в персистирующее состояние при латентной инфекции, когда часть генома сохраняется в клетке в форме автономно реплицирующихся эписом. Предположительно, что 7–8% глиальных опухолей имеют часть генома вируса именно в виде эписом. Таким образом, вирусные белки не определяются в эндотелиальных и опухолевых клетках при помощи ПЦР и иммуногистохимического исследования с антителами к ВПГ. В этом случае ни в опухолевой ткани, ни в эндотелии сосудов мы не обнаруживаем воспалительного инфильтрата, состоящего из Т-лимфоцитов. Если в таком состоянии вирусный

онкоген может стабильно реплицироваться, вирусный онкопротеин подталкивает клетку к вступлению в фазу S и способствует ее иммортализации, что морфологически проявляется повышением экспрессии bcl-2 в опухолевых и эндотелиальных клетках.

Нейроэпителиальные опухоли II степени злокачественности имеют свои особенности роста, обусловленные количеством экспрессии поликлональных антител к ВПГ в опухолевой ткани. Экспрессия может быть диффузной и очаговой. Эти опухоли экспрессируют антитела к ВПГ одновременно и эндотелием сосудов, и опухолевыми клетками. Количество серонегативных опухолей одинаково для всех групп нейроэпителиальных опухолей.

1. Пациенты с нейроэпителиальными опухолями имеют клинические проявления герпетической инфекции в виде кожных герпетических высыпаний, лейкоцитоза, повышенной СОЭ, в ликворе выявлялись белки ВПГ.

2. В опухолевой ткани нейроэпителиальных опухолей выявляется антиген ВПГ, который экспрессируется опухолевой тканью, стенкой сосудов, а также стенкой сосудов и опухолевой тканью одновременно проявляется наличием Т-лимфоцитарной инфильтрации.

3. Контаминация нейроэпителиальных опухолей ВПГ повышает показатели bcl-2 эндотелиальных клеток в 3 раза, опухолевых в 2 раза в среднем по всем группам нейроэпителиальных опухолей.

4. Контаминация нейроэпителиальных опухолей ВПГ проявляется большим количеством и разнообразием сосудов, что проявляется ускоренным ростом опухолей.

5. Применение противовирусного лечения является одним из необходимых факторов продления жизни пациентов с нейроэпителиальными опухолями.

*Область применения:* нейрохирургия, онкология.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Clinical and morphological growth mechanism of neuroepithelial tumors contaminated with the herpes simplex virus**

*T.V. Zhukova, A.F. Smeyanovich, A.L. Tanin, L.P. Parkhach, S.D. Bezubik, A.A. Shirinsky, A.I. Ahremchuk*

Contamination of neuroepithelial tumors with herpes simplex virus (HSV) has the expression of bcl-2 of endothelial cells three times as big as in the control group. Contamination of neuroepithelial tumors with herpes simplex virus influences the apoptosis in endothelial and tumor cells. One of the mechanisms of apoptosis in high malignant tumors is a process of interaction of infected tumorous and endothelial cells, T-lymphocytes that are characterized by the cascade flow. We suppose that the growth of blood vessels of the tumor and the growth of the tumor itself take place in two consequent stages. Initially, there are only blood vessels. Then the growth of the tumor itself is observed. The patients with neuroepithelial tumors have clinical symptoms such as eruption, high leucocytes and the speed of concretion of leucocytes. Neuroepithelial tumors have the expression of antigen HSV of tumor tissue.

Contamination of neuroepithelial tumors with herpes simplex virus has the expression of bcl-2 of endothelial cells three times as big as in the control group, and the expression of tumor cells two times as big as in the control group.

*Field of application:* neurosurgery, oncology

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК [616.133.33+616.145.11]-007-08/089

#### **Комплексное лечение высокопоточковых артериовенозных мальформаций головного мозга**

*А.Ф. Смянович, С.В. Капацевич, Л.П. Пархач, Е.В. Кисурин, Г.В. Тельцов*

**Рубрики: 76.29.39; 76.29.42**

*НИИ:* «Разработать способы профилактики периперационных осложнений при различных способах хирургического лечения высокопоточковых артериовенозных мальформаций головного мозга».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф., акад. НАН Беларуси А.Ф. Смянович.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — повышение эффективности нейрохирургического лечения пациентов с артериовенозными мальформациями (АВМ) головного мозга и разработка профилактических мероприятий предупреждения развития синдрома прорыва перфузионного давления головного мозга.

Проведен анализ результатов эндоваскулярного лечения 158 пациентов с церебральными АВМ с учетом данных транскраниальной доплерографии, церебральной оксиметрии, электроэнцефалографии, спиральной компьютерной томографии и ангиографии (СКТ и СКТА), магнитно-резонансной томографии и ангиографии (МРТ и МРА) у пациентов с частичной и тотальной окклюзией или выключением АВМ из кровотока с учетом использования различных современных эмболизирующих материалов, таких как *n*-бутил цианоакрилат (*n*-БЦА) и Оникс.

В 34 случаях АВМ имела высокопоточковый фистулезный компонент (впАВМ), который характеризовался следующими признаками: 1) наличие резко расширенной питающей артерии; 2) резко расширенная питающая артерия непосредственно соединяется с дилатированной веной или варикозным узлом; 3) нет плексиформного компонента между артерией и веной; 4) диаметр питающей артерии более чем в 2 раза превышает диаметр сравнимых артерий, не участвующих в кровоснабжении АВМ (например, соответствующая контралатеральная артерия), либо диаметр питающей артерии более 2 мм.

Возраст пациентов впАВМ был от 6 до 62 лет (21 мужчина, 13 женщин). Первым проявлением заболевания у 21 (61,8%) пациента с АВМ было кровоизлияние, у 8 (23,5%) — судорожный приступ, у 5 (14,7%) — очаговые неврологические нарушения и головная боль. Распределение пациентов по градации Спетслер-Мартин:

II — 3 (8,8%), III — 10 (29,4%), IV — 12 (35,3%), V — 9 (26,5%) человек. АВМ локализовалась в полушариях головного мозга в 24 (70,6%) наблюдениях, в области базальных ядер — в 6 (17,6%), в ЗЧЯ — 4 (11,8%).

Разработан алгоритм лучевой диагностики в остром и холодном периодах внутричерепного кровоизлияния при АВМ головного мозга и артериальных аневризмах (АА) на афферентах АВМ. Алгоритм комплексного лучевого исследования пациентов при подозрении на АВМ и АА в «холодном» периоде включает выполнение СКТА или комплекса МРТ и МРА, в «остром» периоде — выполнение СКТА.

Изучена ангиоархитектоника узла впАВМ и зональность кровоснабжения отдельными афферентными артериями ядра АВМ, особенности венозного дренирования, выявления признаков фистулезного высокопоточкового компонента АВМ, уточнения наличия интранидальных аневризм, аневризм на афферентных артериях и дренажных сосудах в целях определения тактики лечения.

В 4 случаях первым этапом эндоваскулярного лечения выключалась мешотчатая аневризма на афферентной артерии микроспиралью, а следующими этапами ядро АВМ с использованием п-БЦА. У 2 пациентов одновременно выполнена окклюзия микроспиралью мешотчатой аневризмы и АВМ композицией Оникс.

В 17 случаях, когда диаметр афферентного сосуда был более 2 мм, в качестве первого этапа производилась установка микроспиралей в афферент фистулы, в 8 комбинированная окклюзия микроспиралей + п-БЦА, чтобы избежать нежелательной миграции эмболизирующего агента в венозные дренажи. В 3 наблюдениях афферент выключался отделяемым баллоном. В 6 случаях впАВМ выключена только композицией Оникс.

Мультимодальному лечению подверглось 8 пациентов, из них у 6 эмболизация дополнялась прямой микрохирургической операцией.

Эмболизация фистулезного компонента достигнута у всех 34 пациентов. Тотального выключения мальформации из кровотока после эндоваскулярного лечения с применением п-БЦА (28 случаев) удалось достичь у 2 (7%) пациентов, субтотально (76–95% объема) эмболизированы 18 (64,3%) мальформаций, частичная эмболизация (<75%) выполнена в 8 (28,7%) наблюдениях. При этом 16 пациентов все еще продолжают находиться под нашим динамическим контролем. После мультимодального лечения достигнута тотальная элиминация АВМ у всех 8 пациентов. С применением композиции Оникс тотальная окклюзия впАВМ достигнута у всех 6 пациентов.

Четыре летальных исхода отмечены после субтотальной эмболизации п-БЦА фистулезной и плексиформной части АВМ и 1 летальный исход наблюдался при субтотальной окклюзии композицией Оникс впАВМ с милиарной мешотчатой аневризмой на афференте, из которой в послеоперационном периоде дважды возникали кровоизлияния, приведшие к фатальному исходу.

Лечение пациентов с церебральными АВМ, име-

ющими высокопоточковый фистулезный компонент, представляет собой сложную проблему в определении оптимальной тактики терапии и в связи с высоким риском развития геморрагических осложнений. В целях предупреждения и уменьшения количества периоперационных осложнений целесообразно поэтапное выключение данного типа АВМ из кровотока. Окклюзия высокопоточковой артериовенозной фистулы является приоритетной задачей при эндоваскулярном лечении этой патологии. Следующим этапом производится эмболизация плексиформной части АВМ, что позволяет полностью излечить АВМ, облегчить последующее микрохирургическое удаление либо снизить риски геморрагических осложнений при радиохирургическом лечении. При выключении фистулезного компартмента АВМ следует использовать микроспираль, предпочтительно с гидрогелевым покрытием, при необходимости в комбинации с эмболизирующей композицией, что позволяет минимизировать осложнения эндоваскулярных вмешательств и улучшить конечный эффект лечения.

*Область применения:* нейрохирургия, рентгеноэндоваскулярная хирургия.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Combined treatment of high-flow brain arteriovenous malformations**

*A.F. Smeyanovich, S.V. Kapatsevich, L.P. Parkhach,  
E.V. Kisurin, G.V. Teltsov*

Brain arteriovenous malformations (AVMs) are associated with high-flow fistulas, which is a significant challenge to treatment. The purpose of this study was to examine the outcomes of multimodality treatment of AVMs of this kind, with a special focus on endovascular embolization.

The importance of the fistula treatment should be emphasized to minimize the endovascular complications and to maximize the treatment effect when the multimodality therapy is used to treat brain AVMs with high-flow fistulae.

*Field of application:* neurosurgery, interventional neuroradiology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.134.9-007.64-089

#### **Эндоваскулярные технологии в лечении артериальных аневризм основной артерии у пациентов с высоким риском прямого микрохирургического вмешательства**

*А.Ф. Смеянович, С.В. Капацевич, Е.В. Кисурин*

**Рубрики:** 76.29.39; 76.29.42

*НИИ:* «Разработать и внедрить в практику здравоохранения Республики Беларусь технологию эндоваскулярного лечения артериальных аневризм основной артерии у пациентов с высоким риском прямого микрохирургического вмешательства».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2013 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф., акад. НАН Беларуси А.Ф. Смянович.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать технологию эффективного нейрохирургического лечения пациентов с артериальными аневризмами основной артерии и высоким риском прямого микрохирургического вмешательства с применением эндоваскулярных методик, снизить летальность и инвалидизацию у данной категории пациентов.

Изучены результаты лечения 30 человек с артериальными аневризмами основной артерии. Из них 15 прооперировано микрохирургическим методом и 15 выполнены эндоваскулярные вмешательства.

В хирургической группе было 12 женщин и 3 мужчины в возрасте от 35 до 60 лет. По локализации аневризмы основной артерии располагались следующим образом: бифуркация основной артерии — 12, область слияния позвоночных артерий — 1, в области отхождения передней нижней мозжечковой артерии — 1, в области отхождения верхней мозжечковой артерии — 1. В хирургической группе все аневризмы проявлялись субарахноидальным кровоизлиянием. Распределение пациентов по степени тяжести по шкале Хант–Хесс: I градация — 5 (33,3%), II — 6 (40%), III — 3 (20%), IV — 1 (6,7%) человек. Распределение аневризм по размерам: милиарные — 1, обычного размера — 13, большие — 1, гигантские — 0.

В эндоваскулярной группе по локализации аневризмы распределились следующим образом: бифуркация основной артерии — 8, область слияния позвоночных артерий — 2, ствол основной артерии — 3, в области отхождения передней нижней мозжечковой артерии — 1, в области отхождения верхней мозжечковой артерии — 1. Клинически 11 аневризм (73,3%) проявились субарахноидальным кровоизлиянием, одна имела псевдотуморозное течение, одна тромбозомболическое, одна проявилась головной болью и 1 протекала бессимптомно. Пациенты, перенесшие внутричерепные кровоизлияния по степени тяжести, по шкале Хант–Хесс распределились следующим образом: I градация — 3 (27,3%), II — 7 (63,6%), III — 1 (9,1%) человек. Распределение аневризм по размерам: милиарные — 1, обычного размера — 7, большие — 4, гигантские — 3.

Клипирование шейки аневризмы выполнено у 13 пациентов, у одного пациента клипс наложен на аневризматический мешок, в одном случае аневризма укутана лоскутом мышцы.

После операции 8 пациентов выписано в удовлетворительном состоянии. При этом у 3 из них сохранялось нарушение функции глазодвигательного нерва, у 1 — отводящего, у 1 — лицевого. У 4 пациентов после операции наблюдались выраженные симптомы поражения стволовых структур. После хирургического вмешательства умерли 3 пациента. Исследование показало, что радикальное выключение аневризмы методом клипирования было технически возможно у 13 (87%) пациентов с аневризмами основной артерии. При этом инвалидизация составила 40%, летальность — 20%.

Эндоваскулярная эмболизация аневризм основной

артерии осуществлялась микроспиральями в 12 (80%) случаях, из них в 3 с применением стент-ассистенции, в 3 — баллон-ассистирующей методики. В 3 (20%) случаях производилось только стентирование несущего сосуда с целью моделирования кровотока.

Тотальная окклюзия аневризмы была достигнута в результате операции у 12 (80%) пациентов, субтотальное выключение — у 3 (20%). В группе стентирования несущего сосуда при контрольной ангиографии в сроки 3–6 мес. у двух пациентов наблюдался тотальный тромбоз аневризмы, а в 1 наблюдении — частичное заполнение, что потребовало выполнить повторную эмболизацию контрастируемой части аневризмы микроспиральями.

Неврологические осложнения наблюдались в 3 (20%) случаях. После эндоваскулярного вмешательства умер 1 (6,66%) пациент.

Артериальные аневризмы основной артерии являются наиболее труднодоступными и технически сложными для микрохирургического вмешательства. Эндоваскулярный метод лечения аневризм данной локализации является приоритетным, что обусловлено следующими факторами: 1) более высокая частота осложнений микрохирургического лечения аневризм основной артерии по сравнению с аневризмами передней циркуляции головного мозга; 2) развитие тяжелейших осложнений из-за близости перфорантных артерий, питающих стволовые структуры головного мозга, а также черепных нервов; 3) ограничения хирургических доступов для достижения достаточной визуализации сосудистой анатомии в этой глубокой области и ограниченность возможности обеспечения адекватного пространства для контроля проксимальной части артерии; 4) большая безопасность эндоваскулярных вмешательств; 5) эндоваскулярные технологии позволяют выключать из кровотока большие и гигантские аневризмы основной артерии, ранее считавшиеся неоперабельными.

*Область применения:* нейрохирургия, рентгеноэндоваскулярная хирургия.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Endovascular treatment of basilar artery aneurysms in patients with high surgical risk**

*A.F. Smeyanovich, S.V. Kapatsevich, E.V. Kisurina*

Basilar artery aneurysms are often difficult to treat with open surgical techniques. Surgery is difficult because of the complex anatomy, the presence of small perforating arteries and lower cranial nerves at this region, and coexistent medical problems. Our results support the endovascular management, which appears to be successful and has lower complication rates in comparison with those of surgery, especially when it's associated with the remodeling technique.

*Field of application:* neurosurgery, interventional neuroradiology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.831-005.98+612.273.2]-07

**Определение параметров волн внутричерепного давления в диагностике отека и гипоксии головного мозга**

*Э.П. Титовец, Л.П. Пархач, Т.С. Степанова, Е.Ю. Черныш*

**Рубрики: 76.29.42; 34.03.23**

*НИР:* «Исследование методами математического моделирования процессов оксигенации и водного метаболизма головного мозга».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2012 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р биол. наук, проф. Э.П. Титовец.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Исследование параметров колебаний внутричерепного давления (ВД) в клинике имеет важное прогностическое и диагностическое значение. В последнее время все больше внимания уделяется анализу индивидуальных волн ВД с использованием чувствительной аппаратуры для регистрации быстрых процессов [Linningeretal, 2009; Wagshuleetal, 2011]. В настоящем исследовании мы рассматриваем быстрые пульсовые колебания ВД, представляющие собой линейную трансформацию пульсовых волн кровеносных сосудов головного мозга, возникновение которых непосредственно связано с работой сердца. На форму и амплитуду волн ВД в замкнутом пространстве головного мозга оказывают влияние многие факторы, включая состояние системного кровообращения и дыхания, состояние стенок кровеносных сосудов, гематоэнцефалического барьера, церебрального интерстициального пространства и др.

Собственно волны ВД несут большой объем информации о состоянии головного мозга в норме и при патологии. Известны отдельные эмпирически установленные формы ВД, появляющиеся при высокой вероятности возникновения отека головного мозга и гипоксии. Обнаружение таких волн важно для ранней диагностики угрожающих состояний и принятия своевременных профилактических и терапевтических мер. Однако многое в этой области остается принципиально нерешенным.

*Цель* — разработать математическую модель для анализа формы волн ВД и показать на этой модели, какие условия приводят к развитию гипоксии и отека головного мозга. В основу моделирования положен оригинальный осциллирующий механизм водного обмена и оксигенации головного мозга [Titovets et al., 2004; Титовец Э.П. и сотр., 2013].

Разработанная модель представлена следующим дифференциальным уравнением:

$$\frac{I_v}{S} = K \left\{ \int_{t_0}^{t_i} P_{\text{int}}(t) dt - \left[ \int_{t_0}^{t_i} P_c(t) dt - \sigma \int_{t_0}^{t_i} \pi(t) dt \right] \right\}$$

где  $I_v$  — объемный поток жидкости;  $S$  — площадь диффузии;  $K$  — коэффициент пропорциональности,

включающий произведение молекулярной активности аквапоринов на их удельную плотность на площади переноса  $S$ ;  $P_{\text{int}}$  — интерстициальное гидростатическое давление;  $P_c$  — гидростатическое давление в плазме крови;  $\sigma$  — коэффициент отражения (в условиях нашей модели  $\sigma \approx 1$ );  $t$  — время.

Это уравнение позволяет определить эффективный суммарный объем жидкости на единицу площади, переносимый через гематоэнцефалический барьер под действием градиента гидростатического давления за время, соответствующее фазе сердечного цикла. При умножении на частоту сердечных сокращений получают объем движения жидкости в данном направлении за определенное время. Согласно этой модели вероятность развития отека головного мозга определяется векторной суммой потока жидкости, направленного из кровеносных сосудов в интерстициальное пространство (систолическая составляющая волны ВД), и потока, направленного в кровеносный сосуд (диастолическая составляющая волны ВД).

Результаты могут быть использованы в качестве фундаментальной основы при разработке критериев оценки вероятности возникновения отека и гипоксии головного мозга по характеру изменений формы волны ВД. Математическую обработку волны ПД, ее систолической и диастолической составляющей выполняли с использованием пакета программ (Autosignal, Table Curve, Cell Designer, Excel).

**Assessment of the parameters of intracranial pressure waveforms in diagnostics of brain edema and hypoxia**

*E.P. Titovets, L.P. Parkhach, T.S. Stepanova, E.Y. Chernysh*

Intracranial pressure waveforms give clinically important information about the state of the brain under normal and pathological conditions. There are already some recognized waveforms that serve to predict the development of brain edema and hypoxia. In the present research there was developed a mathematical model describing fluid exchange between blood and brain parenchyma, where the shape of intracranial pressure waveforms is taken into account. According to this model the integral direction of the flow is obtained as vector sum of systolic and diastolic flows in accordance with the corresponding phases of the intracranial pressure waveform. The model predicts in what conditions there may develop brain edema and hypoxia.

УДК [616.832:616.62-008.22]-07

**Метод диагностики уровня поражения спинного мозга, сопровождающегося нарушением функции мочеиспускания**

*С.А. Лихачев, А.В. Астапенко, Г.В. Заброец*

**Рубрика: 76.29.51**

*Источник финансирования:* госбюджет.

Иннервация нижних мочевых путей обеспечива-

ется взаимодействием трех отделов нервной системы, расположенных вдоль всего длинника церебрально-спинальной оси. Повреждение центров иннервации, а также связей между ними обеспечивает формирование того или иного варианта нейрогенной дисфункции нижних мочевых путей.

*Цель* — разработка метода диагностики уровня поражения спинного мозга, сопровождающегося нарушением функции мочеиспускания. Наиболее близким методом диагностики уровня поражения спинного мозга является метод клинической оценки жалоб и анамнеза заболевания в комплексе с данными неврологического осмотра и результатами нейровизуализации. В ряде случаев неврологическая симптоматика, определяемая при неврологическом осмотре, является недостаточной для достижения поставленных целей. Данная ситуация может отмечаться при клинике спинального шока, а также при многоочаговом спинальном поражении или в том случае, если основным симптомом является нарушение функции тазовых органов при минимальных сенсорных и двигательных нарушениях в конечностях. Также может отмечаться неполное соответствие уровня поражения, определяемого на основе данных неврологического осмотра, результатов нейровизуализации и характера нарушения функции мочеиспускания. Это объясняется тем, что нервные структуры, тестируемые при неврологическом осмотре, и структуры, обеспечивающие иннервацию нижних мочевых путей, различаются.

*Сущность метода:* проводят комплексное уродинамическое исследование функции детрузора и сфинктерного аппарата мочевого пузыря в фазу наполнения, мануальное тестирование силы и рефлекторности мышц тазового дна, а также ультразвуковое сканирование мочевого пузыря с оценкой его емкости. Диагностируют цереброспинальный надкрестцовый уровень поражения при выявлении произвольных сокращений детрузора или спинальный надкрестцовый уровень поражения при выявлении детрузорно-сфинктерной диссинергии, спастичности наружного уретрального сфинктера и мышц тазового дна, или поражение рефлекторной дуги, замыкающейся на уровне крестцовых сегментов, при увеличении емкости мочевого пузыря, отсутствии произвольных сокращений детрузора и низком внутривезикулярном давлении в фазу наполнения мочевого пузыря и нормальной или сниженной рефлекторности и силе мышц тазового дна.

Метод реализуют следующим образом. Уточняются симптомы и признаки расстройств мочеиспускания на основе «Стандартизации терминологии функции нижних мочевых путей» (Abrams P. et al., 2002). Ультразвуковое исследование трансабдоминальным доступом проводится на протяжении 2–3 дней 2–3 раза в день в период заполнения пациентом дневника мочеиспусканий. При этом оценивается форма и емкость мочевого пузыря при возникновении позыва на мочеиспускание, а также остаточная моча. При этом важно достижение нормализации общеклинических анализов крови и мочи, отсутствие конкрементов мочевого пузы-

ря и иной значимой урологической патологии, которая может вызывать данные нарушения. При неврологическом осмотре обязательно исследуется болевая чувствительность в аногенитальной зоне, бульбокавернозные и кремастерные рефлексы у мужчин. Дополнительно при этом оценивается чувствительность, сила и рефлекторность мышц тазового дна в положении лежа на боку лицом к врачу. Уродинамическое исследование включает ретроградную цистометрию наполнения, урофлоуметрию (при возможности). Профилометрия уретры выполняется только при наличии остаточной мочи для исключения или подтверждения спастичности наружного уретрального сфинктера. Затем проводится комплексная оценка данных, анамнеза, жалоб, неврологического и нейроурологического статуса, результатов нейровизуализации, уродинамического и ультразвукового исследований.

Технический результат метода заключается в улучшении интерпретации жалоб пациента, формировании комплекса наиболее эффективных для решения поставленной задачи диагностических методов, дополнительно включающих уродинамические и ультразвуковые методы исследования. Определение уровня поражения спинного мозга относительно крестцовых сегментов способствует формированию комплексного лечения с учетом топике поражения, уточнению прогноза исхода заболевания, решению экспертных вопросов.

Эффективность метода подтверждена результатами обследования 69 пациентов с патологией спинного мозга. Описательные данные представлены в виде медианы и 25–75%. Возраст составил 41,1 (23; 67) года, давность патологии — 11 (4; 18) недель. Травматический генез патологии отмечался в 29 случаях (42%). Соотношение мужчины/женщины составило 17/52. При этом 28 спинальных пациентов находилось в раннем восстановительном периоде с отсутствием ахилловых сухожильно-периостальных рефлексов и патологических стопных знаков на протяжении всего периода нахождения в стационаре. Случаи локализации патологического очага (травма, компрессионный синдром) на уровне ниже L1 позвонка не включались в исследование. Несмотря на признаки вялого нижнего парапареза, указывающего на поражение пояснично-крестцовых отделов спинного мозга, рефлекторность мышц тазового дна и произвольные сокращения детрузора были выявлены в 68 и 36% случаев соответственно, что позволяло локализовать нижнюю границу распространения патологической зоны поражения спинного мозга, а также указывало на первичное восстановление функции наиболее дистальных крестцовых сегментов в период регресса явлений спинального шока.

Чувствительность выявления произвольных сокращений детрузора с помощью ретроградной цистометрии наполнения была изучена на основе обследования 29 пациентов с уточненным надкрестцовым уровнем патологии. Случаи с предполагаемым смешанным поражением исключались. В результате наблюдения пациентов в течение 34 (22; 41) дней уретральное мочеиспускание восстановилось в 11 случаях, при этом

непроизвольные сокращения детрузора отмечались в 10 из 11 случаев при ретроградной цистометрии наполнения. Единственный ложноотрицательный результат объяснялся торможением непроизвольных сокращений детрузора за счет выраженной спастичности в нижних конечностях и мышцах тазового дна.

Результаты обследования 12 пациентов с локализацией патологии ниже L1 позвонка (травмы, компрессионные синдромы) послужили доказательством отсутствия ложноположительных результатов цистометрии в данных случаях. Непроизвольных сокращений детрузора ни в одном случае зафиксировано не было, что подтверждает высокую специфичность теста.

*Вид патентной защиты:* № а 20101642 от 19.09.2013; патентообладатель — ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии».

*Область применения:* неврология.

*Рекомендации по использованию:* метод может применяться для диагностики и экспертной оценки заболеваний спинного мозга.

### **Method for diagnostics of the level of spinal cord pathology, associated with neurogenic lower urinary tract dysfunction**

*S.A. Likhachev, A.V. Astapenko, G.V. Zabrodzets*

There were carried out: complex urodynamics; manual testing of reflex and strength of the pelvic floor; ultrasound of the bladder with estimation of bladder capacity; diagnostics of the upper motor neuron syndrome for identification of involuntary contractions of the detrusor, orsuprasacral spinal lesions in the detection of detrusor-sphincter dyssynergia; spasticity of the external urethral sphincter and pelvic floor muscles, or lower motor neuron syndrome. There was the increase of bladder capacity, the lack of involuntary contractions of the detrusor, low detrusor pressure in the filling phase, and normal or reduced reflex and strength of the pelvic floor.

Technical result of the invention is improvement of interpretation of patients' complaints, formation of the most effective diagnostic techniques, including urodynamics and ultrasound methods.

*Field of application:* neurology.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ, ИНФОРМАТИЗАЦИИ, УПРАВЛЕНИЯ И ЭКОНОМИКИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

УДК 614.2.331.108](476)

### Штатное нормирование организаций здравоохранения

*И.В. Малахова, И.И. Новик, А.И. Русенчик,  
Н.М. Трофимов, Т.В. Ясюля, В.М. Хавратович*

**Рубрика: 76.75.75**

*НИИР:* «Разработать научно обоснованные предложения по совершенствованию штатного нормирования организаций здравоохранения (нормативов кадрового обеспечения по республике в целом и по регионам)».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. И.В. Малахова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — совершенствование кадрового обеспечения государственных организаций здравоохранения Республики Беларусь.

Постарение населения, распространение неинфекционных заболеваний, существенно изменивших характер патологии и тяжесть течения заболеваний, стремительное развитие медицинской науки и новых технологий выдвигают задачи по обновлению существующей нормативной базы и разработке современных методических подходов к планированию численности медицинского персонала организаций здравоохранения.

Эффективность здравоохранения во многом зависит от структуры и правильной расстановки кадровых ресурсов. В этой связи одним из приоритетов сферы здравоохранения является оптимизация кадровых ресурсов, являющихся базовой основой целостности проводимых преобразований в здравоохранении.

В ходе исследования проведен анализ действующих штатных нормативов обеспечения врачебными должностями стационарных отделений областных, ряда городских и центральных районных больниц по объемам медицинской помощи, оказываемой населению данными организациями.

Для совершенствования штатной численности медицинских работников организаций здравоохранения и на основании анализа разработан проект нормативов кадрового обеспечения штатными врачебными должностями государственных организаций здравоохранения в целом по республике и регионам. При этом учтены трудоемкость выполняемых работ, потребности населения обслуживаемых регионов и экономическая эффективность оказываемой медицинской помощи. Кроме того, учтены штатные должности медицинских работников присоединившихся организаций здравоохранения Белорусской железной дороги и учреждений образования системы Министерства образования.

В нормативы не включены штатные должности врачей-специалистов медико-диагностического профи-

ля, которые рассчитываются, исходя из объемов оказываемой медицинской помощи, а не из численности населения.

Увеличены нормы годовой нагрузки для расчета должностей врачей-специалистов и средних медицинских работников по четырем специальностям медико-диагностического профиля. Данное изменение связано с модернизацией материально-технической базы служб.

Увеличены нормативы кадрового обеспечения терапевтами и педиатрами в связи с приоритетным развитием амбулаторно-поликлинического звена и значительной нагрузкой на данных специалистов.

Уменьшен норматив по врачам-стоматологам, который был завышен.

В ходе анализа выявлено неполное соответствие организационно-функциональной структуры кардиологических и неврологических отделений больничных организаций здравоохранения сложившимся в регионе условиям оказания медицинской помощи и особенностям обслуживаемого контингента. Внесены изменения по расчету штатных должностей данных врачей-специалистов с учетом объемов и тяжести состояния пациентов.

Предложено расширение практики организации палат интенсивной терапии в кардиологических и неврологических отделениях во всех крупных ЦРБ и городских больничных организациях здравоохранения, что позволит снизить летальность от болезней системы кровообращения в стационаре, и тем самым, воздействовать на показатель общей смертности в регионе и ее структуру.

По результатам анализа деятельности врачей-специалистов хирургического профиля предложен метод расчета штатных должностей хирургов исходя из хирургической активности, оборота и средней занятости койки. Данный расчет позволяет оптимизировать соотношение штатных должностей с объемами выполняемых работ и повысить эффективность использования профильного коечного фонда.

Предложенные изменения расчета штатных нормативов медицинских работников позволяют более точно оценивать организационно-штатный потенциал учреждения здравоохранения, определять резервы для более эффективного их использования, пути улучшения организации труда и его оплаты, а также совершенствования социально-трудовых отношений в коллективе.

*Область применения:* организация и управление здравоохранением.

*Рекомендации по использованию:* материалы исследования использованы при подготовке примерных штатных нормативов медицинских и других работников поликлиник (поликлинических отделений), медицинских и других работников областных, центральных, центральных городских и районных, городских, район-

ных и участковых больниц.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная и методическая помощь при составлении штатного расписания организациям здравоохранения системы Министерства здравоохранения Республики Беларусь, финансируемым из бюджета.

#### **Staff standardization of health care institutions**

*I.V. Malakhova, I.I. Novik, A.I. Rusenichik, N.M. Trofimov,  
T.V. Yasulya, V.M. Khavratovich*

One of the priorities for further development of health care is to optimize human resources.

In order to improve health professionals staffing throughout the country there were developed the draft staffing standards for regular physicians at the state health care institutions, based on the intensity of work, the needs of the population, and cost-effectiveness of medical care.

The offered changes in estimating of staffing standards for health professionals let evaluate the organizational and human resources potential of health care institutions and to determine human resources for their effective use.

*Field of application:* health care organizations and management.

*Offers for cooperation:* consultative and methodical assistance.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «КАРДИОЛОГИЯ»

УДК 616.127-005.8-036.11-089-085.851.83

**Обоснование выбора метода физических тренировок у пациентов с острым инфарктом миокарда после проведения чрескожных коронарных вмешательств***О.А. Суджаева, С.Г. Суджаева, Т.С. Губич, Н.А. Казаева***Рубрики: 76.29.30; 76.29.39**

*Тема НИР:* «Разработать и внедрить дифференцированную программу физической реабилитации пациентов с инфарктом миокарда после операции чрескожного коронарного вмешательства и оценить ее эффективность».

*Сроки выполнения НИР:* 01.01.2011 — 31.12.2015.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.Г. Суджаева.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать научно обоснованную методику физических тренировок (ФТ) у пациентов с острым инфарктом миокарда (ИМ) после чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ).

В основе разрабатываемой методики предложенный В.М. Альхимовичем (1986) лежит способ ранних ФТ на велоэргометре пациентов с инфарктом миокарда, а также программа ФТ с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) после чрескожных коронарных вмешательств (Н.А. Казаева и соавт., 2003).

Нами разработан и предлагается к использованию в практическом здравоохранении принципиально новый метод ФТ на велоэргометре пациентов с ИМ после ЧКВ с учетом индивидуальной толерантности к физической нагрузке (ТФН) и аэробной физической работоспособности (ФРС). Предлагаемый метод позволяет осуществлять ФТ с учетом функциональных возможностей пациента и в аэробном режиме.

Применение разработанного метода способствует сохранению достигнутой в результате ЧКВ эффективности коронарного кровотока, ликвидирует гиподинамию, повышает физическую тренированность скелетной мускулатуры, уменьшает или нивелирует факторы риска прогрессирования ИБС.

Аэробная ФРС оценивается при спировелоэргометрической пробе (спироВЭП) путем определения количества кислорода и углекислого газа во вдыхаемом и выдыхаемом воздухе в процессе выполнения теста с физической нагрузкой. При спироВЭП определяется анаэробный порог (АТ), который является общепринятым объективным показателем функциональных возможностей как здоровых лиц, так и пациентов с заболеваниями сердца. При АТ количество потребляемого кислорода и выделяемого углекислого газа сравниваются, при дальнейшем повышении нагрузки метаболические процессы осуществляются в анаэробном диапазоне. Для обеспечения аэробной направленности ФТ тренирующая не должна превышать мощность нагруз-

ки при достижении анаэробного порога ( $W_{AT}$ ).

Суть разработанного метода ФТ состоит в следующем. У пациента с ИМ на 7–10-е сут после ЧКВ проводят диагностическую велоэргометрическую пробу (ВЭП), при которой определяют пороговую мощность нагрузки (при прекращении ВЭП в связи с ишемией миокарда) или максимально достигнутой мощностью нагрузки (при прекращении ВЭП в отсутствие ишемии миокарда). Затем исследуют состояние пациента по 10 факторам, установленным в настоящем исследовании, которые влияют на проведение мероприятий физической реабилитации (ФР). К таким факторам относятся класс тяжести ИМ, осложнения процедуры ЧКВ, функциональное состояние системы кровообращения по данным инструментальных методов обследования. Каждый фактор оценивают в баллах и суммируют их. При значении суммы от 0 до 12 баллов определяют **I реабилитационный класс (РК I) — наименее тяжелый**, 13–24 балла — **РК II**, 25–36 баллов — **РК III (наиболее тяжелый)**. При РК I контролируемые ФТ начинают не ранее 8 сут, при РК II — не ранее 9–10-х сут, при РК III — не ранее 11-х сут после ЧКВ. Начальная тренирующая мощность составляет 50% от пороговой мощности нагрузки (выявление ишемии при ВЭП) или максимально достигнутой мощности нагрузки (при прекращении теста в отсутствие ишемии миокарда). В процессе настоящего исследования установлено, что при хорошей переносимости ФТ тренирующую мощность следует увеличивать на 10 Вт через 1 занятие вплоть до достижения уровня 88% пороговой мощности нагрузки (выявление ишемии при ВЭП) или 78% от максимально достигнутой мощности (при прекращении теста в отсутствие ишемии миокарда). При плохой переносимости ФТ тренирующая мощность снижается на 10 Вт и на следующем занятии она не увеличивается. Нами установлено, что при плохой переносимости ФТ в течение 1 недели целесообразно проведение спироВЭП для выявления аэробной ФРС ( $AT$ ,  $W_{AT}$ ) для обеспечения аэробной направленности ФТ. Начальная тренирующая мощность должна составлять 50% от  $W_{AT}$ , при хорошей переносимости она увеличивается через 1 занятие на 10 Вт вплоть до достижения 100% от  $W_{AT}$ . Физические тренировки проводятся 3 раза в неделю, общая продолжительность контролируемого медперсоналом курса ФТ не менее 12 недель (т. е. 36 контролируемых ФТ): стационарный этап — 1–3 тренировки (1 неделя), стационарное отделение реабилитации — 10 тренировок (3 недели), амбулаторный этап — 24 ФТ (8 недель). В период с 01.01.2011 по 30.10.2013 гг. ФТ на велоэргометре прошли 35 пациентов с ИМ после выполнения ЧКВ. Переносимость курса ФТ была хорошей. В результате проведенного курса интенсивных индивидуализированных аэробных ФТ через 3 мес. отмечался существенный рост ТФН и аэробной ФРС. Максимально достигнутая мощность нагрузки ( $117,2 \pm 5,8$  Вт) стала выше, чем исходная —  $85,7 \pm 3,7$  Вт ( $p < 0,05$ ) и выше, чем при отсутствии интенсивной ФР —  $88,4 \pm 4,8$

Вт ( $p < 0,05$ ). Пиковое потребление кислорода ( $VO_{2max}$ ) возросло от  $15,4 \pm 0,7$  исходно до  $17,4 \pm 0,9$  мл/кг/мин — после курса ФТ ( $p < 0,05$ ), что является прогностически благоприятным фактором. В группе пациентов без интенсивной ФР  $VO_{2max}$  составило  $14,5 \pm 0,8$  мл/кг/мин, т.е. было существенно ниже, чем в группе получавших ФТ ( $p < 0,05$ ), что является прогностически неблагоприятным фактором. Выявленный после курса ФТ рост ТФН сопровождался тенденцией к уменьшению числа лиц с ишемией миокарда при спироВЭП от 48% исходно до 28% — после курса ФТ ( $p > 0,05$ ). Достигнутые результаты сохранялись в течение как минимум 1 года после ИМ и ЧКВ.

*Область применения:* кардиохирургические, кардиологические, реабилитационные отделения учреждений здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.

#### **Justification of the choice of physical training in patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary interventions**

*O.A. Sudzhaeva, S.G. Sudzhayeva, T.S. Gubitch, N.A. Kazaeva*

We developed the method of early intensive physical bicycle training in patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary interventions, based on the selection of training capacity of load, depending on individual tolerance to physical activity and aerobic physical performance identified in the spiroergometry bicycle test. This method is original, it doesn't have analogues in literature. The developed method increases tolerance to physical activity and aerobic capacity of all patients, which preserves effective coronary blood flow, restored after percutaneous coronary interventions. It improves medical and social effectiveness of interventional treatment of myocardial infarction.

*Field of application:* cardiosurgery, cardiology, rehabilitation departments.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 616.127-005.8-089:616.1242]-085.851.83

#### **Влияние дифференцированной программы физической реабилитации пациентов с инфарктом миокарда после чрескожного коронарного вмешательства на структурные и функциональные показатели левого желудочка**

*Н.А. Казаева, С.Г. Суджаева, Т.С. Губич, О.А. Суджаева*

**Рубрики:** 76.29.30; 76.29.39

*НИР:* «Разработать и внедрить дифференцированную программу физической реабилитации пациентов с инфарктом миокарда после операции чрескожного коронарного вмешательства и оценить ее эффектив-

ность».

*Сроки выполнения НИР:* 01.01.2011 — 31.12.2015.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.Г. Суджаева.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучить динамику структурно-функциональных показателей левого желудочка (ЛЖ) по данным трансторакальной эхокардиографии (ТТ ЭхоКГ) в течение года у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) при использовании дифференцированной программы физической реабилитации (ФР).

*Сущность достижения:* использование 12-недельного курса велотренировок (ВТ), назначаемых дифференцированно во времени после ЧКВ, начиная с 8–17-х сут ИМ, индивидуализированно с учетом порогового уровня нагрузки, достигнутого при диагностическом нагрузочном тестировании, снижает риск ремоделирования миокарда в течение первых 3 мес., а также способствует улучшению диастолической функции и локальной сократимости миокарда ЛЖ через 1 год после перенесенного заболевания. Наиболее эффективны реабилитационные мероприятия у пациентов с локализацией ИМ в переднеперегородочной области ЛЖ при отсутствии дилатации полости ЛЖ и выполнении ЧКВ в срок до 4 ч от начала болевого синдрома.

Обследовано 69 пациентов с ИМ, которым было выполнено первичное ЧКВ. У 34 пациентов применялся 12-недельный курс велотренировок; они составили основную группу (ОГ), 35 человек с традиционной ФР — группу сравнения (КГ). ТТ ЭхоКГ выполнялась на 7–12-е сут, через 3 и 12 мес. после ЧКВ (1, 2 и 3 обследования соответственно).

При 1 обследовании выявлено, что в обеих группах средние значения основных показателей достоверно не различались (табл.).

Через 3 мес. обследован 31 пациент КГ и 30 пациентов ОГ. У 12 (38,7%) пациентов из 31 в КГ отмечались признаки ремоделирования миокарда ЛЖ (увеличение показателей КДД и КДО в сравнении с 1 обследованием). В ОГ, напротив, у 8 (26,7%) из 30 пациентов было выявлено уменьшение значений КДО и КСО при сохранении нормальных показателей УО и ФВ, т.е. имело место обратное ремоделирование миокарда ЛЖ. Было изучено влияние различных факторов на развитие обратного ремоделирования миокарда ЛЖ. У 7 (87,5%) из 8 пациентов время от начала развития болевого синдрома до окончания процедуры ЧКВ составило  $199,3 \pm 56,2$  мин, т.е. было менее 4 ч. У 6 (75%) из 8 пациентов выполнена полная реваскуляризация миокарда. У 6 (75%) из 8 человек зона повреждения локализовалась в переднеперегородочной области ЛЖ. Индекс локальной сократимости при 1 обследовании в данной подгруппе составил  $1,23 \pm 0,04$ , т.е. был достоверно ниже средних значений по группам. У всех 8 пациентов данной подгруппы при 1 обследовании выявлена концентрическая гипертрофия миокарда ЛЖ, при этом размеры ЛЖ (КДД и КДО) не превышали нормальные.

Через 1 год после ИМ обследовано 29 пациентов

Таблица

## Основные эхокардиографические показатели у пациентов с ИМ в течение первого года после ЧКВ

Показатель	Группа	I тест	II тест	III тест
КДО, мл	КГ	145,9±4,94	151,3±5,31	148,0±6,45
	ОГ	146,6±4,25	147,3±5,20	146,4±8,10
КСО, мл	КГ	56,6±3,23	58,7±3,70	59,4±4,17
	ОГ	58,6±2,68	57,2±3,24	54,2±3,80
УО, мл	КГ	89,2±2,81	92,5±3,06	88,5±3,37
	ОГ	88,1±2,29	89,8±2,84	92,2±4,90
НДФЛЖ, абс., %	КГ	12 (34,3%), n=35	18 (58%), n=31	20 (69%)*, n=29
	ОГ	14 (41,2%), n=34	10 (33,3%), n=30	6 (27,3%), n=22
ИЛСЛЖ	КГ	1,45±0,04, n=35	1,37±0,04, n=31	1,4±0,01, n=29
	ОГ	1,4±0,01, n=34	1,35±0,04, n=30	1,3±0,03*, n=22

*Примечания:*

1. КДО — конечный диастолический объем ЛЖ.
2. КСО — конечный систолический объем ЛЖ.
3. НДФЛЖ — нарушение диастолической функции миокарда ЛЖ.
4. ИЛСЛЖ — индекс локальной сократимости миокарда ЛЖ.
5. \* — достоверность различия показателя в сравнении с I обследованием,  $p < 0,05$ .

КГ и 22 пациента ОГ. Было установлено, что среди пациентов КГ достоверно увеличилось число лиц с нарушением диастолической функции миокарда ЛЖ — с 34,3% при 1 обследовании до 69% при 2 соответственно ( $p < 0,05$ ). В ОГ, напротив, число пациентов с нарушением диастолической функции ЛЖ уменьшилось с 41,2% при 1 обследовании до 27,3% при 2 соответственно. Более того, в ОГ в среднем по группе достоверно уменьшился индекс локальной сократимости миокарда ЛЖ с  $1,4 \pm 0,01$  при 1 обследовании до  $1,3 \pm 0,03$  при 2 ( $p < 0,05$ ).

*Область применения:* кардиология, хирургия.

*Рекомендации по использованию:* кардиохирургические, кардиологические, реабилитационные отделения учреждений здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по указанной тематике.

**The effect of differentiated physical rehabilitation program on structural and functional parameters of the left ventricle in patients with myocardial infarction after percutaneous coronary intervention**

*N.A. Kazaeva, O.A. Sudzhaeva, T.S. Gubich,  
V.A. Sudzhaeva*

A 12-week bicycle training course administered in a differentiated manner after percutaneous coronary intervention beginning from 8–17 days after myocardial infarction, based on the threshold load reached in diagnostic load test, reduces the risk of myocardial remodeling during the first 3 months, and promotes better diastolic function and left ventricular local myocardial contractility during the 1<sup>st</sup> year after the disease. Rehabilitation activities are the most effective in patients with anteroseptal myocardial infarction in the absence of cavity dilation, and if percutaneous coronary intervention was performed not later than 4 hours from the onset of pain syndrome.

*Field of application:* cardiosurgical, cardiological, rehabilitation departments.

*Offers for cooperation:* joint research.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ

УДК 616.9-097-06-074/078

### Активность фермента аденозиндезаминаза у пациентов с инфекционными заболеваниями

О.О. Янович, Л.П. Титов

#### Рубрика: 76.03.43

**НИР:** «Разработать тест-систему для биохимического определения аденозиндезаминазы и алгоритм лабораторной диагностики иммунозависимых случаев тяжелых форм течения инфекционных заболеваний».

**Сроки выполнения НИР:** январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси Л.П. Титов.

**Источник финансирования:** госбюджет.

Фермент аденозиндезаминаза находится в цитоплазме клеток всех тканей млекопитающих. Он участвует в катаболизме пуриновых нуклеозидов и катализирует превращение аденозина в инозин, а дезоксиаденозина в дезоксиинозин. Это превращение является начальным этапом в серии реакций отвечающих за пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов.

Определение активности аденозиндезаминазы может широко использоваться в клинической диагностике.

Активность аденозиндезаминазы определяли в плазме крови, лизатах эритроцитов и лизатах мононуклеарных клеток периферической крови (табл.).

Таблица

Активность аденозиндезаминазы в биологических образцах

Группа	Плазма, Ед/л	Эритроциты, Ед/л	Мононуклеары, Ед/л
Сравнения (n=42)	10,4±0,6	11,9±0,9	3,5±0,4
Инфекционный мононуклеоз (n=27)	57,9±5,5*	35,7±6,1*	4,9±1,0
Туберкулез легких (n=35)	19,2±3,3*	51,8±6,0*	6,4±0,7*
Туберкулезный плеврит (n=10)	18,2±2,5*	39,3±7,2*	3,6±0,6
Другие инфекционные заболевания (n=23)	10,5±1,1	31,6±2,3*	3,7±0,8

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

Установлено, что в плазме крови у пациентов с инфекционным мононуклеозом, туберкулезом легких и

туберкулезным плевритом наблюдается достоверное увеличение активности АДА в плазме крови. Наибольшая активность фермента выявлена у пациентов с инфекционным мононуклеозом — в 5 раз выше значения в группе сравнения.

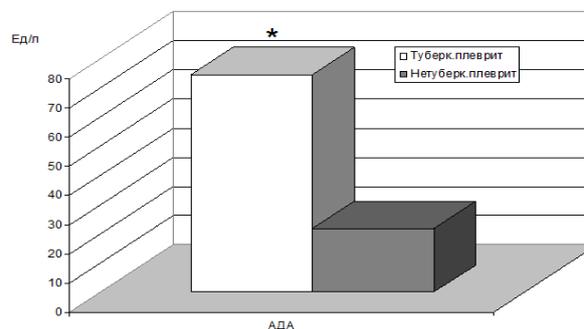
Уровни фермента у пациентов с туберкулезом и туберкулезным плевритом были сходными (19,2±3,3 и 18,2±2,5 Ед/л соответственно).

У пациентов с другими инфекционными заболеваниями (менингит, грипп, боррелиоз) уровень аденозиндезаминазы в плазме крови не отличался от группы сравнения.

В лизатах эритроцитов наблюдается достоверное увеличение активности аденозиндезаминазы во всех изученных группах, при этом наибольший подъем активности выявлен у пациентов с туберкулезом (51,8±6,0 Ед/л).

Определение уровня аденозиндезаминазы в лизатах мононуклеаров периферической крови показало достоверное увеличение показателя только у пациентов с туберкулезом (6,4±0,8 Ед/л).

Было проведено обследование 21 образца плевральной жидкости полученной от пациентов с плевритами различного происхождения (рисунок).



**Рис.** Активность аденозиндезаминазы в плевральной жидкости у пациентов с плевритом различной этиологии: \* — достоверно при сравнении с группой пациентов с нетуберкулезным плевритом, p<0,05

Установлено, что в группе пациентов с туберкулезным плевритом активности аденозиндезаминазы в плевральной жидкости достоверно выше по сравнению с группой пациентов с плевритом нетуберкулезной этиологии.

Полученные данные свидетельствуют о возможности определения активности аденозиндезаминазы для диагностики инфекционного мононуклеоза (плазма крови) и туберкулезного плеврита (плевральная жидкость). В рамках проекта разработана тест-система для определения активности АДА в биологических образцах (сыворотка крови, плазма крови, лизаты эритроцитов, лизаты лимфоцитов, спинномозговая жидкость, плевральная жидкость) биохимическим методом. Разработанная тест-система является быстрой в использовании и не требует сложного оборудования. Тест-

система может быть использована в различных учреждениях здравоохранения.

**Область применения:** клиническая лабораторная диагностика.

**Рекомендации по использованию:** разработанная тест-система может быть использована для дифференциальной диагностики инфекционных заболеваний.

**Предложения по сотрудничеству:** совместные исследования по данной проблеме, консультативная помощь при внедрении.

### Adenosine deaminase activity in patients with infectious diseases

O.O. Yanovich, L.P. Titov

Adenosine deaminase (ADA) is an important enzyme for immunoinflammatory responses. It serves as a marker of activated leukocytes. The aim of this study was the determination of the ADA activity in patients with infectious diseases. The patients with infectious mononucleosis, tuberculosis and tuberculosis pleural effusion had significantly higher levels of ADA in plasma than healthy controls ( $p < 0.05$ ). The difference between other infectious diseases (meningitis, influenza) and the control group was not statistically significant. Pleural fluid ADA levels were significantly higher in tuberculosis pleural effusion in comparison with non-tuberculosis group. Our results demonstrate that ADA level determination may be efficient for diagnostics of infectious mononucleosis (plasma level) and tuberculosis pleural effusion (pleural fluid level). We developed a biochemical set for determination of adenosine deaminase activity in biological fluids.

УДК 616.72-002.77:[616.98:579.882]-07/08

### Детекция возбудителей и выделение штамма *Ch. trachomatis* из воспалительного экссудата коленного сустава при ревматоидном артрите, ассоциированном с хламидийной инфекцией

Н.Н. Полещук, Л.В. Рубаник,

Д.А. Дейкун, А.Н. Асташинок, О.Р. Князева,

Н.Ф. Сорока, Т.М. Талако

**Рубрики:** 76.03.41; 76.03.43; 76.29.31

**НИИР:** «Разработать и внедрить в клиническую практику методы диагностики и лечения ревматоидного артрита, ассоциированного с хламидийной инфекцией».

**Сроки выполнения НИИР:** 01.04.2011 — 31.12.2013.

**Научные руководители:** д-р мед. наук, проф. Н.Ф. Сорока, д-р мед. наук, проф. Н.Н. Полещук.

**Организация-соисполнитель:** УО «Белорусский государственный медицинский университет».

**Источник финансирования:** госбюджет.

Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое полисистемное аутоиммунное заболевание с малоизученным этиопатогенезом, часто характеризующееся проявлением эрозивно-деструктивного полиартрита. Этапность и многие механизмы патогенеза РА с формированием локальных очагов воспаления до

настоящего времени остаются во многом не выясненным. В литературе широко обсуждается роль ряда инфекционных агентов, претендующих на роль одного из этиологических факторов РА: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Borrelia burgdorferi*, микоплазмы, вирус Эпштейн–Барра, ретровирусы (в т. ч. Т-лимфотропный вирус типа I человека), вирусы краснухи, вирусы герпесвирусы первого, второго, шестого и восьмого типов, парвовирус B19, цитомегаловирус, вирусы гепатита В и С и другие.

**Цель** — установить причины формирования очага воспаления в коленных суставах и определить наличие антител и антигенов в синовиальной жидкости пациентов при ревматоидном артрите, ассоциированном с хламидийной инфекцией.

Исследован гиперсекрет синовиальной жидкости (СЖ) коленного сустава 30 пациентов с ревматоидным артритом с помощью ПЦР, ИФА, МФА, культурально-го метода и электронной микроскопии.

Культуральный метод позволяет накопить возбудитель в количествах, детектируемых стандартными диагностическими подходами. В культуре клеток можно выделить как вирусы, так и бактерии (микоплазмы, боррелии, хламидии и т. д.). Проведенное нами исследование показало, что в 19 из 30 (63,3%) проб в культуре клеток выделялась *Ch. trachomatis*: отмечалось характерное для возбудителя цитопатическое действие и специфическое свечение антигенов при обработке мечеными флуоресцеинизоцианатом антителами. Следует отметить низкую репродуктивную активность большинства выделенных изолятов *Ch. trachomatis* (титр  $\leq 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>). Хламидии с такой репродуктивной активностью не удавалось длительно пассировать в субпассажах. Однако один штамм из суставной жидкости размножился с формированием специфических включений Гальбершедтера–Провачека в 40–60% клеток McCooy. Филогенетический анализ показал, что он соответствует серовару В и имеет 100% гомологии с последовательностью *ompA* гена стандартного штамма *Ch. trachomatis* В-Нар/36. Штамм *Ch. trachomatis* СТ-1072/Минск/4/2012 депонирован в Специализированную коллекцию вирусов и бактерий, патогенных для человека (№ депонента В-05/2012 от 10.10.2012).

На следующем этапе проведен молекулярно-генетический анализ, который позволяет, как известно, обнаружить специфические фрагменты ДНК практически всех патогенных для человека микроорганизмов. Результаты ПЦР исследования показали: ДНК *Ch. trachomatis* в диагностическом титре  $10^3$ – $10^5$  ГЭ/мл была обнаружена в 3 из 30 (10,0%) случаях, ДНК *Borrelia burgdorferi* в 18 из 30 (60,0%) образцах, ДНК *Epstein-Barr virus* обнаружена в 8 из 30 (26,7%) случаях, ДНК *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus 1 и 2 types* и *Parvovirus B19* были обнаружены в разных образцах с равной частотой встречаемости в 1 из 30 (3,3%) случаях. Моноинфекция установлена в 20 случаях из 30 (66,6%). Сочетанная инфекция выявлена в 5 образцах СЖ из 30 (16,6%), в каждом из них обнаружены различные комбинации НК патогенов. В остальных 5 из 30 (16,7%) пробах НК исследуемых возбудителей не выявлялась. В осталь-

ных 5 из 30 (16,7%) пробах НК исследуемых возбудителей не выявлялась.

Для установления развития специфического локального гуморального иммунного ответа на выявленные микроорганизмы использовали иммуноферментный анализ (ИФА) и метод флуоресцирующих антител (МФА). Методом флуоресцирующих антител в 11 из 30 (36,7%) исследуемых СЖ были обнаружены антитела к спирохете *B. burgdorferi* в титрах 1:64–1:512. Антитела в титре 1:32, расцениваемые как сомнительные, обнаружены в 7 из 30 (23,3%) случаях. В 5 из 30 (16,7%) случаях регистрировалась одновременное наличие антител как к *Ch. trachomatis*, так и к *B. burgdorferi*.

Методом ИФА в синовиальной жидкости 1 из 30 (3,3%) пациентов выявлены IgM к *Ch. trachomatis*, с аналогичной частотой (3,3%) уровень антител IgM находился в серой зоне (сомнительный результат). IgA обнаружены в 2 из 30 случаев (6,6%) в титре 1:5 (слабоположительный результат). IgG к МOMP *Ch. trachomatis* обнаружены в 6 из 30 (20,0%) образцов в титрах от 1:5 (слабоположительный) до 1:160 (сильноположительный). IgG к МOMP и плазмидному белку pgp3 *Ch. trachomatis* выявлены в 6 из 28 (21,4%) образцах СЖ, сомнительный результат получен в 1 из 28 (3,6%) случаев. Частота выявления IgG к белку теплового шока (сHSP60) хламидий в СЖ составила 2 из 27 (7,4%), в 1 из 27 (3,7%) был получен сомнительный результат. Иммуноглобулины класса М к *Ch. pneumoniae* не были выявлены ни в одном из исследуемых образцов. IgG обнаружены в 4 из 28 (14,3%) СЖ в титре 1:20, в 2 из 28 (7,1%) уровень антител находился в серой зоне.

Таким образом, у части пациентов выявлена продукция специфических антител локально в очаге воспаления (выпоте коленного сустава) к различным возбудителям (*Ch. trachomatis* и др.), что может являться патогенетически значимым маркером для назначения этиотропной терапии.

И, наконец, для детализации и возможного выявления возбудителей в низких титрах, а также идентификации патогенов, относящихся к другим семействам, применяли электронную микроскопию. Проведенное электронно-микроскопическое исследование культуры клеток McCoу, зараженных материалом (синовиальной жидкостью) пациентов, позволило выявить различные бактериальные и вирусные агенты: *Mycoplasma spp.*, *Borrelia spp.*, *Micrococcaceae*, представители семейства *Herpesviridae*, *Ch. trachomatis*.

Таким образом, в результате проведенной работы показано видовое многообразие микроорганизмов, которые, вероятно, напрямую участвуют в локальном формировании иммунологически опосредованного деструктивно-воспалительного очага с преимущественным повреждением синовиальной ткани. Полученные данные, на наш взгляд, могут быть использованы при выборе тактики этиотропной терапии: противовирусной и антибактериальной. Низкая концентрация возбудителей в суставной жидкости и подлежащей ткани диктует необходимость применения не только раз-

личных способов их накопления (жидкие питательные среды, перевиваемые культуры клеток), но и разработки методических подходов к одновременной идентификации возбудителей, относящихся к разным таксономическим группам. В этом аспекте перспективно использовать современные высокочувствительные способы детекции на основе нанотехнологических подходов в сочетании с электронной микроскопией.

Выявленная нами относительно высокая частота обнаружения антител к *Ch. trachomatis* указывает на доминирующую роль этого патогена в формировании воспаления. Все эти факты наводят на мысль, что при РА имеет место особая ассоциативная форма инфекции, при которой *Ch. trachomatis*, вероятнее всего, является своеобразным триггером. Роль других патогенов требует дальнейшего изучения.

*Область применения:* ревматология, микробиология, лабораторная диагностика

*Рекомендации по использованию:* результаты работы внедрены на базе ревматологического отделения УЗ «9-я клиническая больница» г. Минска и могут быть использованы врачами-ревматологами других учреждений здравоохранения Беларуси.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь по лабораторной диагностике хламидийной и других инфекций, дальнейшие совместные исследования по указанной тематике. Разработка нового поколения тест-систем для обнаружения белковых маркеров вирусов и бактерий, находящихся в биологическом материале в наномолярных количествах.

#### **Detection of pathogens and selection of *Ch. trachomatis* strain from knee-joint inflammatory exudates in rheumatoid arthritis associated with chlamydial infection**

*N.N. Poleschuk, L.V. Rubanik, D.A. Deikun,  
A.N. Astashonok, O.R. Knyazeva, N.F. Soroka,  
T.M. Talako*

Synovial fluids from knee joint of patients with rheumatoid arthritis were investigated using PCR, ELISA, the cell culture method and electron microscopy. The studies showed specific variety of *Ch. trachomatis*, *B. burgdorferi*, *EBV* and other that directly destruct or have an indirect damaging effect in synovial tissue. The obtained data are important for etiopathogenetic therapy. Due the low concentration of pathogens in the synovial fluid and tissue it's necessary to use different methods of their accumulation (fluid medium, cell culture) and to develop methodical approaches for pathogen identification in low titer. In this aspect, the use of modern highly sensitive detection methods based on nanotechnology combined with electron microscopy is promising.

*Field of application:* rheumatology, microbiology, laboratory diagnosis.

*Recommendations for use:* the results can be used by rheumatologists in health care institutions of Belarus.

*Offers for cooperation:* advisory assistance joint research, further collaborative research with rheumatologists.

Development new generation of a test-system for detection of nanomolar quantities of viral and bacterial protein markers in human biological samples.

УДК 547.9644:616.831-003.821]-074/.078

**Выявление и оценка функциональной роли «горячих точек» агрегации в полипептидах, ассоциированных с развитием церебральных амилоидозов у человека и животных**

С.П. Капитулец, О.И. Ничипорук, Н.Н. Капитулец, Л.М. Кравченко

**Рубрика: 76.29.50**

**НИР:** «Разработать способ лабораторной диагностики инфекционных амилоидозов (прионные инфекции) и провести скрининг среди пациентов с нейродегенеративной патологией центральной нервной системы».

**Сроки выполнения НИР:** январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

**Научные руководители:** канд. биол. наук С.П. Капитулец, д-р мед. наук Т.В. Докукина.

**Организация-соисполнитель:** ГУ «Республиканский научно-практический центр психического здоровья».

**Источник финансирования:** госбюджет.

Известно, что внутри- и межклеточное накопление нерастворимых белковых агрегатов, преимущественно в нейронах и сосудах головного мозга, четко коррелирует с развитием таких тяжелых и до сих пор неизлечимых синдромов, как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, сенильная деменция, множественный склероз, боковой амиотрофический склероз, прионные болезни и др. (всего около 60 нозоформ). Белковая агрегация также является причиной резкого снижения эффективности выхода биоактивных полипептидов при биотехнологическом производстве, уменьшает срок годности и повышает токсигенность белок-содержащих лекарственных средств (гормоны, интерфероны, сыворотки, вакцины) и т. п. В этом плане преодоление феномена агрегации белковых молекул *in vivo* является важной проблемой как для медицинской науки, так и биотехнологии.

В последнее десятилетие накапливаются доказательства, что в основе процесса белковой агрегации лежат общие и простые принципы, по крайней мере это справедливо для белков с полностью или частично развернутой полипептидной цепью, и склонность белка к агрегации четко определяется составляющей его последовательностью аминокислот. Более того, установлено, что только очень короткие аминокислотные отрезки полипептида, известные как «горячие точки» агрегации, определяют его агрегационные свойства. Их присутствие описано уже для большинства пептидов и белков, лежащих в основе нейродегенеративных болезней и системных амилоидозов.

**Целью** работы было идентифицировать наличие «горячих точек» агрегации у физиологически развернутых  $\beta$ -амилоидных пептидов (A $\beta$ 40 и A $\beta$ 42), являющихся критическими в патогенезе болезни Альцгейме-

ра, и 12 нативно глобулярных прион-протеинов млекопитающих и птиц (PrP человека, мыши, хомяка, кролика, норки, овцы, оленя, лося, быка, кошачьих, экзотических антилоп и курицы), протеазоустойчивая изоформа которых считается коррелятом инфекционности при губкообразных энцефалопатиях, и сравнить полученные результаты с экспериментальными данными, доступными в литературе.

В работе использованы результаты экспериментов по агрегационной способности каждой из 20 нативных аминокислот, ранее полученные репортерным методом *in vivo* (Santini S. et al, 2004). Аминокислотные последовательности исследуемых полипептидов были получены из электронной базы SwissProt database. Агрегационные профили белков рассчитывали путем присваивания соответствующих числовых значений каждому индивидуальному аминокислотному остатку (а.о.) в полипептидной цепи. Последовательность полипептидов сканировали скользящей рамкой из 5, 7, 9 и 11 а.о с шагом через 1 а.о. Средние значения агрегационной активности аминокислот в скользящей рамке приписывались центральной аминокислоте. Крайним N-и C-терминальным аминокислотам определяли значения, рассчитанные для первых центральных аминокислот в скользящей рамке. «Горячие точки» агрегации были идентифицированы с помощью web-программы AGGRESCAN (<http://bioinf.uab.es/aggrescan/>) как области, содержащие не менее 5 а.о. в длину (минимальный размер, установленный до настоящего времени, который необходим для пептида, чтобы сформировать амилоидную фибриллу аналогичную таковой образованной полным полипептидом (Haspel N. et al., 2005)), у которых агрегационные свойства являются выше средней агрегационной способности всей аминокислотной последовательности. Среднюю способность белка к агрегации или пороговое значение «горячей точки» агрегации вычисляли как сумму агрегационных свойств индивидуальных аминокислот, деленную на общее количество аминокислотных остатков в цепи.

Полученные результаты были оценены в сравнении с доступными для анализа экспериментальными данными относительно областей, известных как промотирующие агрегацию и фибриллизацию, фрагментов, агрегирующих *in vivo* (чаще после протеолиза) и синтетических коротких (усеченных) пептидов, для которых показана агрегация *in vitro*.

Установлено, что гидрофобные аминокислоты изолейцин, фенилаланин, валин и лейцин имеют наивысшую тенденцию вызывать агрегацию, тогда как полярные (аспарагин, аргинин, гистидин), аспарагиновая и глутаминовая кислоты промотируют их растворимость, что в целом согласуется с общими представлениями, что гидрофобные взаимодействия играют определяющую роль в белковой агрегации. Пролин лимитирует активность «горячей точки».

Две основных области с высокой агрегационной активностью выделены в агрегационном профиле у полипептидов A $\beta$ 40 и A $\beta$ 42 — 16–21 и 30–40(42) а.о. Причем вторая область у A $\beta$ 42 является, по-видимому, результатом вклада двух участков последовательности,

включающих аминокислотные остатки 30–36 и 38–42, что превосходно согласуется с экспериментальными данными литературы.

В агрегационных профилях полноразмерных прион-протеинов (PrPC) у разных видов млекопитающих выявлено от 5 до 7 «горячих точек». Первая из них расположена в неструктурированной N-терминальной части белка ( $\approx 1$ –22 а.о.), но отсутствует в протеазоустойчивом коре («инфекционных» прион-протеинов (PrPd), что исключает ее участие в трансмиссии прионов и в процессе агрегации.

Четыре других C-терминальных «горячих точки» (у человека они представлены а.о. 178–186, 209–214, 229–237, 240–253) включают почти всю последовательность  $\alpha$ -спирали C-конца глобулярного домена, обозначенную как спираль C. Интересно, что некоторые мутации, связанные с болезнью Крейтцфельда–Якоба у человека, находятся в этой области прионного белка, и что они связаны с конверсией PrPC в PrPd, обладающего нейротоксичностью. Также важно отметить, что основные структурные различия между прионными белками у различных видов были найдены тоже на конце C-спирали.

Центральная область PrPC, связывающая неструктурированную N-концевую часть с глобулярным C-терминальным доменом, содержит 1 «горячую точку» (у человека 2 в пределах а.о. 117–135, 137–142) и, как полагают, играет основную роль в конформационных изменениях PrPC. В исследованиях с использованием синтетических пептидов PrP установлено, что непрерывный сегмент прионного белка, охватывающий аминокислотные остатки 106–147, совпадающий со второй «горячей точкой» прион-протеинов, идентифицированной в нашем исследовании, является важным для проявления фибриногенных свойств белка. Один из синтетических пептидов, PrP106–126, который локализован в пределах центральной области PrP и около N-конца протеазоустойчивого кора PrPd, разделяет многие свойства с «инфекционной» формой приона, поскольку, как показано, легко формирует амилоидные фибриллы с высоким содержанием  $\beta$ -структур, проявляет частичную устойчивость к обработке протеиназой K и обладает нейротоксичностью *in vivo*. Другой пептид (PrP118–135) вызывал, как установлено, гибель нейронов через индукцию апоптоза. Оба эти пептида картированы нами в центральной склонной к агрегации области прион-протеинов млекопитающих (у курицы «горячая точка» агрегации в центральной области белка представлена а.о. 129–150).

Количество выявляемых «горячих точек» агрегации у исследуемых белков в целом не зависело от длины используемой скользящей рамки. Однако применение длинных рамок к относительно коротким последовательностям A $\beta$ 40 и A $\beta$ 42 приводит к чрезмерному сглаживанию агрегационного профиля, при этом на графике различные «горячие точки» группируются вместе и тем самым маскируются и не могут быть разграничены при анализе. Применение коротких рамок к длинным последовательностям (от 253 а.о. у человека до 264 а.о. у быка и 273 а.о. у курицы) вызывает появление ряда коротких

графически малозначимых «горячих точек», характеризующихся низкими показателями агрегационной активности. Это согласуется с тем, что для более длинных последовательностей белка необходимы более крупные «горячие точки», чтобы обеспечить их агрегационный потенциал, в то время как небольшие «горячие точки» являются достаточными для агрегации коротких пептидов.

На основании полученных результатов установлено, что для последовательностей полипептидов, содержащих до 50 аминокислот, наилучшие результаты сканирования «горячих точек» агрегации достигаются при использовании скользящей рамки длиной 5 а.о., для белков длиной  $\leq 300$  аминокислот — 9 а.о.

Полученные результаты согласуются с гипотезой, что короткие аминокислотные отрезки белков («горячие точки») действуют как точки нуклеации для формирования упорядоченных фибриллярных структур при патогенезе церебральных амилоидозов.

*Область применения:* профилактика и лечение нейродегенеративных болезней и церебральных амилоидозов.

*Рекомендации по использованию:* используемый подход представляется полезным инструментом для идентификации в функционально развернутых и нативно глобулярных белках специфических областей аминокислотной последовательности («горячих точек»), обладающих высокой агрегационной активностью *in vivo*. Полученные результаты могут быть использованы для разработки научно обоснованных подходов к терапии нейродегенеративных и амилоидных болезней путем специфического воздействия на «горячие точки» агрегации, опосредующем блокирование образования амилоидных структур в нервной ткани.

*Предложения по сотрудничеству:* проведение совместных исследований с заинтересованными.

#### **Detection and estimation of the functional role of «hot spots» of aggregations in polypeptides, associated with the human and animal cerebral amyloidosis**

*S.P. Kapitulets, O.I. Nichiporuk,  
N.N. Kapitulets, L.M. Kravchenko*

There were calculated the aggregation profiles for natively unfolded (A $\beta$ 40, A $\beta$ 42) and globular (PrPC) polypeptides of 12 species of mammals and birds, involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease and prion diseases accordingly. There were identified the «hot spots» of aggregations in amino acid sequences of proteins. The obtained results were compared with the available experimental data.

*Field of application:* prevention and treatment of cerebral amyloidosis.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.34-022.7-036.11-02-07:577.21

**Использование мультиплексной полимеразной цепной реакции для определения наиболее значимых возбудителей острых кишечных инфекций бактериальной этиологии**

*Е.С. Носова, Л.П. Титов*

**Рубрика: 76.03.43**

**НИИР:** «Разработать тест-систему с использованием мультиплексной ПЦР для индикации и идентификации бактериальных возбудителей острых кишечных инфекций».

**Сроки выполнения НИИР:** январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси Л.П. Титов.

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — разработать и оптимизировать параметры мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) для ускоренной индикации и типирования патогенных диареогенных *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* в клинических образцах (копроматериал) с целью диагностики острых кишечных инфекций.

В процессе работы проводилась оптимизация временного и температурного режима ПЦР, концентрации компонентов (полимеразы, буфера, магния, соотношение и активность олигонуклеотидов), разработка внутреннего позитивного контроля амплификации. Предметом исследования являлись родо- и видоспецифические гены, кодирующие факторы патогенности наиболее значимых возбудителей ОКИ бактериальной этиологии. В разработанный состав реакции входят два праймер-микса, содержащие рабочие смеси праймеров, реагент-микс, положительные контроли ДНК. В качестве положительного контроля использовали сконструированные ДНК, содержащие специфические последовательности ДНК исследуемых объектов. Мультипраймерная ПЦР позволяет одновременно использовать 3 пары олигонуклеотидов для коампликации ДНК-матриц. При подборе оптимальных условий амплификации с целью исключения формирования димеров праймеров были подобраны два состава праймер-смеси. Композиционный состав ПЦР-смеси № 1 включает праймеры для амплификации мишеней *omp* (сальмонелла, 204 п.о.), *campy* (кампилобактер, 840 п.о.), *yst* (иерсиния, 145 п.о.) и внутреннего контрольного образца (1026 п.н.) и № 2 — для амплификации мишеней *stx* (энтерогеморрагической *E. coli*, 518 п.о.), *virF* (энтероинвазивной *E. coli*, 618 п.о.), и *eae* (энтеропатогенной *E. coli*, 917 п.о.) и внутреннего контрольного образца (1026 п.о.). В качестве внутреннего контрольного образца используется последовательность гена домашнего хозяйства бактерий. Оптимизирована универсальная программа амплификации на основании выбранных в процессе тестирования оптимальных параметров времени и температур. Установлено, что для отжига сконструированных праймеров и синте-

за ПЦР-продуктов требуется режим 96°C — 5 мин, (95°C — 40 с, 57°C — 40 с, 72°C — 40 с) — 28 циклов, 72°C — 5 мин. Чувствительность мультипраймерной ПЦР была протестирована на образцах ДНК с разной концентрацией. ДНК экстрагировали из серийных разведений культур *C. jejuni*, *S. enteritidis*, *Y. enterocolitica*, *E. coli*. Специфичность мультипраймерной ПЦР была проверена при тестировании ДНК бактерий близкородственных видов представителей нормальной микрофлоры и других возбудителей кишечных инфекций. Ложноположительные результаты не были зарегистрированы.

Метод обладает рядом преимуществ и расширяет возможности диагностики по сравнению с классическими методами и обычной ПЦР, т. к. позволяет получать результаты в течение нескольких часов, используя клинический материал без предварительного этапа культивирования.

Разработанная мультиплексная ПЦР для диагностики ОКИ бактериальной этиологии позволяет в течение суток протестировать клинический материал на присутствие ДНК 6 наиболее актуальных возбудителей ОКИ, сделать заключение об этиологическом факторе, вызвавшем заболевание.

Разработана тест-система на основе мультиплексной ПЦР, позволяющая идентифицировать и дифференцировать между собой энтероинвазивные, энтерогеморагические, энтеропатогенные *E. coli*, нетифоидные *Salmonella spp.*, *Y. enterocolitica*, *Campylobacter spp.* методом мультиплексной ПЦР с детекцией методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. Для повышения этиологической расшифровки и улучшения качества диагностики и терапии ОКИ может быть рекомендовано использование в диагностических лабораториях.

**The use of multiplex polymerase chain reaction for detection of the most important agents of acute intestinal infections of bacterial etiology**

*E.S. Nosova, L.P. Titov*

The aim of research was to develop and optimize the method of the multiplex polymerase chain reaction (PCR) for detection and typing of pathogenic diarrheagenic *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* in a clinical sample for rapid diagnosis of acute intestinal infection. The developed reaction kit consists of two primer mixtures with a mixture of working primers, reagent mix and positive control DNA.

Multiplex PCR lets to use three pairs of oligonucleotides for DNA amplification simultaneously. The sensitivity of multiplex PCR was tested for DNA samples with different concentrations of *C. jejuni*, *S. enteritidis*, *Y. enterocolitica*, *E. coli*. The specificity of PCR was verified by testing the DNA of bacteria of closely related species. The method has several advantages and enriches the diagnostics in comparison with classical methods and conventional PCR.

УДК 616.993:576.8]-074/079:577.21

**Критерии клинико-лабораторной диагностики клещевых микст-инфекций.****Разработка тест-системы для дифференциации клещевых инфекций методом ПЦР**

*С.А. Дракина, Л.В. Корбут, Е.П. Счесленок,  
П.А. Семижон, А.Г. Красько, В.А. Девятникова,  
Л.А. Анисько, В.В. Щерба, Т.А. Рогачева*

**Рубрики: 76.03.41; 76.13.25**

**НИР:** «Разработать критерии клинико-лабораторной диагностики и схему терапии клещевых микст-инфекций. Создать тест-систему для дифференциации трансмиссивных бактериальных инфекций методом ПЦР».

**Сроки выполнения НИР:** январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

**Научный руководитель:** канд. мед. наук, доц. А.Г. Красько.

**Источник финансирования:** госбюджет.

В последние десятилетия внимание медицинской общественности привлечено к проблеме микст-инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Показано, что один и тот же клещ может быть переносчиком до 7 патогенных для человека агентов вирусно-бактериальной природы, причем множественность заражения клещей является правилом, а не исключением. При присасывании мультитаряженного клеща у человека может развиваться как моноинфекция, так и несколько клещевых инфекций в различных сочетаниях и разнообразных клинических формах.

**Цель** — разработка критериев клинико-лабораторной диагностики клещевых микст-инфекций и создание диагностической тест-системы.

Анализ результатов обследования пациентов на наличие клещевых инфекций показал, что в период 2009–2012 гг. среди госпитализированных в УЗ «Минская городская клиническая инфекционная больница» пациентов, которые отмечали присасывание клещей, преобладает Лайм-боррелиоз (ЛБ) — 185 случаев из 237. Среди 185 пациентов с диагнозом ЛБ в 1 стадии заболевания поступило 94 пациента (50,8%): у 71 из них диагностирована эритемная форма заболевания, у 23 — безэритемная, которая развилась в течение месяца со дня присасывания клеща. Во 2 стадии заболевания поступил 51 пациент (27,6%). Ведущими синдромами в стадии ранней диссеминации явились поражение опорно-двигательного аппарата и нервной системы. 33 пациента отмечали боли в крупных и мелких суставах (у 12 из них в анамнезе была мигрирующая эритема, которая прошла без лечения). У 18 пациентов диагностировано поражение нервной системы в виде менингита, синдрома Баннварта, полиневропатии. Хроническая, 3 стадия, ЛБ диагностирована у 37 пациентов (20%). Преимущественное поражение опорно-двигательного аппарата наблюдалось у 13 пациентов и характеризовалось длительным течением. Более тяжело протекала стадия поздней диссеминации с поражением нервной системы (23 пациента). У одного пациента отмечено хроническое поражение кожи в виде очага склеродермии. В 3 случаях установлен пост-лайм синдром. Диагноз ЛБ подтвержден серологическими исследованиями и методом ПЦР у всех пациентов.

Таблица

Критерии диагностики клещевых микст-инфекций

Эпиданамнез	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Присасывание клеща при посещении эндемичных по КЭ и ЛБ территорий Республики Беларусь или других стран.</li> <li>• Одновременное или последовательное присасывание двух и более клещей в пределах одного инкубационного периода, употребление козьего молока</li> </ul>
Клиника	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Острое начало заболевания</li> <li>• Наличие двухволнового характера лихорадки (в редких случаях — одноволновая)</li> <li>• Сочетание мигрирующей эритемы с выраженным общеинфекционным синдромом с артралгиями</li> <li>• Наличие поражений периферической нервной системы</li> <li>• Последовательное появление новых клинических симптомов на фоне имеющихся или их сменяющие</li> </ul>
Серологическая диагностика*	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Выявление антител (IgM, IgG) к вирусу КЭ</li> <li>• Выявление антител IgM к боррелиям (НРИФ 1:8 и выше)</li> <li>• Выявление антител IgG к боррелиям (НРИФ 1:64 и выше)</li> <li>• Наличие динамики изменения уровня специфических антител (IgM, IgG) при исследовании парных сывороток</li> <li>• Обнаружение антител IgG к боррелиям методом иммуноблоттинга</li> <li>• Обнаружение антител (IgM, IgG) к ГАЧ методом ИФА</li> </ul>
Молекулярная биология	Обнаружение РНК вируса КЭ, ДНК боррелий или ДНК анаплазмы, в клиническом и полевом материале методом ПЦР
Заключение	*При положительном результате проводится серологическое подтверждение микст-инфицирования в динамике Отсутствие специфических антител к одной из нозоформ на протяжении 3 мес. исключает диагноз микст-инфекции

Клещевой энцефалит (КЭ) диагностирован у 51 пациента и протекал в виде серозного менингита в 65% случаев. Во всех случаях наблюдалось полное выздоровление. У 19 пациентов с диагнозом КЭ в пробах сыворотки крови обнаружены IgM и/или IgG к ЛБ. Клиническая картина при микст-инфекции протекала с более выраженной лихорадкой и головной болью, чаще и более выраженные наблюдались поражения со стороны ЦНС. Однако только в 3 случаях, согласно эпидемиологическому анамнезу, тяжести клинической картины и выявлению IgM к ЛБ, установлен диагноз микст-инфекции (КЭ + ЛБ).

Впервые в республике на основании эпиданамнеза, течения заболевания и данных лабораторного обследования (обнаружение ДНК анаплазмы в сыворотке крови) поставлен диагноз гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) у одного пациента. У 3 пациентов клещевая инфекция протекала в виде микст-инфекции (ЛБ+ГАЧ). Клиническая картина включала признаки обеих инфекций и была подтверждена выявлением IgM.

Таким образом, результаты обследования пациентов с клещевыми инфекциями показывают, что на территории РБ клещевые инфекции протекают как моноинфекции (КЭ, ЛБ и ГАЧ), так и в виде микст-инфекций: КЭ+ЛБ, ЛБ+ГАЧ.

На основании полученных результатов разработаны критерии диагностики (таблица), рекомендуемые для внедрения в амбулаторную службу и инфекционные стационары республики.

На основе специфических пар праймеров к диагностически значимым участкам геномов возбудителей КИ (*B. burgdorferi* sl., *A. phagocytophillum*, *E. muris*, TBEV) и гибридационных проб, меченных флюорофорами, позволяющими оценивать наличие специфической амплификации в пробах по уровню флюоресценции, разработана диагностическая тест-система для выявления возбудителей КИ методом ПЦР в режиме «реального времени» в клиническом и полевом материале.

*Область применения:* клинико-лабораторная диагностика вирусных и бактериальных клещевых инфекций.

*Рекомендации по использованию:* тест-система рекомендуется для внедрения в лабораторную службу Республики Беларусь.

*Предложения по сотрудничеству:* апробация диагностической тест-системы для проверки ее эффективности в практике здравоохранения совместно с областными ЦГЭ и клиническими инфекционными больницами.

**Criteria for clinical and laboratory diagnostics of tick-borne mixed infections. Creation of PCR test-system for tick-borne infections differentiation**

*S.A. Drakina, L.V. Korbust, E.P. Scheslenok, P.A. Semizhon, O.R. Knyazeva, A.G. Krasko, V.A. Devyatnikova, L.A. Anisko, V.V. Scherba, T.A. Rogacheva*

The aim of this study was to develop the criteria for clinical and laboratory diagnosis of tick-borne mixed-infections and the creation of diagnostic PCR test kits.

The results of investigation of patients with tick-borne infections showed that on the territory of Belarus tick-borne infections exist as mono-infections (tick-borne encephalitis (TBE), Lyme borreliosis (LB), human anaplasmosis (HGA), and other mixed infections: TBE + LB, LB + HGA. There were developed the diagnostic criteria for implementation in the outpatient clinics.

*Field of application:* clinical laboratory diagnostics.

УДК 616.24-002.5:615.015.6]-085.37

**Метод иммунотерапии пациентов, страдающих туберкулезом легких со множественной устойчивостью, с использованием аутологичных дендритных клеток**

*Л.П. Титов, А.Е. Гончаров, Н.С. Шпаковская, Е.М. Скрягина, А.Е. Скрягин, В.В. Солодовникова, И.В. Романова*

**Рубрики: 62.33.31; 76.29.53**

*НИР:* «Разработать способ иммунотерапии пациентов с туберкулезом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью с использованием аутологичных культур дендритных клеток, выделенных из костного мозга, праймированных антигенами микобактерий».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси Л.П. Титов, д-р мед. наук Е.М. Скрягина.

*Организация-соисполнитель:* ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка метода терапии туберкулеза легких со множественной и широкой лекарственной устойчивостью при помощи аутологичных дендритных клеток.

Разработанный метод иммунотерапии основан на использовании аутологичных дендритных клеток, которые стимулируют иммунный ответ, направленный на элиминацию микобактерий. Дендритные клетки получают из моноцитов крови или гемопоэтических стволовых клеток костного мозга пациента, праймируют короткоцепочечным пептидом антигена CFP-10), проводят контроль жизнеспособности, иммунофенотипа и микробиологической чистоты и вводят пациенту подкожно.

В ходе выполнения задания разработана методика накопления биомассы гемопоэтических стволовых клеток, полученных из костного мозга, и генерации из них дендритных клеток. Дендритные клетки, полученные из гемопоэтических стволовых клеток, имели типичный иммунофенотип и морфологию. Для праймирования ДК подобраны иммуногенные пептиды антигенов, специфичных для микобактерий туберкулеза с широкой и множественной устойчивостью.

На базе РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии проведены клинические испытания, в которых приняло участие 12 пациентов с туберкулезом легких со множе-

ственной и широкой лекарственной устойчивостью. Из образцов костного мозга и периферической крови пациентов получены культуры дендритных клеток, которые были праймированы короткоцепочечным пептидом антигена CFP-10 и подвергнуты воздействию индукторов созревания. Контроль качества показал, что полученные культуры клеток состоят из зрелых CD209+CD83+CD11c+7-AAD-дендритных клеток.

Показана безопасность и хорошая переносимость терапии. У пациентов спустя 2–3 мес. после терапии дендритными клетками значительно увеличивается пул антигенспецифических Т-клеток периферической крови, что указывает на иммунологическую эффективность разработанного метода иммунотерапии. Клинические испытания способа иммунотерапии с использованием аутологичных культур дендритных клеток в комплексном лечении туберкулеза свидетельствуют об эффективности лечения у 92,3% пациентов, что подтверждается абациллитированием пациентов (92,3%), положительной клинико-рентгенологической динамикой или стабилизацией процесса (100%) и нормализацией основных гематологических (70,0%), биохимических (88,9%) и показателей клеточного иммунитета (85,6%).

Совместно с сотрудниками РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии разработан метод терапии дендритными клетками туберкулеза со множественной и широкой лекарственной устойчивостью.

*Вид патентной защиты:* патент № 17456 от 25.04.2013; патентовладелец — ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии».

*Область применения:* фтизиатрия.

*Рекомендации по использованию:* широкое внедрение метода в практику крупных учреждений здравоохранения республики, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим туберкулезом легких со множественной и широкой лекарственной устойчивостью.

*Предложения по сотрудничеству:* продажа лицензии, совместные исследования в направлении клеточной иммунотерапии туберкулеза, консультативная помощь при внедрении метода (инструкции по применению).

#### **Method of dendritic cell-based immunotherapy in patients with multiple and extreme drug-resistant pulmonary tuberculosis**

*A.Y. Goncharov, L.P. Titov, N.S. Shpakovskaya,  
A.M. Skryagina, A.E. Skryagin, V.V. Solodovnikova,  
I.U. Romanova*

The method of dendritic cell-based therapy of MDR and XDR pulmonary tuberculosis was developed. No local or general side effects were observed during clinical trials. The safety and tolerability of dendritic cell-based treatment of patients with tuberculosis was satisfactory. The majority of patients treated with dendritic cells exhibited satisfactory clinical response to the therapy, which resulted in mycobacterium clearance from sputum and X-ray improvement. The increase of antigen specific T-cells was observed in the majority of patients after the

course of immunotherapy, indicating the activated immune response.

*Field of application:* phthisiatry.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 574.36:616.214.8-018.7

#### **Метод накопления биомассы стволовых и прогениторных клеток обонятельного эпителия человека в условиях культуры**

*Н.Г. Антонец, З.Б. Квачева, А.Е. Гончаров,  
В.Л. Чекан, И.В. Сидоренко, Л.Г. Петрова*

**Рубрика: 62.33.31**

*НИР:* «Разработка клеточных композиций из обонятельного эпителия и кожи для реконструкции эпителиальных дефектов».

*Сроки выполнения НИР:* апрель 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук З.Б. Квачева.

*Организация-соисполнитель:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

*Источник финансирования:* госбюджет.

В настоящее время активно разрабатываются технологии и подбираются условия культивирования и накопления биомассы различных типов стволовых клеток для применения в терапевтических и исследовательских целях. Одной из проблем, которая стоит перед исследователями, является сложность выделения из ткани донора достаточного количества стволовых клеток и их экспансии в условиях культуры. Используют различные подходы к увеличению пролиферативного потенциала культивируемых стволовых клеток и к селективному выделению различных клеточных субпопуляций: внесение факторов роста, цитокинов, специфических ингибиторов отдельных метаболических путей, подбор условий микроокружения, 3D-культивирование и др. Наибольшее внимание уделяют способам экспансии гематopoэтических и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, также проводится поиск альтернативных источников для получения *in vitro* биомассы мультипотентных стволовых клеток. Так, одним из альтернативных источников получения стволовых клеток является обонятельный эпителий человека. Благодаря сочетанию свойств мезенхимальных и нейральных стволовых клеток и относительной доступности, стволовые и прогениторные клетки обонятельного эпителия (СПК ОЭ) человека рассматривают как перспективный материал для применения в клеточной терапии.

*Цель* — разработка метода экспансии СПК ОЭ для накопления клеточной биомассы.

Разработанный метод предполагает чередование этапов культивирования СПК ОЭ в ростовой среде, содержащей эмбриональную сыворотку крупного рогатого скота (FBS), с последующей заменой на бессывороточную ростовую среду, используемую для культиви-

рования нейральных стволовых клеток, которая содержит эпидермальный (EGF) и фибробластный факторы роста (bFGF), инсулин-трансферрин-селеновую добавку (ИТС). На этапе получения первичной культуры используется ростовая среда с содержанием 10–30% FBS. При пассировании гетерогенной по составу первичной культуры ОЭ начиная с 1-го пассажа действуют согласно следующей схеме:

1. Пересев культуры на ростовую среду с FBS.

2. На следующие сутки замена на ростовую среду с ИТС+ EGF + bFGF.

3. Культивирование клеток 4–7-х сут до индукции сферообразования и отделения конгломератов клеток от монослоя.

4. Сбор накопленных сфер, их трипсинизация для дезагрегации клеток.

5. Пересев клеток субкультуры на ростовую среду с FBS.

6. Повторение пунктов 1–5 до 3-го пассажа (и далее, если есть необходимость).

Данный метод позволяет на этапе использования FBS обеспечивать хорошую адгезию популяции СПК ОЭ к поверхности культуральных флаконов, а на этапе роста в присутствии добавки ИТС + EGF + bFGF проводить селекцию по пролиферативной активности пула СПК, которые растут в суспензии в виде сфер. При фенотипировании СПК ОЭ 3-го пассажа, накопленных в соответствии с данным методом, установлено, что экспрессия нестина — маркера нейральных стволовых клеток, была выше на 30–40% по сравнению с клетками культур, субпассирование которых проводили с использованием среды с добавлением только FBS. Индекс пролиферации СПК ОЭ, экспансию которых, проводили согласно предложенному методу, составил 4,5–5,5, в то время как в стандартных условиях — не выше 2,3–3,0.

Таким образом, предложенный метод экспансии позволяет накапливать биомассу СПК ОЭ человека в условиях культуры, поддерживать их высокую пролиферативную активность и недифференцированное состояние. Полученные данные позволяют разработать методы клеточной терапии различных заболеваний с использованием СПК ОЭ, расширить применение СПК ОЭ человека в фундаментальных исследованиях.

*Область применения:* трансплантология, клеточная терапия, регенеративная медицина, фундаментальные исследования.

*Рекомендации по использованию:* метод может быть использован для накопления биомассы стволовых и прогениторных клеток

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования в области клеточной терапии.

#### **Method of expansion of human olfactory epithelium-derived stem ceus and progenitor cells in culture conditions**

*N.G. Antonevich, Z.B. Kvacheva, A.Y. Goncharov,  
V.L. Chekan, I.V. Sidorenko, L.G. Petrova*

The method was developed for the expansion of the cultured human olfactory epithelium-derived stem ceus and progenitor cells. It helps to accumulate cell biomass in culture conditions, to maintain cells in undifferentiated state with high proliferative capacity.

УДК 616.419-018-006.6.04-07:577.21

#### **Метод определения потенциального риска злокачественной трансформации стволовых и прогениторных клеток человека на основе применения B1s I и Glα I ПЦР-анализа**

*Н.Г. Антоневиц, З.Б. Квачева, А.Е. Гончаров,  
В.Л. Чекан, И.В. Сидоренко, Л.Г. Петрова*

**Рубрика: 62.33.31**

*НИИ:* «Разработка клеточных композиций из обонятельного эпителия и кожи для реконструкции эпителиальных дефектов».

*Сроки выполнения НИИ:* апрель 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук З.Б. Квачева.

*Организация-соисполнитель:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

*Источник финансирования:* госбюджет.

Использование мезенхимальных стволовых и прогениторных клеток, в т. ч. клеток обонятельного эпителия (СПК ОЭ) человека, является перспективным направлением клеточной терапии.

В процессе длительного культивирования с целью достаточного накопления биомассы возникает риск аккумуляции генетических и эпигенетических аномалий в клетках, что может приводить к их спонтанной злокачественной трансформации. Показано, что наличие гипо- или гиперметилованных участков (абберантное метилирование) в регуляторных областях некоторых генов коррелирует с развитием онкологических заболеваний. В связи с этим, имеется необходимость контролировать биобезопасность клеток, подготовленных для трансплантации, на предмет потенциального риска малигнизации, связанного с эпигенетическим изменением паттерна метилирования.

В настоящее время для выявления метилированных сайтов ДНК применяется довольно трудоемкий метод бисульфитной конверсии. В то же время возможен альтернативный подход к решению проблемы — B1s I и Glα I ПЦР-анализ, который хорошо зарекомендовал себя при эпигенетическом типировании малигнанных клеточных линий. Метод заключается в обработке ДНК метилзависимыми эндонуклеазами GlαI или B1sI и последующей ПЦР с праймеров, окаймляющих исследуемый фрагмент ДНК. (Гончар Д.А., 2010; Акишев А.Г., 2011).

*Цель* — оптимизация метода определения риска злокачественной трансформации стволовых клеток человека путем выявления сайтов дополнительного метилирования в промоторе гена-онкосупрессора DAPK1 с использованием B1s I и Glα I ПЦР-анализа.

Показано, что абберантное метилирование промотора онкосупрессора DAPK1 (ген протеинкиназы I, вовлеченной в механизмы апоптоза и аутофагии) является фактором риска развития онкологических заболеваний и часто выявляется у людей, страдающих хроническими лейкозами, раком молочной железы, легких и др.

В качестве объекта исследования использовали культуру СПК ОЭ, полученные от 2-х доноров различных пассажных уровней (3–8 пассажи), в т. ч. культуры, восстановленные после длительной криоконсервации. Также проведена оценка характера метилирования промоторной области гена DAPK1 клеток культур, в среду культивирования которых на протяжении нескольких пассажей вносили факторы роста (эпидермальный фактор роста и фактор роста фибробластов-2). Данные факторы используются для повышения пролиферативной активности клеток, а также для поддержания культивируемых клеток в недифференцированном состоянии. Однако, факторы роста могут оказывать негативные эффекты, связанные с возможностью изменения активности различных генов и запуска механизмов онкотрансформации клеток. Таким образом, важной задачей является контроль потенциального риска злокачественной трансформации СПК ОЭ, экспансия которых проходила как в стандартных условиях, так и в результате воздействия на клетки ростовых факторов, а также культур, подвергнувшихся длительному криохранению.

В результате BIs I и GlA I ПЦР-анализа метилирования промотора гена-онкосупрессора DAPK1 культур СПК ОЭ человека установлено, что со всех исследуемых образцов образовывался ПЦР-продукт (отрицательный результат рестрикции). Это свидетельствует о том, что в изучаемом CpG-участке отсутствовали сайты узнавания для метил-зависимых рестриктаз BIs I и GlA I, т. е. отсутствовали сайты дополнительного метилирования. В случае обработки клеточной ДНК рестриктазой, сайт узнавания которой присутствует в ограниченной праймерами области (рестриктаза NaeIII), после проведения ПЦР искомым ампликоном не детектировался на электрофореграмме (положительный контроль рестрикции). В образцах ДНК, не обработанных рестриктазами, в процессе ПЦР накапливался ПЦР-продукт (отрицательный контроль рестрикции). Показано, что в отрицательном контроле интенсивность свечения полосы с продуктом амплификации такая же, как и в случае BIs I и GlA I ПЦР-анализа.

Таким образом, установлено, что в процессе культивирования и накопления биомассы культур СПК ОЭ человека в ранее оптимизированных условиях не отмечается повышение риска злокачественной трансформации клеток, связанного с эпигенетическим сверхметилированием промотора DAPK1. Не выявлено влияния условий культивирования на индукцию эпигенетического сверхметилирования онкосупрессора DAPK1 при оценке культур разных пассажных уровней, восстановленных после криоконсервации, а также культур, накопленных в присутствии ростовых факторов.

Данный метод может быть использован для выяв-

ления риска злокачественной трансформации культур стволовых клеток.

*Область применения:* трансплантология, клеточная терапия, регенеративная медицина.

*Рекомендации по использованию:* BIs I и GlA I ПЦР-анализ сайтов метилирования в регуляторных участках различных генов может применяться для оценки потенциального риска злокачественной трансформации культивируемых стволовых и прогениторных клеток для их безопасного применения в клеточной терапии.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования в области клеточной терапии, проведение исследований на договорных условиях.

#### **Method for determination of potential risk of malignant transformation of stem cells and progenitor cells using BIs I and GlA I PCR-analysis**

*N.G. Antonevich, Z.B. Kvacheva, A.Y. Goncharov, V.L. Chekan, I.V. Sidorenko, L.G. Petrova*

The method of BIs I and GlA I PCR -analysis was optimized for determination of the risk of malignant transformation of the cultured human stem cells. This approach was used to identify the aberrant methylation in the promoter of DAPK1-gene. The increased risk of transformation of stem cells and progenitor cells of human olfactory epithelium associated with epigenetic hypermethylation was not observed. There were no effects of culture conditions on the induction of epigenetic hypermethylation of DAPK1 promoter. This method can be used to identify the risk of malignant transformation of different types of stem cell cultures.

УДК 618.19-006.6.04-085.37

#### **Метод противорецидивной иммунотерапии пациентов, страдающих первичным агрессивным раком молочной железы с использованием аутологичных моноцитарных дендритных клеток**

*А.Е. Гончаров, Л.П. Титов, С.В. Кошелев, Е.В. Шаповал, И.В. Романова*

**Рубрики: 62.33.31; 76.29.49**

*НИР:* «Разработать метод противорецидивной аутоиммунотерапии пациентов с первичным агрессивным раком молочной железы с использованием аутологичных моноцитарных дендритных клеток, праймированных опухоле-ассоциированными антигенами».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2009 г. — декабрь 2013 г.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси Л.П. Титов, д-р мед. наук Е.В. Шаповал.

Организация-соисполнитель: ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка метода адьювантной терапии

первичного агрессивного рака молочной железы при помощи аутологичных дендритных клеток.

Данный метод основан на использовании аутологичных дендритных клеток, которые получают из моноцитов крови пациента, праймируют опухолеассоциированными антигенами (4-мя короткоцепочечными пептидами мутантного антигена р53), проводят контроль жизнеспособности, иммунофенотипа и микробиологической чистоты и вводят пациенту подкожно.

Дендритные клетки стимулируют иммунный ответ, направленный на элиминацию клеток опухоли в послеоперационном периоде.

Проведены клинические испытания метода иммунотерапии рака молочной железы дендритными клетками, праймированными опухолеассоциированными антигенами. В основной группе насчитывалось 22 человека. Мониторинг поэтапной аутоиммунотерапии включал опрос пациентов, клинический осмотр, осмотр места инъекции, контроль функции печени и почек, гемограммы, параметров иммунного статуса. Основные клинико-лабораторные показатели пациентов в ходе аутоиммунотерапии находились в пределах физиологической нормы. Мониторинг за пациентами побочных эффектов не выявил. Из постинъекционных реакций у 40% пациентов отмечался кожный зуд в месте введения дендритных клеток. Установлен прирост числа антигенспецифических Т-лимфоцитов в периферической крови у 84,6±10,0% пациентов и достоверное снижение содержания Т-регуляторных клеток у 76,9±11,7% пациентов после иммунотерапии.

Таким образом, анализ динамического клинико-лабораторного обследования пациентов указывает на хорошую переносимость, безопасность и иммунологическую эффективность использования аутологичных дендритных клеток у пациентов с ранним агрессивным раком молочной железы.

Проанализирована длительность свободного от болезни периода после оперативного вмешательства, которая варьировала от 23 до 49 мес., при средней продолжительности 36,9 мес. Средний временной промежуток после начала иммунотерапии составляет 22,9 мес. и колеблется от 13 до 33 мес. Таким образом, эффективный противорецидивный период, связанный с противоопухолевой иммунотерапией, в настоящее время составляет 20 мес.. В указанный период прогрессирование заболевания зарегистрировано у одной пациентки через 13 мес. после выполненной операции и через 6 мес. в после начала иммунотерапии. Учитывая, что в ретроспективной группе сравнения рецидивы болезни значимо фиксировались с 3-го года послеоперационного периода, можно сделать вывод о положительном влиянии иммунотерапии на бессобытийную выживаемость, составляющую на данный период времени 0,947±0,001 (в группе сравнения — 0,789±0,019).

С учетом данных о клинической переносимости и эффективности лечения, данный метод может быть рекомендован для внедрения в учреждениях здравоохранения.

*Область применения:* онкология.

*Рекомендации по использованию:* внедрение метода в практику учреждений здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациенткам, страдающим раком молочной железы.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования в направлении иммунотерапии рака.

#### **Method of anti-relapse immunotherapy of patients with primary aggressive breast cancer using autologous monocyte-derived dendritic cells**

*A.Y. Goncharov, L.P. Titov, S.V. Koshelev, E.V. Shapoval, I.U. Romanova*

The method of anti-relapse dendritic cell-based therapy of breast cancer was developed. Clinical trials revealed no significant side effects and excellent tolerability of the method. The increase of antigen specific T-cells and the decrease of T-regulatory cells was observed in the majority of patients after the course of immunotherapy, indicating the activated immune response. Clinical efficacy of dendritic cell-based treatment (event free survival 0.947±0.001) in comparison with the retrospective control group was shown (event free survival 0.789±0.019).

*Field of application:* oncology.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.98:575.421(476)

#### **Пастбищные клещи (*Ixodidae*) Пинского Полесья и их зараженность возбудителями инфекций, патогенными для человека и животных**

*Н.П. Мишаева, Л.С. Цвирко, Т.И. Самойлова, И.А. Азарова, В.А. Девятникова, Т.А. Сенковец*

**Рубрики: 76.03.45; 34.25.39**

*НИР:* «Разработать критерии клинико-лабораторной диагностики и схему терапии клещевых микст-инфекций. Создать тест-систему для дифференциации трансмиссивных бактериальных инфекций методом ПЦР».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2016 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. А.Г. Красько.

*Организация-соисполнитель:* УО «Полесский государственный университет», г. Пинск.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Пастбищные клещи (*Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus*) в условиях Беларуси являются основными хранителями и переносчиками возбудителей вируса клещевого энцефалита (КЭ) и Лайм-боррелиоза (ЛБ), природные очаги которых регистрируются на всей территории республики и интенсивно изучаются. В последние годы в рамках международных проектов (Швеция, Эстония, Россия, Люксембург) была установлена зараженность иксодовых клещей Беларуси новыми и малоизвестными для республики патогенными агентами, такими как риккетсии, анаплазмы, эрлихии, бабезии, франсиселлы, бартонеллы. Исследование кле-

щей, обитающих на территории Пинского Полесья, до сих пор не проводилось, хотя этот уникальный регион, где расположены знаменитые Пинские болота (Хольча, Морочно, Дедково, Городищенское, Дубник, Домашницы, Черневское-Леднежево), все чаще привлекает внимание туристов.

*Цель* — изучить зараженность иксодовых клещей Пинского Полесья возбудителями инфекций, патогенными для человека.

Материалом для исследований служили клещи *I. ricinus* и *D. reticulatus*, собранные в Лунинецком и Пинском районах в мае–июле 2013 г. Всего собрано 244 клеща, в т. ч. 89 особей *D. reticulatus* и 151 особь *I. ricinus*. Из них 94 клеща (12 биопроб) исследованы методом ПЦР на носительство генетических маркеров (РНК/ДНК) боррелий, эрлихий, анаплазм и клещевого энцефалита.

Установлено, что на возвышенных участках Пинского Полесья, не затапливаемых водой после мелиорации, постоянно регистрируются клещи 2-х видов: *I. ricinus* (евро-

пейский лесной вид) и *D. reticulatus* (луговой вид), причем отмечен высокий удельный вес лугового вида клеща по сравнению с зоной елово-широколиственных лесов центральных и северных регионов республики. Если в зоне елово-широколиственных лесов (например, в Минской области) численность *I. ricinus* составляла свыше 88% от общего числа собранных клещей, то на территории Полесья этот показатель снижался до 40–63,5%.

Результаты исследования клещей на носительство патогенных агентов представлены в таблице. Из нее видно, что в клещах были выявлены генетические маркеры анаплазм (*Anaplasma phagocytophilum*) и боррелий (*Borrelia burgdorferi sl.*), при этом ДНК анаплазм была обнаружена только в клещах *I. ricinus* (7/12 биопроб, или 58,3%), а ДНК боррелий выявлена в 8/12 биопроб, или 66,7%; из них 7 проб представляли клещи *I. ricinus* и одна проба состояла из *D. reticulatus*. Интерес представляют данные о выявлении в 6 из 12 биопроб клещей (50%) одновременно генетических маркеров *A. phagocytophilum* и *Borrelia burgdorferi sl.*

Таблица

Результаты исследования клещей на носительство патогенных агентов

Район сбора клещей	Близлежащая деревня	№№ биопробы	Число клещей в биопробе	Вид клеща	ДНК/РНК возбудителей*			
					A.ph.	Ehrl.	B.b.sl	TBE
Лунинецкий	д. Ловча	1	3 самки	<i>D. reticulatus</i>	Отр.	Отр.	+	Отр.
		2	6 самцов	<i>I. ricinus</i>	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
		3	9 самок	<i>I. ricinus</i>	Отр.	Отр.	+	Отр.
Пинский	д. Молодковичи	4	10 самцов	<i>I. ricinus</i>	+	Отр.	+	Отр.
		5	10 самок	<i>I. ricinus</i>	+	Отр.	+	Отр.
		6	3 самки	<i>D. reticulatus</i>	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
		7	3 самки, 1 самец	<i>D. reticulatus</i>	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
	д. Домашецы	8	10 самок	<i>I. ricinus</i>	+	Отр.	+	Отр.
		9	10 самок	<i>I. ricinus</i>	+	Отр.	+	Отр.
		10	10 самок	<i>I. ricinus</i>	+	Отр.	+	Отр.
		11	10 самцов	<i>I. ricinus</i>	+	Отр.	Отр.	Отр.
		12	10 самцов	<i>I. ricinus</i>	+	Отр.	+	Отр.
Итого ** абс. (%)					12/7 (58,3)		12/8 (66,7)	

Примечания:

\*A. ph — *A. phagocytophilum*, Ehrl. — *Ehrlichia chaffeensis/E. muris*, B.b.sl — *Borrelia burgdorferi sl.*, TBEV — tick-borne encephalitis virus.

\*\*Числитель — число исследованных биопроб, знаменатель — из них положительных.

Таким образом, исследования показали, что иксодовые клещи, обитающие на территории Пинского Полесья, являются носителями анаплазм и боррелий. Предполагается, что в дальнейшем список клещевых патогенов может быть значительно расширен. Об этом свидетельствуют данные, полученные при индивидуальном исследовании 116 клещей *I. ricinus*, отловленных в Каменецком и Пружанском районах Брестской области (Берестейское Полесье). Установлено, что 23 самки клещей (19,8%) содержали ДНК риккетсий из группы пятнистой лихорадки, а 16 клещей были инфицированы возбудителями клещевого энцефалита, бабези-

оза, лихорадки Ку и туляремии. Кроме того, из клещей *I. ricinus* выделены одновременно антигены вирусов КЭ и Западного Нила (ЗН), а из крови лихорадящего пациента — вирус ЗН.

Носительство клещами патогенных агентов вирусной, бактериальной и протозойной природы указывает на необходимость комплексного обследования территорий Республики Беларусь, активно посещаемых туристами, и разработки мер профилактики клещевых инфекций.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Б12-091).

**Область применения:** диагностика клещевых микст-инфекций.

**Рекомендации по использованию:** изучение иксодовых клещей на зараженность *A. phagocytophilum*, вызывающим у человека развитие гранулоцитарного анаплазмоза человека.

**Предложения по сотрудничеству:** консультативная помощь при укусе клеща.

### Pasture ticks (*Ixodidae*) in Pinsk Polesye and their infections with pathogenic agents for humans and animals

N.P. Mishaeva, L.S. Tsvirko, T.I. Samoilo, I.A. Azarova, V.A. Devyatnikova, T.A. Senkovets

The genetic markers of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sl. were identified in ticks, collected in Pinsk Polesye forest. DNA anaplasma was detected only in the ticks *I. ricinus* (7 of 12 samples, 58.3%), and *Borrelia* DNA was detected in 8 of 12 samples, 66.7% (7 samples *I. ricinus* and one sample *D. reticulatus*). In 6 of 12 (50%) ticks the samples with genetic markers of *A. phagocytophilum* and *B. burgdorferi* were detected at the same time.

**Field of application:** laboratory diagnostics.

**Offers for cooperation:** advisory assistance.

УДК 616.98:579.861.1-07:577.21(476)

### ПЦР-определение серогрупп *Neisseria meningitidis*, выделенных в Беларуси в 2011–2013 гг.

Ф.А. Лебедев, Л.П. Титов

**Рубрика:** 76.03.43

**НИР:** «Разработать тест-систему на основе ПЦР для серотипирования штаммов *Neisseria meningitidis*».

**Сроки выполнения НИР:** январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф., членкор. НАН Беларуси Л.П. Титов.

**Источник финансирования:** госбюджет.

*Neisseria meningitidis* является одной из главных причин септицемии и менингита во всем мире: случаи менингококковой инфекции регистрируются повсеместно и составляют 1–3 на 100 тыс. населения в развитых и 10–25 на 100 тыс. в развивающихся странах. Заболеваемость менингококковым менингитом (и менингококкцемией) в Беларуси составила 1,3 на 100 тыс. в 2011 г. и 1,2 на 100 тыс. в 2012 г. Более 70% случаев составили пациенты в возрасте до 2 лет, смертность — 9,5–11%. Основная группа риска — дети до 14 лет.

Серогруппы менингококка А, В, С, Y и W135 ответственны более чем за 90% случаев менингококкового менингита (и менингококкцемии) в мире. В Беларуси мажорными серогруппами являются А (11%), В (42%), С (13%), также встречаются нетипируемые штаммы и штаммы минорных серогрупп Y, W135, 29E, X.

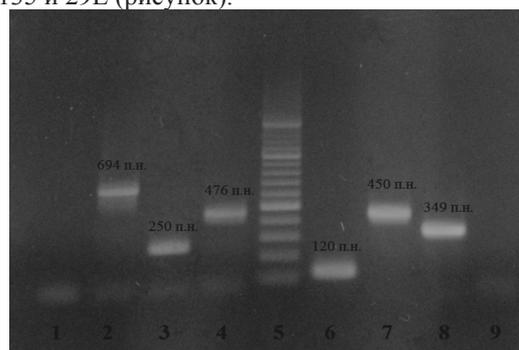
**Цель** — разработка метода мультиплексной ПЦР для определения основных клинически значимых серогрупп *N. meningitidis* (А, В, С, Y, W135 и 29E) и апробация данного метода. Материалом для исследований послужили 56 образцов ДНК менингококков (серогрупп А, В, С, Y, W135), выделенных от пациентов, контактных лиц и бактерионосителей в различных регионах страны в 2011–2013 гг. Также в работе использовались следующие контрольные штаммы менингококка: ATCC 13077 *N. meningitidis* (serogroup А), NCTC 10026 *N. meningitidis* (serogroup В), ATCC 13102 *N. meningitidis* (serogroup С), NCTC 11202 *N. meningitidis* (serogroup 29E) NCTC 11203 *N. meningitidis* (serogroup W135), ATCC 35561 *N. meningitidis* (serogroup Y).

Для серогруппового определения методом мультиплексной ПЦР были отобраны 6 пар праймеров, которые сгруппированы в две смеси по три пары праймеров каждая: смесь А-В-Y (*mynA*(А), *siaD*(В), *siaD*(Y)) и смесь С-W135-29E (*siaD*(С), *synG*(W135), *cap29EH*(29E)). Каждая смесь амплифицировалась в отдельной пробирке — две реакции на одну пробу.

Концентрации и состав компонентов реакционной смеси в ПЦР для определения серогрупп менингококков: конечная концентрация каждого праймера 10 пМ/мкл, Taq полимеразы (5 ед./мкл) — 0,2 мкл, 10×ПЦР буфер с (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> — 2,5 мкл, смесь нуклеотидов (dNTP Mix) (10 мМ) — 0,5 мкл, раствор MgCl<sub>2</sub> (25 мМ) — 2 мкл, раствор ДНК — 1–10 мкл, вода добавляется в объеме, необходимом до доведения общего объема реакционной смеси до 25 мкл.

Условия амплификации для каждой реакции (смеси) унифицированы: первичная денатурация 95°C — 5 мин, 35 циклов: 95°C — 60 с, 55°C — 40 с и 72°C — 30 с, финальная элонгация 72°C — 10 мин.

Пример результатов постановки мультиплексной ПЦР с шести серогруппами *N. meningitidis*: А, В, С, Y, W135 и 29E (рисунок).



**Рис.** Электрофореграмма результата постановки мультиплексной ПЦР с шести серогруппами *N. meningitidis*: лунки 1–4 — смесь С-W135-29E: лунка 1 — отрицательный контроль смеси С-W135-29E, лунка 2 — ампликон гена *cap29EH*(29E), 694 п.н., лунка 3 — ампликон гена *siaD*(С), 250 п.н., лунка 4 — ампликон гена *synG*(W135), 476 п.н.; лунка 5 — маркер молекулярного веса (100–1500 п.н.); лунки 6–9 — смесь А-В-Y: лунка 6 — ампликон гена *siaD*(Y), 120 п.н., лунка 7 — ампликон гена *siaD*(В), 450 п.н., лунка 8 — ампликон гена *mynA*(А), 349 п.н., лунка 9 — отрицательный контроль смеси А-В-Y)

При оценке чувствительности мультиплексной ПЦР оценивали чувствительность каждой пары праймеров по реакции с ГЭ/мл. ДНК менингококка определенной серогруппы в диапазоне  $10^1$ – $10^6$  ГЭ/мл. Чувствительность реакций варьировала от  $10^2$ – $10^3$  ГЭ/мл:  $10^2$  ГЭ/мл — для праймеров *siaD*(Y), *siaD*(C), *mynA*(A),  $10^3$  ГЭ/мл — для праймеров *cap29EH*(29E), *synG*(W135), *siaD*(B). Чувствительность метода мультиплексной ПЦР принята равной  $10^3$  ГЭ/мл.

Проведено серотипирование 56 изолятов менингококков (серогрупп А, В, С, Y, W135), выделенных от пациентов, контактных лиц и бактерионосителей, поступивших в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии из различных областей Беларуси в 2011–2013 гг. Все культуры (n = 56) менингококка успешно серотипированы данным методом: 47 культур (84%) — серогруппа В, 4 (7%) — серогруппа С, 3 (5%) — серогруппа А, 1 (2%) — серогруппа Y, 1 (2%) — серогруппа W135.

#### Выводы:

1. Разработан метод мультиплексной диагностической ПЦР для определения шести мажорных серогрупп *N. meningitidis*: А, В, С, Y, W135 и 29E, условия амплификации и концентрации реагентов для удобства метода унифицированы. Чувствительность метода составила  $10^3$  ГЭ/мл.

2. Проведена апробация метода на 56 изолятах менингококков (серогрупп А, В, С, Y, W135), выделенных от пациентов, контактных лиц и бактерионосителей в различных регионах Беларуси в 2011–2013 гг.: 47 культур (84%) — серогруппа В, 4 (7%) — серогруппа С, 3 (5%) — серогруппа А, 1 (2%) — серогруппа Y, 1 (2%) — серогруппа W135. Таким образом, метод может быть рекомендован в качестве альтернативы методу латекс-агглютинации (с преимуществом отсутствия нетипируемых штаммов данных серогрупп).

3. На основе данного метода разработана тест-система для определения серогрупп *Neisseria meningitidis*.

*Область применения:* микробиология, эпидемиология.

*Рекомендации по использованию:* может быть использован в качестве альтернативы методу латекс-агглютинации при серотипировании *Neisseria meningitidis*.

*Предложения по сотрудничеству:* производство тест-системы.

### Complex PCR method for serotyping of *Neisseria meningitidis* isolated in Belarus in 2011–2013

F.A. Lebedev, L.P. Titov

The paper presents the results on the option of primers and optimization of amplification conditions for the development of multiplex PCR method for *N. meningitidis* serotyping to 6 serogroups: А, В, С, Y, W135 and 29E.

There were used the Type Culture meningococcal control strains as well as clinical meningococcal isolates, obtained the period 2011–2013 from the regional laboratories (n = 56) during.

There were used serogroup specific internal fragments of the following genes — *mynA*(A), *siaD*(B, C, Y), *cap29EH*(29E) and *synG*(W135) as targets for PCR.

УДК 616.61-089.844:578.7

### Разработка алгоритма вирусологического обследования доноров и реципиентов при трансплантации почки

Т.В. Амвросьева, З.Ф. Богуш, Н.В. Поклонская

Рубрики: 76.03.41; 76.29.36; 34.25.39

*НИИ:* «Разработать и внедрить способ ранней диагностики вирусных осложнений у реципиентов после трансплантации почки, изучить их этиологическую структуру».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Т.В. Амвросьева.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Несмотря на впечатляющие достижения в области трансплантационных технологий при пересадке почки, актуальной проблемой до настоящего времени остается частое развитие у реципиентов инфекционных осложнений, существенно ухудшающих качество и снижающих продолжительность их жизни. По современным представлениям вирусные патогены могут быть причиной не менее 50% всех инфекций, регистрируемых у реципиентов почечных аллографтов. Несмотря на достигнутый прогресс в познании причин и этиологии посттрансплантационных вирусных осложнений, проблема их качественной и своевременной диагностики остается до конца нерешенной в плане выбора оптимальной схемы ее осуществления, а также оценки и интерпретации полученных лабораторных данных.

*Цель* — разработка алгоритма вирусологического обследования доноров и реципиентов почки в отношении актуальных возбудителей оппортунистических инфекций с последующей его апробацией в клинических условиях.

Экспериментально обоснован и выбран спектр детектируемых возбудителей потенциальных вирусных осложнений, в число которых вошли: цитомегаловирус (ЦМВ), вирус простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ), вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), Варицелла Зостер вирус (ВЗВ), вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6), парвовирус В19 (ПВ В19), БК-полиомавирус (БКВ), аденовирус (АдВ). В качестве основных диагностических методов регламентируются ИФА для выявления антивирусных Ig M и G в сыворотке крови (анти-ЦМВ, анти-ВЭБ, анти-ВПГ, анти-ВГЧ 6, анти-ВЗВ) и ПЦР (качественная и количественная) для детекции вирусспецифического генетического материала в плазме крови (ЦМВ, БКВ, ВЭБ, ВПГ, ВЗВ, ВГЧ 6, АдВ, ПВ В19) и моче (БКВ).

Предлагаемый порядок вирусологического обследования состоит из 2 этапов: 1) определение серологического и инфекционного статуса доноров и реципиентов до трансплантации; 2) мониторинг (ре-) активации вирусных инфекций и развития вирусных осложнений в посттрансплантационный период.

При этом обязательному вирусологическому обследованию до трансплантации почки подлежат как потенциальные доноры, так и реципиенты, после операции — только реципиенты. В дотрансплантационный период регламентируется определение серологического статуса пациентов в отношении вирусов герпетического ряда (ЦМВ, ВЭБ, ВПГ, ВЗВ, ВГЧ 6) и выявление активной вирусной инфекции в отношении БКВ (определение ДНК вируса в моче), а также проведение исследований по обнаружению хронических вирусных гепатитов В, С и ВИЧ. Лабораторные исследования в посттрансплантационный период включают мониторинг (ре-)активации ЦМВ, БКВ и ВЭБ (определение ДНК вирусов в плазме крови методом ПЦР), как наиболее вероятных этиологических агентов вирусных осложнений. В случае наличия клинических проявлений вирусной инфекции проводится мониторинг вирусной нагрузки (определение количества ДНК вируса (копий/мл) методом количественной ПЦР). В отношении других оппортунистических инфекций регламентируется вирусологическое обследование реципиентов при наличии клинических показаний, которое включает установление возбудителя с последующим количественным мониторингом вирусной нагрузки. Ключевым моментом использования предлагаемого алгоритма является адекватная интерпретация лабораторных данных, полученных на каждом этапе обследования, по результатам которого назначается антивирусная терапия или проводится коррекция иммуносупрессивной терапии, эффективность которых контролируется динамическим количественным мониторингом вирусной нагрузки.

В ходе применения разработанного алгоритма вирусологического обследования пациентов в клинических условиях получены следующие результаты. У 39,1% реципиентов в разные сроки после операции регистрировались вирусные осложнения, вызванные распространенными возбудителями оппортунистических инфекций: ЦМВ (17,6%), ВЭБ (18,8%), БК-вирус (17,6%), ВГЧ 6 (7,9%), ПВ В19 (6,7%). Случаи обнаружения ВПГ, ВЗВ и АдВ отсутствовали. Установлено, что доминирующими возбудителями в этиологической структуре вирусных инфекций в посттрансплантационный период были ЦМВ и ВЭБ, которые вызывали активную инфекцию у 41,9 и 30,4% реципиентов соответственно. Уровень регистрации БК-вирусной инфекции составил 17,43%, ВГЧ 6 — у 5,63%, АдВ — у 1,85%, ПВ В19 — у 1,67%. Сроки первичного выявления маркеров при ЦМВ инфекции регистрировались на  $45,4 \pm 4,05$  сут, при ЭВВ-инфекции — на  $31,8 \pm 5,06$  сут, при БКВ-инфекции — на  $38,1 \pm 8,67$  сут.

*Область применения:* трансплантология, лабораторная диагностика вирусных инфекций.

*Рекомендации по использованию:* разработанный алгоритм вирусологического обследования пациентов при пересадке почки рекомендуется для использования в специализированных лабораториях организаций здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь по лабораторной диагностике вирусных инфекций при трансплантации почки.

#### **Development of the algorithm for virological examination of kidney donors and recipients**

*T.V. Amvrosieva, Z.F. Bogush, N.V. Poklonskaya*

There is described the algorithm of virological examination of kidney donors and recipients and the results of its clinical application.

*Field of application:* transplantation, laboratory diagnosis of viral infections.

*Recommendations for use:* the developed algorithm is recommended for use in specialized laboratories of research centers and medical institutions.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 578.833.28:578.74](476)

#### **Разработка высокоэффективной иммуноферментной тест-системы для выявления антигена вируса Западного Нила в переносчиках и клиническом материале в Республике Беларусь**

*Т.И. Самойлова, О.С. Залевская, К.Л. Дедюля, О.В. Климович, А.С. Петкевич*

**Рубрики: 76.03.41; 76.35.33**

*НИР:* «Разработать иммуноферментную тест-систему для выявления антигена вируса Западного Нила в переносчиках и клиническом материале».

*Сроки выполнения НИР:* II кв. 2011 г. — IV кв. 2013 г.  
*Научный руководитель:* д-р. биол. наук, доц. Т.И. Самойлова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Вирус Западного Нила (ВЗН) широко распространен во всем мире и является возбудителем тяжелого природноочагового заболевания — Западно-Нильского энцефалита. За последние 20 лет заболеваемость этой инфекцией отмечена в большинстве стран бывшего СНГ. Ареал распространения ВЗН охватывает практически всю европейскую часть России и Западной Сибири. В лесостепной и степной зонах Украины до 10% лихорадочных заболеваний людей в летне-осенний период вызваны ВЗН. В настоящее время в России эпидобстановка по Западно-Нильской инфекции продолжает оставаться напряженной: неблагоприятная ситуация выявлена в 25 регионах. В 2012 г. выявлено более 125 случаев заболевания. В целом за период 1997–2012 гг. в РФ зарегистрировано более 1600 случаев Западно-Нильской инфекции. При этом наибольшее количество заболеваний пришлось на 1999 г. (475 случаев) и 2010 г. (523 случая). В 2013 г. уже зарегистрированы новые случаи Западно-Нильской инфекции со смер-

тельными исходами. Учитывая данные отечественных и зарубежных исследователей о том, что клинически выраженные случаи заболевания составляют менее 1% от общего числа инфицированных вирусом, истинные цифры инфицированных ВЗН в мире неизвестны.

В Республике Беларусь Западно-Нильская инфекция представляет серьезную угрозу для здоровья людей. Основными переносчиками вируса являются кровососущие комары. Ежегодно их нападению подвергается значительное количество людей. Это обуславливает необходимость мониторинга за зараженностью членистоногих возбудителем Западно-Нильского энцефалита. С целью его выявления необходима диагностическая тест-система. Одним из основных методов лабораторной диагностики, обладающего быстротой выполнения, удобством в работе, объективностью учета результатов за счет автоматизации и возможностью проведения массового исследования переносчиков, в настоящее время является метод иммуноферментного анализа (ИФА). Диагностические коммерческие тест-системы отечественного производства отсутствуют, и диагностика заболевания не налажена. Поэтому разработка и внедрение отечественной недорогой иммуноферментной тест-системы является важной и актуальной задачей.

В рамках выполнения НИР разработана высокоэффективная иммуноферментная тест-система для выявления антигена ВЗН в переносчиках и клиническом материале. Основой тест-системы является антиген ВЗН, который предназначен для иммобилизации на поверхности лунок планшетов с последующим использованием в иммунологических реакциях. Тест-система предназначена для выявления антигена ВЗН конкурентным методом твердофазного ИФА в переносчиках (кровососущих комарах и мошках) и клиническом материале (сгустках крови, ликворе). Она обеспечивает проведение 96 исследований, включая контроли.

В период со II квартала 2011 г. по IV квартал 2013 г. были отработаны схемы иммунизации лабораторных животных; получены иммуноасцитические жидкости (ИАЖ) к ВЗН и антигенные лекарственные средства ВЗН для ИФА, оценена степень их специфической активности; выделены изоляты ВЗН от кровососущих членистоногих, собранных в природных очагах Республики Беларусь и проведена их идентификация; оптимизированы условия постановки ИФА и разработана технология изготовления тест-системы и документация к ней (лабораторный регламент, инструкция по применению, технические условия, программа и методика медицинских испытаний); изготовлен экспериментальный образец иммуноферментной тест-системы для выявления антигена ВЗН в переносчиках и клиническом материале, который был апробирован в лаборатории экологии и эпидемиологии арбовирусных инфекций РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

Установлено, что наилучшая специфическая активность антигена наблюдалась при разведении его 1:100, а антитела, выделенные из ИАЖ, проявляли специфическую активность в отношении ВЗН при разведении

1:500.

*Область применения:* клиническая и экспериментальная медицина, вирусология, лабораторная диагностика.

*Рекомендации по использованию:* тест-система может быть использована специалистами санитарно-эпидемиологической службы для мониторинга за зараженностью членистоногих возбудителем Западно-Нильского энцефалита.

*Предложение по сотрудничеству:* совместные исследования по данной проблеме.

#### **Development of highly effective test-system for detection of the West Nile virus antigen in the carriers and clinical materials in Belarus**

*T.I. Samoilo, O.S. Zaleuskaya, K.L. Dedzulya, O.V. Klimovich, A.S. Petkevich*

There was developed an effective test-system for the detection of the Western Nile virus in the antigen carriers and clinical materials with the help of enzyme immunoassay method.

*Field of application:* clinical and experimental medicine, virology, laboratory diagnostics.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.831.9-002:578.7]-07:577.21

#### **Разработка диагностической тест-системы для выявления рнк-генома вируса лимфоцитарного хориоменингита методом ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени**

*Е.Г. Фомина, Е.П. Счесленок, Т.В. Школина, А.С. Владыко*

**Рубрики: 76.13.25; 76.03.41**

*НИР:* «Разработать тест-систему для выявления вируса лимфоцитарного хориоменингита методом ПЦР в режиме реального времени».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2015 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.С. Владыко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) относится к семейству *Arenaviridae* и является возбудителем одноименного инфекционного заболевания. Клинические проявления вирусного лимфоцитарного хориоменингита варьируют от сравнительно легких гриппоподобных случаев (85%) до менингитов, менингоэнцефалитов (12–15%), а иногда водянки головного мозга (у новорожденных). Описано тератогенное действие вируса, а также острые молниеносные формы с летальным исходом.

В настоящее время интерес к данному вирусу проявляется с новой силой. Причиной этому служит появление целого ряда научных публикаций о заражении вирусом ЛХМ при пересадке органов. Описаны в лите-

ратуре врожденные случаи ЛХМ. Смертность при врожденной патологии у таких детей составляет 35%, серьезные неврологические заболевания развиваются в 64% случаев. Несмотря на большую социальную значимость заболеваний, вызванных вирусом ЛХМ, гиподиагностика данной инфекции очевидна. Существенной проблемой является отсутствие высокочувствительных современных диагностических тест-систем для выявления генома вируса ЛХМ. В Республике Беларусь и в странах ближнего зарубежья такие тест-системы не производятся.

*Цель* — разработка тест-системы для выявления РНК-генома вируса ЛХМ в клиническом материале методом обратной транскрипции (ОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени по технологии TaqMan (с использованием гибридационно-флуоресцентной пробы). Основой диагностической тест-системы являются специфические олигонуклеотиды (праймеры) и гибридационная проба, комплементарные нуклеотидной последовательности генома вируса ЛХМ в 3'-нетранслируемой области S-сегмента. Праймеры фланкируют фрагмент генома размером 156 нуклеотидных оснований (позиции в геноме для прямого праймера — 3222–3240, для обратного праймера — 3361–3377, для гибридационной пробы — 3331–3351), согласно нуклеотидной последовательности штамма *Armstrong*. Анализ результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналу ROX для регистрации накопления продуктов амплификации фрагментов ДНК вируса ЛХМ и по каналу FAM для регистрации продукта амплификации ДНК ВКО. Наличие специфических фрагментов генетического материала вируса ЛХМ определяют с помощью контрольной положительной пробы (К+ПЦР), содержащей диагностически значимый фрагмент РНК вируса ЛХМ, амплифицированной в одном эксперименте с РНК, выделенной из клинических образцов. Разработанная тест-система позволяет с высокой чувствительностью (5–10 копий на реакцию) и специфичностью (99,9%) выявлять геном вируса ЛХМ.

*Область применения:* лабораторная диагностика вирусных инфекций, анализ эпидемиологической ситуации по ЛХМ в потенциальных природных очагах, трансплантология, тестирование иммунобиологических лекарственных средств (вакцин), в производственном цикле которых использовался мозг лабораторных мышей.

*Рекомендации по использованию:* тест-система может быть использована для выявления РНК вируса лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) в клинических образцах пациентов (плазма крови, сыворотка, ликвор) и органах мышевидных грызунов.

*Предложения по сотрудничеству:* использование тест-системы в практике здравоохранения: республиканским и областными центрами гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья; Минским городским центром гигиены и эпидемиологии; инфекционными больницами; в трансплантологии, а также при разработ-

ке иммунобиологических лекарственных средств (вакцин).

#### **Development of diagnostic kit for detection of RNA-genome of LCMV in real time PCR**

*E.G. Fomina, E.P. Scheslenok, T.V. Shkolina, A.S. Vladyko*

Quantitative PCR (QPCR, or real time PCR (rtPCR)) is a powerful virologic technique for measurement of viral replication and viral loads in human and animal models. We developed the QPCR assay to detect lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) in human serum and tissues of mice. An rtRT-PCR assay, which is specific for LCMV was developed by targeting of primer and probe sequences to a unique region of the LCMV 3' untranslated region of S-segment. In conclusion, the LCMV rtRT-PCR assay offers a potentially high-specific (99.9%) and sensitive (5–10 copy/reaction) diagnostic assay to detect LCMV in human serum, mice tissues and contaminated biological materials.

УДК 616.98:578.7]-07

#### **Разработка комплексных диагностических лекарственных средств для опасной природно-очаговой группы вирусных инфекций**

*П.А. Семижон, Е.П. Счесленок, Т.В. Школина, Е.Г. Фомина, Л.М. Рустамова, О.Р. Князева, А.Г. Красько, А.С. Владыко*

**Рубрики: 76.03.41; 76.13.25**

*НИР:* «Разработать подтверждающий лиа-тест (биочипы) для карантинной группы вирусных инфекций»; «Разработать комплексные тест-системы для выявления природно-очаговых, арбовирусных и особо опасных вирусных инфекций методом ОТ-ПЦР».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф. А.С. Владыко, канд. мед. наук, доц. А.Г. Красько.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Разработка современных методов диагностики инфекционных заболеваний, вызванных вирусами-возбудителями геморрагических лихорадок особо опасной и опасной (природно-очаговой) группы, важна для обеспечения биологической безопасности любого государства, в т. ч. и Республики Беларусь. Это обусловлено развитием международных интеграционных экономических процессов, ростом межэтнических и культурных контактов, увеличением миграционных потоков населения в силу экологических или экономических факторов, что приводит к возникновению новых или расширению ареалов известных опасных и особо опасных инфекционных заболеваний, вызываемых, в основном, РНК-геномными вирусами семейств: *Arenaviridae, Filoviridae, Flaviviridae, Bunyviridae*. Для Республики Беларусь наибольшую опасность представляет занос особо опасных вирусов, вызываю-

щих геморрагические лихорадки Ласса, Эбола, Марбург. В определенной степени это относится к вирусам Западного Нила, клещевого энцефалита, геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), лихорадки Денге, желтой лихорадки и других арбовирусов. Также немаловажным фактором является то, что вирусы особо опасной группы могут быть использованы в качестве биотеррористических агентов.

Отсутствие средств специфической профилактики и лечения геморрагических лихорадок, вызываемых вирусами особо опасной группы, обуславливает необходимость как можно более быстрого установления этиологического агента с целью дальнейшего проведения адекватных противоэпидемических, профилактических и лечебных мероприятий.

*Целью* настоящего исследования являлась разработка диагностических лекарственных средств: рекомбинантной иммуноферментной тест-системы для одновременной серологической диагностики вирусов Ласса, Марбург, Эбола, геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), лихорадки Западного Нила (ЗН) методом Лиа-иммуноблоттинга (ИБ), и тест-системы для индикации возбудителей природно-очаговых, арбовирусных и особо опасных вирусных инфекций методом обратной транскрипции (ОТ)–полимеразной цепной реакции (ПЦР).

При разработке рекомбинантной иммуноферментной тест-системы для одновременной диагностики вирусов Ласса, Марбург, Эбола, ГЛПС, ККГЛ, ЗН методом Лиа-ИБ использованы биотехнологические методы, позволившие экспрессировать в бактериальных клетках *E. coli*, штамм *BL21 (DE3)*, рекомбинантные полипептиды, включающие антигензначимые участки нуклеокапсидных белков соответствующих вирусов. В дальнейшем с использованием метода аффинной металлохелатной хроматографии были получены высокоочищенные лекарственные средства рекомбинантных полипептидов, показана их способность связывать гомологичные антитела, находящиеся в сыворотке крови, что в свою очередь обусловило возможность их использования в качестве основных вирусных антигенов для разработки иммуноферментной диагностической тест-системы. Разработанная тест-система не имеет отечественных и зарубежных аналогов и позволяет одновременно проводить выявление и дифференциацию антител к особо опасным (Ласса, Марбург и Эбола) и природно-очаговым (ГЛПС, ККГЛ, ЗН) вирусам с экспериментально установленными диагностическими параметрами чувствительности 95–97% и специфичности 95–98%.

Разработка тест-системы для индикации возбудителей природно-очаговых, арбовирусных и особо опасных вирусных инфекций методом обратной транскрипции–полимеразной цепной реакции основана на использовании специально подобранных специфических олигонуклеотидов (праймеров), комплементарных определенным участкам геномов флавивирусов (вирус клещевого энцефалита, вирусы лихорадки Ден-

ге и ЗН), филовирусов (вирусы Марбург, Эбола), аренавирусов (Ласса), буньявирусов (ККГЛ, ГЛПС). В состав тест-системы включены разработанные стандартизированные контроли: контроль этапа выделения РНК, контроли прохождения ОТ–ПЦР. Лабораторные испытания данной тест-системы показали ее высокую чувствительность ( $1 \times 10^3$  ГЭ/мл) и специфичность (до 98%).

Таким образом, комплексное использование разработанных диагностических лекарственных средств (рекомбинантной иммуноферментной тест-системы для одновременной серологической диагностики вирусов Ласса, Марбург, Эбола, ГЛПС, ККГЛ, ЗН методом Лиа-ИБ) и тест-системы для индикации возбудителей природно-очаговых, арбовирусных и особо опасных вирусных инфекций методом ОТ–ПЦР позволит более качественно осуществлять диагностику данного комплекса возбудителей и проводить необходимые противоэпидемические мероприятия в максимально сжатые сроки.

*Область применения:* лабораторная диагностика вирусных инфекций.

*Рекомендации по использованию:* внедрение данных тест-систем в качестве экспресс-индикационных диагностических упаковок для служб практического здравоохранения и других медицинских оперативных формирований, занимающихся осуществлением лабораторного контроля за вирусными инфекциями и обеспечением безопасности страны.

*Предложения по сотрудничеству:* апробация диагностических тест-систем для проверки их эффективности в практике здравоохранения совместно с областными ЦГЭ в лабораториях диагностики ООИ, имеющих разрешение на работу с микроорганизмами 1–2 группы патогенности.

#### **Development of complex diagnostic kits for dangerous natural focal groups of viral infections**

*P.A. Semizhon, E.P. Scheslenok, T.V. Shkolina,  
E.G. Fomina, L.M. Rustamova, O.R. Knyazeva,  
A.G. Krasko, A.S. Vladyko*

There were developed 2 diagnostic products: recombinant enzyme immunoassay system for simultaneous serological diagnosis of Lassa virus, Marburg, Ebola, HFRS, CCHF, WN by Line-IB, and the test system for indicating the pathogens of natural focal, arbovirus and dangerous viral infection with RT-PCR. It will help to diagnose this complex of pathogens and carry out the necessary control measures as soon as possible.

*Field of application:* laboratory diagnostics.

УДК 616.9-036.21-076

#### **Разработка способа лабораторной диагностики «инфекционных амилоидозов» (прионные инфекции) методом атомно-силовой микроскопии**

*С.П. Капитулец, Г.К. Жавнерко, О.И. Ничипорук,  
И.В. Парибок, Н.Н. Капитулец, М.В. Махров,  
Т.В. Докукина*

Рубрика: 76.29.50

*НИИР:* «Разработать способ лабораторной диагностики инфекционных амилоидозов (прионные инфекции) и провести скрининг среди пациентов с нейродегенеративной патологией центральной нервной системы».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научные руководители:* канд. биол. наук С.П. Капитулец, д-р мед. наук Т.В. Докукина.

*Организация-соисполнитель:* ГУ «Республиканский научно-практический центр психического здоровья».

*Источник финансирования:* госбюджет.

Постановка клинического диагноза прионного заболевания для специалистов практического здравоохранения остается весьма сложной проблемой, а его верификация осуществляется только на аутопсийном материале посмертно. Серологическая диагностика болезней ограничена отсутствием воспалительных реакций и иммунного ответа на инфекцию. Прижизненная диагностика также не разработана. Отсюда выявляемость пациентов с прионными инфекциями в республике находится на весьма низком уровне. Речь идет лишь о случайных находках. Не исключено, что такие пациенты существуют и проходят под другими диагнозами, например, болезнь Альцгеймера, Паркинсона, дисциркуляторная энцефалопатия II–III степени, мультисистемная атрофия, высокая форма бокового амиотрофического склероза, множественный склероз и др.

*Цель* — разработать и апробировать способ детекции патологической формы прионного белка в аутопсийном и биопсийном материале от пациентов с дегенеративным поражением нервной системы для дифференцирования «инфекционных амилоидозов» (прионные инфекции) от других органических, включая симптоматические и психические, расстройств (F0 МКБ-10).

Для визуализации и идентификации аномального протеазоустойчивого прионного белка PrP<sup>27-30</sup>, коррелята инфекционности при прионных болезнях, в материале от пациентов с различной нейродегенеративной патологией нами применен нанотехнологический подход, заключающийся в реализации условий концентрирования искомым патологических прионных белков на заданных участках твердой поверхности гидрофильного кремния («иммуночипе») с нанесенными микроконтактной печатью (МКП) полосками из бычьего сывороточного альбумина (БСА) и активированной специфическими анти-PrP моноклональными антителами (МАТ) с последующей визуализацией результатов анализа методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). АСМ-изображения поверхности «иммуночипов» до и после взаимодействия с анализируемыми образцами получали на воздухе с помощью микроскопа Nanoscope IIIa (Veeco, США), оборудованного «D-сканером» в контактном режиме (contact mode) или в режиме прерывистого контакта (tapping mode). Использовали контактные 100- и 200-мкм кантилеверы «Nanoprobe» из Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> с константой упругости 0.12 и 0.36 N/m и тейпинговые иглы из кремния с резонанс-

ной частотой ~315 кГц. Сила воздействия иглы на образец в контактном режиме составляла единицы нН. При получении изображения варьировали частотой строчной развертки от 1 до 5 Гц. Все образцы проходили одинаковые этапы пробоподготовки. Для обеспечения достоверности результатов образцы исследовали в 4-кратной повторности.

В качестве клинического материала использовали общий пул лейкоцитов из периферической крови (ЛПК), спинномозговую жидкость (СМЖ) и аутопсии мозга (АМ), полученные от пациентов с установленным/предполагаемым постмортальным или клиническим диагнозом болезнь Альцгеймера (6), Крейтцфельдта–Якоба (2), амиотрофический лейкоспонгиоз (2), сосудистая деменция (1), и с другими прогрессирующими нейродегенеративными болезнями неустановленной этиологии (8). Положительным контролем служили ЛПК и АМ золотистых сирийских хомяков с экспериментальной инфекцией скрепи, штамм 263 К (по 3); отрицательным — ЛПК здоровых доноров (10), ЛПК и АМ интактных животных (по 2).

Высокую концентрацию PrP<sup>27-30</sup> из положительных образцов, обработанных протеиназой К (100 мкг/мл, 2 ч, 37°C) при последующей адсорбции их на поверхности «иммуночипа» порядка 100×100 мкм (что более чем достаточно для исследований с помощью АСМ), обеспечивает специфичность взаимодействия протеазоустойчивого прионного белка с МАТ, например, с анти-PrP 3F4, 6H4 и др. При этом полосы БСА служат поверхностями сравнения для оценки высот анализируемых биообъектов.

Было показано, что в условиях эксперимента ширина полос БСА при МКП составила 1,7±0,2 нм, а перепад высот БСА и немодифицированной поверхности кремния — в среднем 1,66±0,2 нм. Уровень полос МАТ, иммобилизованных в промежутки между полосами БСА, был лишь незначительно ниже уровня полос БСА (~ на 0,1 нм). После взаимодействия МАТ с PrP<sup>27-30</sup> на поверхности «иммуночипов» выявляли узкие полосы белковых комплексов шириной 1,3±0,2 нм, превышающие уровень полос БСА в среднем на 1,6±0,2 нм. Отсюда можно рассчитать, что в условиях эксперимента высота комплекса «МАТ+PrP<sup>27-30</sup>» составляла в среднем 3,2±0,4 нм. В АСМ-изображениях отрицательных образцов, не содержащих патологический прионный белок, после протеолитической обработки и взаимодействия с МАТ выраженных различий уровнях полос БСА и МАТ не отмечено.

При апробации предложенного способа наивысший положительный сигнал при АСМ-детекции специфических комплексов МАТ+PrP<sup>27-30</sup> отмечен при анализе ЛПК, СМЖ и АМ пациентов с БКЯ и АЛ (100% положительных результатов). Результаты коррелировали с данными АСМ-анализа ЛПК и АМ положительных контрольных образцов лабораторных животных с экспериментальным скрепи. В ЛПК 2 пациентов с диагнозами органический амнестический синдром (F04 МКБ-10) и 1 пациента с конверсионным расстройством моторики (F44.4 МКБ-10) также получен положительный

результат. В других клинических образцах (у здоровых доноров и интактных животных) образование специфических комплексов не выявлено.

Таким образом, использование сочетания АСМ с локальной активацией кремневой поверхности специфическими анти-PrP антителами позволяет производить управляемую фиксацию PrP27-30 из анализируемого образца на микронных участках поверхности иммуночипа, что может быть использовано для совершенствования исследований этиопатогенеза прионных болезней, в т. ч. развития методов прижизненной диагностики прионных инфекций у человека.

На способ обнаружения аномальной протеазоустойчивой формы прионного белка (PrPd) при трансмиссивных губкообразных энцефалопатиях человека и животных подана заявка на патент от 04.01.2011 г. № а20110013.

*Область применения:* клиническая и лабораторная диагностика.

*Рекомендации по использованию:* внедрение разработанного способа целесообразно при верификации заболеваний у людей с установленным (предполагаемым) клиническим и патолого-анатомическим диагнозом прионной инфекции, а также при расшифровке спорадических, наследственных (семейных) и инфекционных (ятрогенных) случаев болезни Крейтцфельда–Якоба (БКЯ) и его «нового варианта» (вБКЯ), амиотрофического лейкоспонгиоза, синдрома Герстмана–Страусслера–Шейнкера, семейной инсомнии (бессонницы) и др. Способ позволяет диагностировать скрепи и другие губкообразные энцефалопатии у диких и сельскохозяйственных животных (мелкий и крупный рогатый скот, норки, дикие копытные, кошачьи и др.).

*Предложения по сотрудничеству:* проведение лабораторной диагностики сложных случаев нейродегенеративных заболеваний с привлечением специалистов неврологических и инфекционных отделений больниц.

#### **Development of technique of laboratory diagnostics of «infectious amyloidoses» (prion disease) with atomic force microscopy**

*S.P. Kapitulets, G.K. Zhavnerko,*

*O.I. Nichiporuk, T.V. Paribok, N.N. Kapitulets,*

*M.V. Makhrov, T.V. Dokukina*

The technique for detection of abnormal protease-resistant prion protein PrP 27-30, associated with amyloid deposits with atomic force microscopy (AFM) was developed in the Republican Research and Practical Center for Epidemiology&Microbiology together with the Republican Research and Practical Centre for Mental Health and the Institute of Chemistry of New Materials of Belarusi an National Academy of Sciences during the period of 2011–2013. The use of combination of AFM with local activation of silicon surface with anti-PrP antibodies helps to reveal the PrP27-30 from the sample on micron sites of «immunochip» that can be used by researches of etiopathogenesis of prion diseases, including the development of methods of lifetime and post-mortem

diagnostics.

*Field of application:* epidemiology and laboratory diagnostics.

*Offers for cooperation:* laboratory diagnostics of difficult cases of neurodegenerative diseases.

УДК 616.986.7-072.85

#### **Роль наружных мембранных белков**

#### ***Leptospira interrogans* в патогенезе лептоспироза**

*С.П. Капитулец, О.И. Ничипорук, Н.Н. Капитулец,*

*И.А. Азарова, Ф.М. Фидаров*

**Рубрики: 76.35.33; 76.03.43**

*НИР:* «Разработать подтверждающий тест на лептоспироз».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук С.П. Капитулец.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Индикация гуморальных антител против белков наружной мембраны патогенных лептоспир, так называемых основных мембранных белков (outer membrane proteins — OMPs), в последние годы стала главным объектом исследования при лептоспирозе. Как уже установлено, эти антигены, представленные в основном липопротеинами, у всех патогенных лептоспир сохраняют высокую консервативность и проявляют повышенную иммунореактивность для всех млекопитающих, что позволяет предлагать их в качестве основных мишеней при диагностике инфекции. Уникальная устойчивость лептоспир к выживанию в природных условиях по сравнению с другими спирохетами и их способность эффективно адаптироваться к изменениям окружающей среды и физиологическим условиям в организме млекопитающих определяется, по-видимому, именно мембрано-ассоциированными белками, которые функционально могут облегчить инвазию и установление болезни.

Современными протеомными технологиями в структуре *L. interrogans* выявлено до 563 белков, участвующих в метаболизме бактерий в условиях *in vivo* и *in vitro*. При этом для 65 из них отмечены индуцированные изменения в уровнях экспрессии, что определяется условиями культивирования лептоспир и стадией развития инфекции в организме хозяина.

Иммунореактивные белки, экспрессирующиеся лептоспирами *in vivo*, и в первую очередь, наружные мембранные липопротеины (НМЛ), локализованные в клеточной стенке бактерий, очевидно могут служить детерминантами патогенеза при лептоспирозе, поскольку являются главными мишенями для гуморального ответа. Установлено, что некоторые высококонсервативные НМЛ у патогенных лептоспир действуют как основные факторы вирулентности для тканей макроорганизма, отсутствующие у непатогенных видов. На основе информации о геноме *L. interrogans* предсказано присутствие около 260 мембрано-ассоциированных

белков. В настоящее время только немногие из них охарактеризованы, а их биологическая роль установлена, и лишь для 12 разработаны соответствующие технологии, обеспечивающие их идентификацию при анализе.

*Цель* — изучить особенности развития гуморального иммунного ответа при лептоспирозе посредством выявления основных иммунореактивных лептоспирозных антигенов, преимущественно НМЛ, экспрессирующихся *in vivo*, методом иммунного блоттинга (ИБ).

Был изучен гуморальный IgM- и IgG-ответ против патогенных видов *L. interrogans* (7 серогрупп) у лабораторных животных (белые беспородные мыши) при экспериментальном лептоспирозе и выявлена экспрессия основных иммунореактивных лептоспирозных антигенов на 7, 14 и 21-й дни инфекции. Дополнительно методом ИБ обследованы 15 сывороток крови пациентов, больных лептоспирозом, с лабораторно и клинически подтвержденными диагнозами и 5 сывороток пациентов с клиническими симптомами, не исключаящими данное заболевание, но серологически негативными. В качестве отрицательных контролей использовали сыворотки крови интактных животных (5) и здоровых доноров (4). Антигенные лекарственные средства для ИБ получали из монокультур диагностических штаммов 7 серогрупп *L. interrogans* и их комбинации.

Показано, что в острой фазе инфекции, независимо от инфицирующей серогруппы, IgM-ответ определяется, главным образом, лептоспирозными белками с молекулярной массой 14, 25, 32 и 41/42 кДа. В фазе конвалесценции IgG-ответ характеризовался иммунодоминантными белками p32 и p41/42 и иммунореактивностью к высокомолекулярным белкам p58, p62 и p82. Кроме преобладающих иммунодоминантных белков на блотах также выявлялись минорные антигенные полосы, которые включали белки p20, p31, p37, p44 и p45 для IgM-ИБ и p20, p25, p31, p37, p44, p45, p48, p70 и p76 для IgG-ИБ.

По результатам работы можно заключить, что патогенные виды *L. interrogans* обладают значительным количеством иммунореактивных антигенов, преимущественно белковой природы, с М.м. от 14 до 82 кДа, которые последовательно экспрессируются при патогенезе инфекции и становятся мишенями для гуморального иммунного ответа. Основными иммунодоминантными белками, выявляемыми при лептоспирозе, являются два с М.м. 32 и 41 кДа, известные как наружные мембранные липопротеины LipL32 и LipL41 соответственно. Сыворотки пациентов, больных лептоспирозом, и экспериментально зараженных животных реагировали с LipL32 и LipL41 чаще, чем с любым другим антигеном, как на ранние, так и на поздние сроки инфекции, и не реагировали у здоровых доноров и интактных животных. Учитывая, что и LipL32, и LipL41 характеризуются у *L. interrogans* высокой консервативностью (98,9 и 97,3% гомологии соответственно) и повышенным уровнем экспрессии при инфекциях, вызванных патогенными лептоспирами, диагностика заболевания, основанная на выявлении этих антигенов в иммунном

блоттинге, очевидно, будет наиболее эффективной независимо от сроков и инфицирующей серогруппы возбудителя. Полученные данные уточняют патогенетические аспекты лептоспироза у млекопитающих и человека и способствуют развитию подходов к ранней серодиагностике инфекции.

*Область применения:* клиническая и лабораторная диагностика.

*Рекомендации по использованию:* используемый подход представляется полезным инструментом для идентификации иммунодоминантных антигенов, вовлеченных в гуморальный ответ при лептоспирозе, и может облегчить раннюю детекцию патогенных видов *L. interrogans* путем развития улучшенных диагностических подходов. Понимание биологической роли отдельных наружных мембранных липопротеинов в патогенезе лептоспироза обеспечит прогресс в разработке субъединичных вакцин для специфической профилактики заболевания.

*Предложения по сотрудничеству:* проведение совместных исследований с заинтересованными.

### **The importance of the outer membrane proteins of *Leptospira interrogans* in pathogenesis of leptospirosis**

*S.P. Kapitulets, O.I. Nichiporuk, N.N. Kapitulets, I.A. Azarova, F.M. Fidarov*

The humoral IgM and IgG immune responses to *Leptospira interrogans* (7 serogroups) in infected laboratory animals was studied during the period of 2011–2013. There were identified leptospiral proteins, that were expressed at 7, 14 and 21 days after infection. In addition, some leptospiral human serums were investigated by a Western blot. The obtained results can help to develop new strategies for acute and convalescent phases of leptospirosis and identify the proteins in relation to virulence, putative candidates for development of subunit vaccine.

*Field of application:* molecular biology and laboratory diagnostics.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.98:(578.823.91+578.826.2)-07

### **РОТА-АДЕНО-АГ-ИХМ-Конф — тест-система для одновременной экспресс-диагностики ротавирусной и аденовирусной инфекций**

*В.Г. Гудков, А.С. Виринская, Е.И. Бореко, С.В. Орлова*

**Рубрики: 76.03.41; 76.35.33**

*НИИ:* «Разработать диагностические препараты, провести молекулярно-эпидемиологический и серологический мониторинг в отношении ротавирусной инфекции».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. В.Г. Гудков.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Как и в большинстве развитых стран мира, лабора-

торная диагностика ротавирусной инфекции (РВИ) в Республике Беларусь проводится методом иммуноферментного анализа (ИФА), главным образом, с помощью тест-системы «РОТА-АГ» по ТУ ВУ100558032.108-2004 с изменениями и конфирматорного тест-набора «РОТА-АГ-Конф» по ТУ ВУ100558032.109-2004, разработанных и производимых в ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии». Экспресс-диагностика РВИ вне оснащенной лаборатории может осуществляться с помощью тест-системы для определения антигенов ротавирусов методом иммунохроматографического анализа (ИХМ) с подтверждающим тестом «РОТА-АГ-ИХМ-Конф» по ТУ ВУ100558032.160-2009. Однако отечественного набора для экспресс-диагностики другой весьма распространенной и клинически трудно дифференцируемой от РВИ острой кишечной инфекции (ОКИ) аденовирусной природы до настоящего времени не было.

Нашей задачей являлась разработка и освоение производства тест-системы для определения обеих указанных ОКИ методом иммунохроматографического анализа с конфирматорным тестом. Отличительной конструктивной особенностью разработанной тест-системы является наличие в ней компонентов, позволяющих выполнять подтверждающий тест методом ИХМ.

Разработанное лекарственное средство предназначено для качественного иммунохроматографического определения и подтверждения выявления антигенов ротавирусов и аденовирусов в биологических субстратах при проведении профессиональной специфической лабораторной диагностики этих инфекций у пациентов с клиникой ОКИ.

Тест-система представляет набор, состоящий из 10 компонентов, и имеет следующую комплектацию:

- № 1. Тест-кассета.
  - № 2. Буферный раствор объемом для приготовления проб.
  - № 3. Буферный раствор объемом для растворения иммунобиологических компонентов.
  - № 4. Антиген ротавирусный (ПК-РОТА).
  - № 5. Антиген аденовирусный (ПК-АДЕНО).
  - № 6. Неинфицированная культура клеток (ОК).
  - № 7. Сыворотка крови кролика, не содержащая антитела к ротавирусам (КР-РОТА).
  - № 8. Асцитическая жидкость мышей, не содержащая антител к аденовирусам (КР-АДЕНО).
  - № 9. Сыворотка крови кролика, содержащая антитела к ротавирусам (КФР-РОТА).
  - № 10. Иммунная асцитическая жидкость мышей, содержащая антитела к аденовирусам (КФР-АДЕНО).
- Инструкция по применению.

Указанная комплектация лекарственного средства позволяет выполнить диагностическое исследование и подтвердить его специфичность без использования дополнительных реагентов и оборудования. В каждом наборе имеется 20 диагностических тестов, включая контроли и подтверждающие тесты.

Исследование проводится в два этапа: прямой (выявляющий одновременно антигены ротавирусов и аденовирусов) тест и тест, подтверждающий специфич-

ность полученных положительных результатов.

*Прямой тест.* Иммунологическая реакция по определению антигенов рота- и аденовирусов осуществляется на мембране с предварительно нанесенными ингредиентами. Мембрана помещена в кассету (тест-кассета), на которой имеются окна с зонами внесения исследуемой пробы (S) и учета результатов реакции (P). Содержащийся в пробе рота- или аденовирусный антиген специфически взаимодействует с соответствующими моноклональными антителами, ковалентно связанными с красными или синими микросферами. Микросферы с образовавшимися на них иммунными комплексами под действием капиллярных сил мигрируют по мембране и пересекают поперечные полоски ковалентно связанных с мембраной противорота- вирусных и противоаденовирусных иммуноглобулинов в зоне P. Мигрирующие на красных и синих микросферах иммунные комплексы специфически взаимодействуют с антителами и останавливаются на уровне этих полосок. О наличии антигенов ротавирусов в пробе свидетельствует появление красной полоски в зоне P, о наличии аденовирусных антигенов — появление синей полоски в зоне P. Зеленая полоска служит внутренним контролем каждой тест-кассеты.

*Подтверждающий тест.* Добавление в положительную на содержание ротавирусного антигена пробу противорота- вирусных антител в специально подобранной концентрации (КФР-РОТА) приводит к образованию иммунных комплексов и специфическому блокированию антигена. При постановке прямого иммунохроматографического теста ротавирусодержащая проба с добавленным конфирматорным реагентом не должна образовывать красной полоски в зоне P. Добавление в положительную на содержание аденовирусного антигена пробу противоаденовирусных антител в специально подобранной концентрации (КФР-АДЕНО) приводит к образованию иммунных комплексов и специфическому блокированию антигена. При постановке прямого иммунохроматографического теста аденовирусо-держащая проба с добавленным конфирматорным реагентом не должна образовывать синей полоски в зоне P.

Лекарственное средство зарегистрировано в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь, регистрационное удостоверение № ИМ-7.99763.

*Вид патентной защиты:* патент РФ № 1687613 от 19.12.2009; патентовладелец — ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии».

*Область применения:* экспресс-диагностика ротавирусной и аденовирусной инфекций в лабораториях любого уровня.

*Рекомендации по использованию:* диагностический набор «РОТА-АДЕНО-АГ-ИХМ-Конф» может использоваться для быстрой диагностики ротавирусной и аденовирусной инфекций по клиническим и эпидемиологическим показаниям в инфекционных больницах, педиатрических стационарах, учреждениях здравоохранения любого уровня и профиля, включая станции скорой медицинской помощи, амбулатории и ФАП.

*Предложения по сотрудничеству:* совместная разра-

ботка и изготовление диагностических иммунохроматографических наборов с использованием наноматериалов; изготовление и поставка тест-системы по заказу любыми партиями; реализация по конкурентным ценам, совместные исследования с использованием тест-системы.

**ROTA-ADENO-AG-ICHM-Conf —  
Immunochromatographic assay kit  
with the confirmation test for rapid diagnostics  
of rota- and adenoviral infection**

*V.G. Gudkov, A.S. Virinskaya, E.I. Boreko, S.V. Orlova*

Immunochromatographic assay kit with the confirmation test for the rapid detection of rotaviral and adenoviral infections was developed.

*Field of application:* rapid laboratory diagnosis of rotavirus and adenovirus infections.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 578.76:613.31

**Создание комплексного набора для экспресс-детекции вирусных агентов в питьевой воде**

*Т.В. Амвросьева, Н.В. Поклонская,  
К.Л. Дедюля, О.Н. Казинец*

**Рубрики:** 76.03.41; 34.25.39; 34.15.29

*НИР:* «Разработать и внедрить препарат для экспресс-индикации вирусных патогенов в объектах водоснабжения».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Т.В. Амвросьева.

*Источник финансирования:* госбюджет; внебюджетные источники.

Контроль качества питьевой воды по вирусологическим показателям имеет приоритетное значение в общей системе эпиднадзора за вирусными инфекциями. Поэтому создание и внедрение в практику лабораторных служб стандартных лекарственных средств, основанных на использовании современных технологий изоляции вирусных агентов из водной среды и их специфической индикации, является актуальным направлением исследований санитарной вирусологии.

*Цель* — разработка комплексного санитарно-вирусологического лекарственного средства для экспресс-индикации вирусного загрязнения объектов питьевого водоснабжения, включающего комплект реагентов для улавливания и последующей ПЦР-детекции вирусов-контаминантов воды.

В ходе создания технологии улавливания вирусов из водной среды разработана техническая документация и сконструировано специальное фильтрационное устройство (насадка на водопроводный кран) для отбора проб, позволяющее осуществлять фильтрацию не менее 1000 л проточной водопроводной воды. В экспериментальных условиях подобраны следующие сорбирующие материалы отечественного производства и оптимальные параметры их использования: тип сор-

бирующего материала — ФИБАН А5 или ФИБАН А6, масса — 15 г, объем пропускаемой питьевой воды — 1000 л, скорость ее протекания — 40–45 л/ч.

Разработана технология выявления изолированных из питьевой воды норо- и энтеровирусов методом ПЦР в режиме реального времени с гибридационно-флюоресцентной детекцией. Для этих целей подобраны вирусспецифические праймеры и гибридационные зонды, отработаны оптимальные условия постановки реакции, выбран состав реакционной смеси и температурный режим амплификации.

На основе выполненных разработок создана экспериментальная партия «Набора для отбора проб и индикации кишечных вирусов в питьевой воде методом ПЦР» (далее Набор), включающего 2 комплекта реагентов: 1) для отбора и концентрирования проб питьевой воды (комплект № 1) и 2) для ПЦР-детекции уловленных из питьевой воды норо- и энтеровирусов (комплект № 2). Лабораторные испытания разработанного Набора в условиях искусственной вирусной контаминации питьевой показали его достаточно высокую эффективность. Так, специфичность улавливания и выявления энтеровирусов составила 100% (50 положительных проб из 50 контаминированных), норовирусов — 98% (49 положительных проб из 50 контаминированных), что соответствовало заявленным показателям контроля качества Набора при пороге чувствительности ПЦР-детекции  $5 \times 10^3$  ГЭ/мл. В ходе полевых испытаний Набора при санитарно-вирусологическом исследовании 85 проб воды, отобранных из городского водопровода с помощью комплекта № 1 и далее исследованных методом ПЦР с использованием комплекта № 2, в 2 пробах были обнаружены энтеровирусы. Наличие энтеровирусных агентов в данных пробах и отсутствие энтеровирусного загрязнения в остальных было подтверждено в параллельных исследованиях при использовании коммерческой ПЦР-тест-системы.

Полученные результаты указывают на возможность широкого практического использования разработанного Набора для осуществления санитарно-вирусологического контроля качества питьевой воды на предмет выявления ее контаминации энтеро- и норовирусами.

*Область применения:* санитарная вирусология, эпидемиология.

*Рекомендации по использованию:* санитарно-вирусологические исследования воды в системе централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь по созданию и использованию санитарно-вирусологических и диагностических лекарственных средств для индикации кишечных вирусов.

**Development of integrated kit for detection  
of viral pathogens in drinking water**

*T.V. Amvrosieva, N.V. Poklonskaya,  
K.L. Dzedzulya, O.N. Kazinets*

In this article we described the development of integrated kit for detection of viruses in drinking water. The kit includes two sets of reagents: 1) for sampling and

concentration samples of drinking water (set №1) and 2) for Enterovirus and Norovirus detection by Real-time PCR (set № 2). The developed kit is recommended for sanitary and virological analysis of drinking water in order to identify its contamination with Entero- and Noroviruses.

*Field of application:* sanitary virology, epidemiology.

*Recommendations for use:* sanitary and virological analysis of drinking water.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 578.7(476)

**Специализированная коллекция вирусов и бактерий, патогенных для человека — объект национального достояния Республики Беларусь**

*Л.М. Рустамова, А.Г. Красько,*

*Т.С. Ермакова, С.Ф. Семенов, Н.Л. Богданова,*

*Т.А. Аблова, В.А. Горбунов*

**Рубрики: 76.03.41; 76.03.43**

*НИИР:* «Создать и пополнить национальную коллекцию микроорганизмов, патогенных для человека, паспортизировать штаммы для исследований в области вирусологии, бактериологии и других областей биологии и медицины в странах ЕврАзЭС».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук Л.М. Рустамова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Инфекционные заболевания, занимая лидирующее положение в структуре общей заболеваемости человека, сегодня имеют ряд особенностей: наблюдается резкое снижение или ликвидация детских инфекций, контролируемых средствами иммунопрофилактики (корь, краснуха, дифтерия, коклюш, эпидемический паротит, полиомиелит), и появление инфекций, приобретающих черты глобального распространения в виде эпидемий и пандемий (вирусные гепатиты В и С, ВИЧ); возникают новые возбудители (новые варианты вируса гриппа, Западного Нила, вирусов геморрагических лихорадок — Ласса, Эбола, Марбург, коронавирусы); наблюдается возврат к эпидемическому распространению, более тяжелому течению и высокой летальности известных ранее инфекций (туберкулез, дифтерия, грипп и др.). Установлена роль инфекционных агентов в патогенезе заболеваний, которые ранее не считались, а соответственно и не лечились как инфекционные (онкологические, аутоиммунные, аллергические, неврологические, психиатрические и др.). Глобальное значение приобрела проблема развития лекарственной устойчивости микроорганизмов к химиотерапевтическим лекарственным средствам, что вызвало резкое снижение на 70–90% эффективности этиотропной терапии. Перечисленные события ставят перед здравоохранением новые задачи, основой которых является разработка высокочувствительных экспрессных методов определения и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний на основе достижений отечественной ин-

новационной нанотехнологии, повышения эффективности эпидемиологического надзора за инфекциями, максимального обеспечения потребности учреждений здравоохранения в диагностических средствах.

Основным звеном в цепи последовательных работ по разработке средств индикации и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний является сохранение и пополнение фонда коллекционных штаммов. Коллекционный фонд важен при решении практических задач разработки и изготовления иммунологических и диагностических средств на основе имеющихся в коллекции штаммов актуальных вирусных и бактериальных инфекций для обеспечения лабораторий практического здравоохранения Республики Беларусь. Вирусные и бактериальные штаммы стали неотъемлемой частью биотехнологии, используются для решения медико-биологических проблем, вирусологии, иммунологии, инфекционной патологии. Для обеспечения охраны уникальности имеющегося вирусного и бактериального материала на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» создана и успешно развивается специализированная коллекция вирусов и бактерий, патогенных для человека (далее — Коллекция). Коллекция функционирует на базе лаборатории биобезопасности с коллекцией патогенных микроорганизмов. Фонд коллекции пополняется эталонными вирусными и бактериальными культурами и оригинальными изолятами с измененными генетическими свойствами, выделенными от пациентов, из природных резервуаров на территории Республики Беларусь, стран СНГ, некоторых стран Африки, а также рекомбинантными плазмидами. Сотрудниками Коллекции выполняются работы по пополнению и сохранению единого фонда патогенных микроорганизмов, обеспечению контроля за соблюдением требований порядка учета и обращения штаммов патогенных микроорганизмов в стране; хранению и поддержанию исходных свойств штаммов микроорганизмов I–IV групп патогенности; организации молекулярно-генетической экспертизы в случае возникновения угроз биологической опасности.

В рамках выполнения задания программы ЕврАзЭС отработаны условия культивирования вновь выделенных штаммов микроорганизмов, патогенных для человека. Разработан новый образец паспорта штамма, ведется инвентаризация штаммов патогенных микроорганизмов, имеющихся в центре. Определен алгоритм скрининга штаммов. Коллекция пополнена 80 штаммами вирусов и бактерий, патогенных для человека. Подготовлен документ по гармонизации правил депонирования. Проведена государственная регистрация информационного ресурса «Специализированная коллекция вирусов и бактерий, патогенных для человека» в Государственном регистре информационных ресурсов Республики Беларусь (рег. свидетельство № 1761203264 от 21.11.2012).

Постановлением Совета Министров Республики Беларусь «Об объявлении коллекций генетических ресурсов растений, штаммов грибов, вирусов и бактерий

научными объектами, которые составляют национальное достояние» № 1152 от 14.12.2012 «Специализированная коллекция вирусов и бактерий, патогенных для человека» зарегистрирована в Государственном реестре научных объектов, которые составляют национальное достояние, под № 9.

Направления дальнейших исследований включают формирование коллекционного фонда штаммов микроорганизмов, патогенных для человека, циркулирующих на территории республики; оптимизацию способов длительной консервации микроорганизмов; систематизацию сведений о культурах, создание базы данных, депонирование штаммов микроорганизмов для целей патентной процедуры; продолжение работы по достижению целевых показателей, установленных в основных направлениях деятельности коллекции.

*Область применения:* коллекционирование патогенных микроорганизмов.

*Рекомендации по использованию:* разработка стратегии коллекционирования патогенных микроорганизмов.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по указанной тематике.

#### **Specialized collection of pathogenic viruses and bacteria - the national property of Belarus**

*L.M. Rustamova, A.G. Krasko,*

*T.S. Ermakova, S.F. Semenov, N.L. Bogdanova,*

*T.A. Ablova, V.A. Gorbunov*

There are presented the results of assignment 1.2 of the subprogram 1 "Innovative Biotechnology in Belarus" in the international target program of the Eurasian Economic Community "Innovative Biotechnology" for 2011–2015. The significance of pathogenic microorganisms collection in the field of infectious diseases control is shown.

*Field of application:* collecting of pathogenic microorganisms.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.98:579.882]-07

#### **Способ детекции *Chlamydia trachomatis* на твердофазном аналитическом носителе с использованием флуоресцентных иммуномагнитных микросфер**

*Л.В. Рубаник, А.Н. Асташонок,*

*Г.К. Жавнерко, А.А. Квасюк, Н.Н. Полещук*

**Рубрика: 76.29.50**

*НИР:* «Разработать технологию получения функционально-активных наночастиц и сконструировать тест-систему для выявления персистентных форм хламидийной инфекции».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2014 г.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф. Н.Н. Полещук, канд. хим. наук Г.К. Жавнерко.

*Организация-соисполнитель:* ГНУ «Институт химии новых материалов» НАН Беларуси.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать способ детекции *Ch. trachomatis* в биоматериале с использованием конъюгатов иммуномагнитных частиц, содержащих флуоресцентную CdSe/ZnS метку.

Для исследования использовали соскобный материал пациентов с хламидийной инфекцией, а также образцы клинического материала пациентов, в котором наличие *Ch. trachomatis* не было подтверждено ни культуральным методом, ни результатами ПЦР. В качестве положительного контроля был взят штамм *Ch. trachomatis* СТ-869 — депонент В-04/2012 от 10.10.2012. Специализированной коллекции вирусов и бактерий ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии». В качестве отрицательного контроля использовали интактную культуру клеток McCoy.

Для детекции возбудителя применяли синтезированные композиционные частицы размером ~2 мкм, которые представляли собой водорастворимые магнитные микросферы (ММС), покрытые полисилоксановым слоем. Частицы обладали люминесцентными свойствами за счет введения в полимерный слой магнитного ядра полупроводниковых CdSe/ZnS нанокристаллов. Для придания композиционным частицам функциональных характеристик их оболочку активировали биотинилированными противохламидийными антителами. Реакцию проводили на поверхности «микрочипа». В качестве твердофазного носителя «микрочипа» применяли стандартные луночные стеклянные планшеты. Поверхность планшетов подвергали химической очистке и модифицировали путем иммобилизации в лунки антител к *Ch. trachomatis*. Учет результатов осуществляли на флуоресцентном микроскопе типа «Nikon E50i» (Япония).

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6.0. За уровень статистической значимости принимался  $p < 0,05$ .

В результате серий экспериментов отработаны различные подходы пробоподготовки инфекционного биоматериала, обеспечивающие более полный выход во внеклеточное пространство элементарных, ретикулярных и промежуточных частиц *Ch. trachomatis*. Показано, что предварительная обработка культуральной жидкости, содержащей штамм *Ch. trachomatis* СТ-869, 2% раствором тритона X-100 приводила к статистически достоверному увеличению количества хламидийных частиц ( $U = 159,0$ ;  $r_s = 0,64$ ;  $p = 0,5$ ) во внеклеточной среде по сравнению со стандартным методом пробоподготовки (раздельное центрифугирование).

Продемонстрирована результативность использования иммуномагнитных частиц в качестве «носителей» для концентрирования возбудителя. Отмечено успешное селективное связывание композиционными ММС *Ch. trachomatis* (штамм СТ-869) из культуральной среды не только при использовании цельного (неразведенного) хламидия-содержащего биоматериала, но и при разведениях пробы 1:2 и 1:4 ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Дополнительно в параллельных пилотных исследованиях показана эффективность использования синте-

зированных композиционных частиц и сконструированного твердофазного «микрочипа» для детекции *Ch. trachomatis* в пробах соскобного материала, полученного от пациентов с урогенитальной патологией. Композиционные частицы селективно связывались с возбудителем на «микрочипе» только в тех биопробах, в которых его наличие было подтверждено культуральным методом или ПЦР. В то же время при исследовании контрольных образцов — интактной культуры клеток McCoy — не отмечалось сорбции частиц на «микрочипе».

Таким образом, использование композиционных иммуномагнитных частиц с флуоресцентной меткой позволяет селективно извлекать и детектировать *Ch. trachomatis* в пробах биологического материала и перспективно для создания нанотехнологической диагностической тест-системы.

*Область применения:* микробиология, лабораторная диагностика.

*Рекомендации по использованию:* конъюгаты иммуномагнитных частиц, содержащих флуоресцентную метку, могут быть использованы в качестве носителей для концентрирования и иммуномагнитной сепарации различных морфотипов частиц *Ch. trachomatis*, создания высокочувствительных и специфичных методов лабораторной диагностики хламидийной инфекции.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по созданию меченных нанокомпозиционных частиц для обнаружения различных антигенов *Ch. trachomatis*.

#### **Method of *Chlamydia trachomatis* detection on the solid-phase analytical carrier using fluorescent immunomagnetic microspheres**

*L.V. Rubanik, A.N. Astashonok, G.K. Zhavnerko,  
A.A. Kvasuk, N.N. Poleschuk*

There was developed the prototype of the analytical sensor carrier — "microchip", which helps to carry out the presence of *Ch. trachomatis* in the samples of biological material using conjugates of immunomagnetic microspheres. Modification of magnetic beads with biomolecules and immobilization on their surface of anti-chlamydial antibodies increased the capacity of magnetic "carrier". The presence of fluorescent label increased the sensitivity of the immunofluorescence method. The obtained experimental data indicate the possibility of detection of *Ch. trachomatis* on the analytical "microchip".

*Field of application:* microbiology, laboratory diagnosis.

*Recommendations for use:* conjugates of fluorescent immunomagnetic microspheres may be used as carriers for separation and concentration of different morphotypes of *Ch. Trachomatis*; the creation of highly sensitive and specific methods for laboratory diagnosis of chlamydial infection.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.98:578.823.9]-097-07

#### **Тест-система для определения антител классов А, G, М к ротавирусам методом иммуноферментного анализа**

*В.Г. Гудков, А.С. Вириная*

**Рубрики: 76.03.41; 76.35.33**

*НИИР:* «Разработать диагностические препараты, провести молекулярно-эпидемиологический и серологический мониторинг в отношении ротавирусной инфекции».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. В.Г. Гудков.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Известно, что иммунитет является важнейшим механизмом защиты от инфекции, поэтому изучение особенностей и контроль состояния коллективного иммунитета при ротавирусной инфекции (РВИ) является неотъемлемой частью системы эпидемиологического надзора за этой инфекцией.

Максимальное значение титра иммуноглобулинов класса IgM можно обнаружить к 10–14-му дню от начала заболевания, в течение последующих 6–10-ти недель титр постепенно снижается. В эти же сроки после инфицирования выявляются и секреторные иммуноглобулины класса IgA. Антитела класса G появляются в конце первой недели заболевания, достигают своего максимума через 3–4 недели и сохраняются длительное время. При повторном инфицировании в крови практически одновременно появляются иммуноглобулины всех трех классов, обуславливая развитие относительно легкой формы заболевания.

Серологический мониторинг традиционно направлен на изучение коллективного иммунитета в отношении возбудителей инфекции. Данные об иммуноструктуре населения к возбудителю позволяют судить о реальной распространенности инфекции, выявлять незащищенные (неиммунные) контингенты, прогнозировать эпидемические подъемы и спады заболеваемости, определять эффективность применяемых вакцин и результативность вакцинации, однако этому препятствует отсутствие соответствующих коммерческих лекарственных средств в отношении РВИ.

*Цель* — разработка тест-системы иммуноферментной комбинированной для определения антител классов А, G, М к ротавирусам.

Тест-система предназначена для определения антител классов А, G, М к ротавирусам в сыворотках крови и слюне. Она представляет собой набор, состоящий из 16 компонентов, планшета иммунобиологического, липкой ленты и инструкции по применению. Тест-система рассчитана на проведение 288 исследований: по 96 исследований на каждый из 3 классов антител. Срок годности тест-системы — 1 год с даты изготовления.

Принцип действия тест-системы основан на т. н. ме-

тоде захвата антител (capture assay), являющемся наиболее эффективным методом детекции специфических иммуноглобулинов, и состоит в следующем. Лунки планшета для иммунологических реакций сенсibiliзируются гетерологичными иммуноглобулинами против тяжелых цепей одного из классов иммуноглобулинов человека (IgA, IgG, IgM). Затем вносится исследуемая сыворотка или слюна. Содержащиеся в сыворотке или слюне иммуноглобулины классов IgA, IgG, IgM связываются с сорбированными антителами к ним после чего добавляется культуральный ротавирусный антиген. При наличии в исследуемых образцах противоротавирусных антител соответствующего класса в лунках планшета образуется иммунный комплекс из всех внесенных иммунобиологических компонентов. Последующее внесение противоротавирусного иммунопероксидазного конъюгата приводит к специфическому взаимодействию с иммунным комплексом. Это проявляется в окрашивании субстрат-индикаторного раствора, добавленного в лунки. Напротив, в случае отсутствия антител определяемого класса к ротавирусам в исследуемой пробе иммунный комплекс в лунке не образуется, что проявляется отсутствием окрашивания субстрат-индикаторного раствора. Степень окрашивания определяется спектрофотометрически при длине волны измерения 450 нм, фоновой волны — 620 нм.

Разработанная тест-система позволит контролировать структуру и напряженность коллективного иммунитета к ротавирусам, оценивать эффективность вакцинации, уточнять этиологию ОКИ. Коммерческих аналогов этого лекарственного средства в настоящее время нет. Государственную регистрацию тест-системы планируется завершить в 2013 г.

*Вид патентной защиты:* патент РФ № 1687613 от 19.12.2009; патентовладелец — РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

*Область применения:* эпидемиология ротавирусной инфекции.

*Рекомендации по использованию:* серологический мониторинг за ротавирусной инфекцией.

*Предложения по сотрудничеству:* изготовление и поставка тест-системы по заказу любыми партиями; реализация по конкурентным ценам, совместные исследования с использованием тест-системы.

### **The enzyme immunoassay test system for detection of A, G, M class antibodies to rotavirus**

*V.G. Gudkov, A.S. Virinskaya*

The developed enzyme immunoassay test system helps to control the structure and intensity of collective immunity to rotaviruses, to evaluate the effectiveness of vaccination, and to clarify the etiology of acute intestinal infections.

*Field of application:* epidemiology of rotavirus infection.

*Recommendations for use:* implementation of serological monitoring of rotavirus infection.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 57.082.4:578.7

### **Технология культивирования особо опасных вирусов для сохранения коллекции**

*А.Г. Красько, Л.М. Рустомова,  
С.Ф. Семенов, Н.Л. Богданова*

**Рубрики: 76.03.41; 76.03.43**

*НИИР:* «Разработать и внедрить современные технологии, направленные на создание и сохранение коллекции микроорганизмов, патогенных для человека и животных».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. А.Г. Красько.

*Источник финансирования:* госбюджет.

В связи с нарастающим антропогенным воздействием на природу, представляется необходимым не только изучение биоразнообразия микроорганизмов на всех уровнях — видовом, популяционном, клеточном и т. д., но и разработка методов его сохранения.

Эволюционные процессы, происходящие в микробных популяциях, приводят к ухудшению экологической ситуации. Это объясняется следующими факторами:

- особенностями природных условий нашей страны (наличие лесов, озер, болот), что приводит к распространению природно-очаговых заболеваний (клещевой энцефалит, ЛХМ, ГЛПС, болезнь Лайма, бешенство и т. д.);
- прохождение через территорию страны путей миграции различных видов птиц создает условия для появления экзотических для страны возбудителей заболеваний: вируса Западного Нила и т. д.;
- географическое положение страны — центр Европы, на перекрестке миграционных потоков населения, а также изменения в социальном поведении людей создает условия для расширения списка возбудителей инфекционных заболеваний человека.

В практическом плане для контроля над ситуацией важная роль принадлежит работам по сбору и сохранению патогенных микроорганизмов и созданию коллекции национального уровня, которая располагает культурами патогенных микроорганизмов, циркулирующих в природе. Методология коллекционирования патогенных микроорганизмов во многом определяет результаты последующих этапов решения научных и практических вопросов в инфектологии. В теории и практике коллекционирования патогенных микроорганизмов очень важно определить методы выделения и поддержания микроорганизмов для сохранения их природного разнообразия.

В технологии культивирования особо опасных вирусов нами определены следующие моменты. Исходным материалом для восстановления вирусов 1–2 групп патогенности явились либо 10% суспензия инфицированной ткани мозга белых мышей в растворе Хенкса, осветленная центрифугированием при 3000 об/мин в течение 20 мин, либо культуральная вирус-содержащая жидкость. Это должен быть генетиче-

ски однородный материал с точной историей пассажей. Для культивирования вирусов использовали пассивируемые клеточные линии: почки африканской зеленой мартышки — Vero, Vero E6; почки эмбриона свиньи — СПЭВ, выращенные в пластиковых матрицах (Sigma, USA). В качестве поддерживающей применяли среду MEM (Sigma, USA), содержащую 10 мМ NEPES; 0,075% NaHCO<sub>3</sub>; 2% эмбриональной телячьей сыворотки, прогретой при 56°C в течение 30 мин и 100 мкг/мл гентамицина-сульфата. Учитывая основные закономерности репродукции вирусов в клеточных линиях, для восстановления и накопления вирусного материала подбирали наиболее подходящую линию клеток и низкую множественность инфицирования вирусами, порядка 0,1–0,01 БОЕ/кл. Исследования выполнены с арена- и филовirusами: Ласса (штамм Josiah), ЛХМ (штамм W54), Марбург (штамм Воедж), Эбола (штамм Заир), резистентным штаммом вируса Ласса; альфа- и флавивirusами: клещевого энцефалита (КЭ) (штамм 2140), Западного Нила (ЗН) (штамм 48-ЗН (Тремля)), денге I и III типа, венесуэльского энцефаломиелиита лошадей (ВЭЛ) (штамм 230), в серии экспериментов *in vitro* в которых происходит эффективное размножение и накопление вирусного материала. Зараженные вирусами клеточные линии инкубировали при 37°C. Максимальные величины титров вирусов выявлены на 3–4-е сут экспозиции для вирусов Ласса и ЛХМ и 5–7-е сут экспозиции для вирусов Марбург и Эбола. Нами определена инфекционная активность вирусного материала по способности формировать негативные колонии (бляшки) под агарозным покрытием (S-признак). При размножении вирусов Ласса и ЛХМ негативные колонии достигали в размере 1–1,5 мм и появлялись на 5–6-е сут. Вирусы Эбола и Марбург при размножении в культурах клеток Vero E6 формировали бляшки от 0,7–1 мм, которые появлялись на 6–7-е сут. Подтверждение подлинности восстановленных после хранения штаммов вирусов оценивали с помощью реакции непрямой иммунофлуоресценции с контрольными иммунными сыворотками пациентов, содержащими антитела к восстановленным вирусам, любезно предоставленные доктором McCormik. По литературным данным, большинство альфавирусов в течение 2-х сут дают выраженное ЦПД. При заражении флавивirusами ЦПД обычно развивается медленнее, начиная с третьего или четвертого дня после заражения клеточных культур. В наших исследованиях при инфицировании 24-часовой культур клеток СПЭВ и Vero E6 наблюдали выраженный цитопатический эффект только вируса ВЭЛ.

При инфицировании клеток СПЭВ и Vero E6 вирусами КЭ, ЗН, денге III типа цитопатических проявлений в культуре клеток не наблюдали, однако, наличие репродуцирующегося вируса КЭ и ЗН в культуре клеток подтверждали с помощью реакции непрямой иммунофлуоресценции или выявлением РНК при постановке ПЦР со специфическими праймерами.

В культуральной жидкости определяли инфекционную активность вирусов методом бляшек под агарозным покрытием на монослой клеток Vero E6. При получении исходного вирусного материала для коллекции прово-

дили 2–3 пассажа вирусов в перmissive клеточных линиях. При этом инфекционная активность достигала 5–7 lg БОЕ/мл, что является достаточным для последующей лиофилизации и длительного хранения. Наиболее оптимальными режимами хранения вирусосодержащего материала признано хранение при низких температурах (-20°C, -70°C), а в жидком азоте, лиофильно высушенными. Способы хранения подбирали индивидуально с учетом особенностей вирусного материала.

Полученные результаты с полной уверенностью показывают, что сформированная устойчивая оптимальная схема функционирования коллекции должна включать в себя все необходимые элементы, гарантирующие поддержание в жизнеспособном состоянии культуры патогенных микроорганизмов.

Все коллекционные работы по освежению культур микроорганизмов проводились поэтапно в изолированных боксах, исключающих внесение посторонних возбудителей. Разработанный алгоритм коллекционирования особо опасных вирусов направлен на сохранение исходных биологических свойств у поддерживаемых в лабораторных условиях конкретных культур.

*Область применения:* коллекционирование особо опасных вирусов.

*Рекомендации по использованию:* технология культивирования особо опасных вирусов.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по указанной тематике.

#### **Cultivation technology of viral special pathogens for collection preservation**

*A.G. Krasko, L.M. Rustamova, S.F. Semenov,  
N.L. Bogdanova*

In the paper the study on cultivation technology of viral special pathogens is presented.

*Field of application:* collection of viral special pathogens.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.995.1:616.34-008.39]-008.816

#### **Технология седиментационного выделения яиц гельминтов и цист простейших из клинического материала**

*Л.В. Скрипова*

**Рубрика: 76.03.45**

*НИИР:* «Разработать технологию седиментации клинического материала для повышения эффективности лабораторной диагностики паразитарных заболеваний».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р биол. наук, проф. Л.В. Скрипова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

В связи с тем, что подавляющее большинство гельминтов и простейших в половозрелой стадии у человека обитают в желудочно-кишечном тракте, мочеполовой системе, верхних дыхательных путях и связанных

с ними органах (печень, желчный пузырь, поджелудочная железа, мочевой пузырь, трахея, бронхи), наиболее распространёнными при диагностике являются микроскопические методы исследования.

Непременным условием полноценной лабораторной диагностики паразитарных болезней является высокий уровень методики исполнения исследований.

Была поставлена задача — разработать технологию седиментации для обнаружения возбудителей паразитарных заболеваний в клиническом материале — моче, мокроте, копроматериале.

При разработке технологии седиментации были учтены, входящие в состав мочи, мокроты, копроматериала физические и химические элементы (консистенция, рН, жиры, слизь, мышечные волокна, растительная клетчатка, эпителиальные клетки, кислоты, ферменты), которые способствуют сокрытию яиц гельминтов, цист простейших. С учетом многих факторов присущих исследуемому материалу экспериментально были подобраны химические реагенты. Работа проводилась с использованием культуры яиц аскарид и цист лямблий.

Проведен поиск оптимальных объемов объектов исследования и химических реагентов. За основу были взяты искусственно обсемененные яйцами аскарид и цистами лямблий клинический материал. Готовили суспензию, доводя до гомогенной массы. В дальнейшем для выделения патогенов вносили в суспензию соответствующие химические реагенты.

В ходе экспериментальных исследований получены следующие результаты:

- определен состав реагентов, установлены оптимальные объемы клинического материала;
- в соответствии с плотностью дисперсной фазы и дисперсионной среды для выделения возбудителей из мочи, мокроты и копроматериала определены оптимальные условия, которые получены при воздействии реагентов (кислот, формалина, сульфатов цинка, меди и диэтилового эфира);
- с целью предотвращения разрушения оболочек яиц и цист в качестве фиксатора предложен 10% раствор формалина;
- для устранения в мокроте слизи, вязкости и обезжиривания с нейтрализацией наилучшим реагентом предложен 10% NaOH;
- рассчитано количественное соотношение объема реактивов к исследуемой массе, способствующее усилить отделение возбудителей от жидкости в суспензии;
- установлено, что соляная кислота в концентрации 19% разрушает растительную клетчатку и мышечные волокна в копроматериале, что способствует выделению возбудителей;
- для фракционирования материала и выделения возбудителей в осадок использовался диэтиловый эфир;
- на основе полученной технологии седиментации материала на три фракции, было достигнуто выделение возбудителей паразитарных заболеваний в осадочный слой.

Разработанная технология седиментации для выделения возбудителей паразитарных заболеваний показала, что определенный состав химических реагентов, установленные оптимальные объемы и условия позволили получить высокие результаты выделения возбудителей.

*Вид патентной защиты:* патент № 9445 от 22.10.2007; патентовладелец — ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии».

Преимущество по сравнению с лучшими отечественными и зарубежными аналогами: эффективность разработанной технологии седиментации 96%.

*Область применения:* паразитарные болезни.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Sedimentation technology for detection of helminth eggs and protozoa cysts in clinical material**

*L. V. Skripova*

The technology of sedimentation of urine, phlegm, faeces sample preparation for separation of helminth eggs and protozoa cysts was developed as a result of experimental studies using chemical reagents and pathogens culture. There was developed the method of simultaneous detection of eggs of trematodes, nematodes, cestodes and cysts, protozoa oocysts.

УДК 616.15-008.853.3-097:616.517]:575.117.2

### **Экспрессия генов иммунной системы мононуклеарами периферической крови под воздействием лизатов *Candida albicans***

*М.В. Левченя, Л.П. Титов*

**Рубрика: 76.03.43**

*НИИР:* «Разработать и внедрить тест-систему для выявления аутоантител к кератиноцитам у пациентов с дерматозами».

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси Л.П. Титов.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Псориаз характеризуется нарушением пролиферации и дифференциации кератиноцитов, сосудистой гиперплазией и инфильтрацией мононуклеаров в места поражения. Предполагается, что микробные ассоциации (стрептококков, стафилококков, дрожжей) и продукты их секреции могут являться триггерами развивающейся иммуновоспалительной реакции при псориазе. Изучение процессов, происходящих в культурах иммунокомпетентных клеток при воздействии различных факторов, является общепринятым методическим подходом и важно для установления механизмов и понимания роли данных факторов в процессах роста, дифференцировки и ответной реакции клеток.

*Цель* — исследовать спектр и уровень экспрессии генов иммунной системы мононуклеарами пери-

ферической крови (МПК) под воздействием лизатов *Candida albicans* выделенных из бляшек пациентов с псориазом.

Для решения поставленной задачи использовали методы выделения РНК из культуры мононуклеаров периферической крови с последующей постановкой реакции обратной транскрипцией и мечением полученной кДНК. Далее кДНК гибридизировали на биочипе содержащем 652 гена с последующем сканированием и оценкой экспрессии генов. Статистический анализ и обработку проводили в пакете Microsoft Office 2010.

В результате исследована экспрессия 652 генов мо-

нонуклеарами крови под влиянием лизатов *Candida albicans* с помощью ДНК-биочипа. Число генов, достоверно меняющих экспрессию ( $p < 0,05$ ) в 1,5 и более раз в сравнении с контролем, составило 121 (84 — выше контрольного значения и 37 генов — ниже контрольных значений). Наибольшие изменения обнаружены в генах, ответственных за клеточный цикл, пролиферацию и апоптоз ( $n = 37$ ), сигнальные пути и цитокины ( $n = 39$ ). Также изменения обнаружены в генах, участвующих в процессах В- и Т-клеточного иммунитета (29) и клеточной адгезии (16).

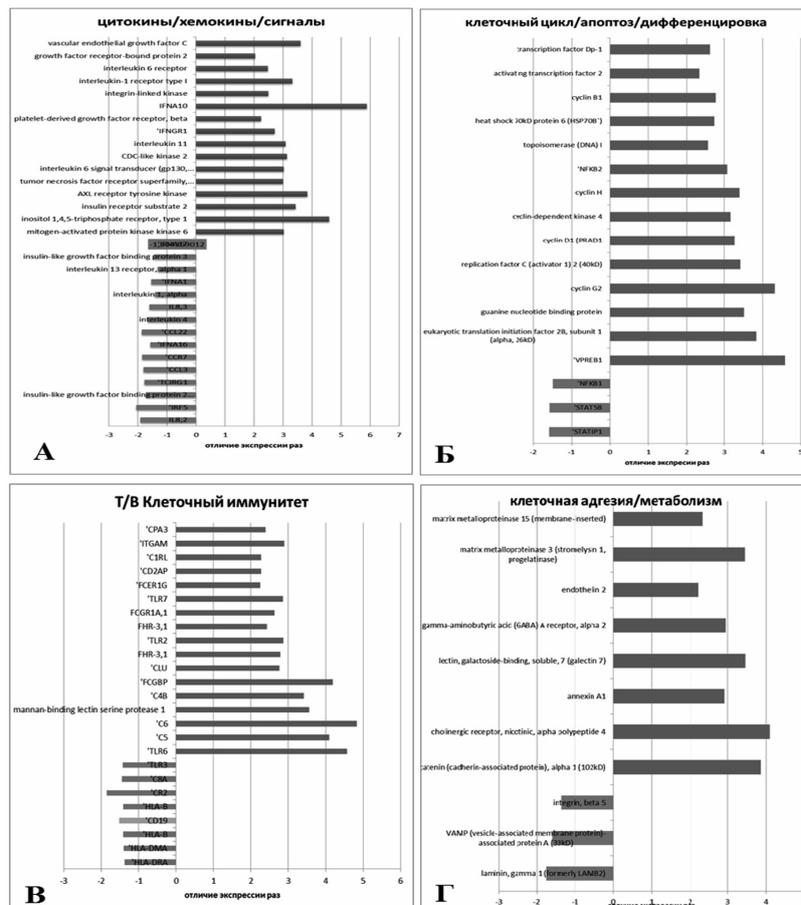


Рис. Экспрессия генов мононуклеарными лейкоцитами под действием лизатов дрожжей *Candida albicans* в сравнении с контролем

В группе генов цитокинов, хемокинов и их рецепторов (рисунок А) выявлена повышенная экспрессия мононуклеарами ряда противовоспалительных цитокинов и их рецепторов: IL-1, IL-6, IL-11, интерферона альфа рецептора, фактора некроза опухолей TNF $\alpha$  и некоторых других, что связано, по нашему мнению, с активацией CD4<sup>+</sup> клеток под действием лизатов дрожжей. Усиливается экспрессия мононуклеарами инсулинового рецептора, эндотелиального фактора роста сосудов под действием лизатов дрожжей, снижается экспрессия IL-1, IL-13 рецептора, хемокинов CCR3 и CCR 7.

В группе генов клеточного цикла апоптоза и дифференцировки изменения (рисунок Б) экспрессии кос-

нулись транскрипционных факторов NKFB2, DP-1, активатора транскрипции, фактора репликации С, ключевых белков клеточного цикла циклинов H, B1, G2. Снижена экспрессия фактора NFKB1, STAT5B. Как правило, данные гены активируются под действием ростовых факторов и цитокинов.

В группе генов, связанных с Т/В клеточным иммунитетом (рисунок В), выявлена активация Toll-like рецепторов TLR2, TLR6 и TLR7 мононуклеарными лейкоцитами под действием лизатов дрожжей *Candida albicans*. Toll-like рецепторы ответственны за взаимодействие клеток с антигенами микроорганизмов, а активация TLR2 рецептора сигнализирует о присутствии

грибных липопротеинов и липотейхоевых кислот. Снижена экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-B, HLA-DMA, HLA-DRA, участвующих в презентации антигена клетками.

Среди генов клеточной адгезии и метаболизма (рисунков Г) выявлена повышенная экспрессия васкулярного эндотелина и белка аннексина 1 мононуклеарами периферической крови под действием лизатов *Candida albicans*. Экспрессия металлопротеиназ 3 и 15 мононуклеарными лейкоцитами увеличивается в  $3,4 \pm 0,52$  и  $2,64 \pm 0,84$  раз соответственно под действием лизатов дрожжей.

**Выводы.** Метод биочипов, представленный в работе на примере изучения экспрессии генов МПК при взаимодействии с лизатами *Candida albicans*, показал достаточную эффективность и информативность. Среди молекул с отличающейся экспрессией мононуклеарами периферической крови стоит отметить TNF $\alpha$ , IL-6, annexin A, HSP70, IL-2, IL-4, IL-11, TLR2, TLR6 и TLR7, эндотелиальный фактор роста, белок эндотелин, Jak-STAT белки, активаторы транскрипции и клеточного цикла NKFB2 и циклины циклины H, B1, G2. Данные гены являются маркерными и могут служить для оценки влияния микробных антигенов на популяцию мононуклеаров периферической крови.

*Область применения:* клиническая лабораторная диагностика.

*Предложения по сотрудничеству:* проведение совместных исследований с заинтересованными.

**Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear leukocytes under the *Candida albicans* lysates stimulation**

*M.V. Levchenya, L.P. Titov*

The interaction mechanisms of pathogens with mononuclear cells are not quite clear. The aim of this study was to explore the genes of human peripheral blood mononuclear cells in response to lysates *Candida albicans in vitro*. The analysis of gene expression was carried out with custom e-chip (ArrayIT, USA) containing 652 known genes. The greatest changes were found in the genes responsible for cell cycle, proliferation and apoptosis ( $n = 37$ ), the signaling pathways and cytokines ( $n = 39$ ), the genes involved in B-cell and T-cell immunity ( $n = 29$ ) and cell adhesion ( $n = 16$ ). We identified certain genes having up and down regulation, which might serve as a marker of disease activity.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «МАТЬ И ДИТЯ»

УДК 618.3/4-084/085.851

**Новые технологии психотерапевтической и медикаментозной коррекции патологии прелиминарного периода***А.Н. Барсуков, И.В. Курлович, М.В. Белуга,  
Р.Н. Демидова, В.В. Римашевский***Рубрики: 76.29.48; 76.29.52**

*НИИР:* «Разработать комплексный метод подготовки к родам беременных женщин с патологическим течением прелиминарного периода с использованием новых технологий психотерапевтической и медикаментозной коррекции, позволяющий снизить частоту акушерских, перинатальных осложнений и оперативных родоразрешений».

*Сроки выполнения НИИР:* ноябрь 2010 г. — сентябрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук А.Н. Барсуков.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать метод подготовки к родам беременных с патологическим течением прелиминарного периода с использованием новых технологий психотерапевтической и медикаментозной коррекции, позволяющих снизить частоту оперативных родоразрешений.

Коррекция патологии прелиминарного периода включает следующие этапы:

1. Нормализация психоэмоционального состояния беременной:

а) установление особого контакта между психотерапевтом и пациентом;

б) ослабление напряженности на начальной стадии, основанное на способности пациента обсуждать свою проблему с психотерапевтом;

в) расширение репертуара когнитивных схем на основе выявленных индивидуальных психологических защит;

г) изменение поведения пациента за счет нового эмоционального опыта, полученного в общении с психотерапевтом;

д) приобретение социальных навыков на модели поведения психотерапевта;

е) убеждение и внушение (явное или скрытое);

ж) усвоенное или осознанное отношение к новым формам поведения, осуществляемое при эмоциональной поддержке со стороны психотерапевта.

Сущность предлагаемого метода заключается в том, что беременные с патологическим прелиминарным периодом имеют клинически значимый уровень тревоги и/или депрессии (выше 30 баллов по шкале тревоги Шихана и выше 15 баллов по шкале депрессии Бека), который может блокировать деятельность адаптивной информационно-перерабатывающей системы. В результате отрицательных эмоций, перенапряжения ЦНС ослабевает функциональная активность коры, снижается порог к болевым ощущениям. В этих случаях аф-

фективные, соматовегетативные и поведенческие реакции не получают своего адаптивного разрешения. В результате негативные эмоции, образы, ощущения и представления вызывают сильный душевный и физический дискомфорт.

Непосредственно перед родами нарастает тревога, проявлением которой может быть гиперактивность беременной, желание ускорить события. Метод направлен на коррекцию страхов, установление эмоционально значимой связи между матерью и ребенком, гармонизацию телесного и психического аспектов личности женщины.

Лечение начинается с блока когнитивных методов, направленных на процессы осознания, на мыслительные процессы. Проводится информирование беременной о родах, послеродовом периоде, что вносит в представления женщины ясность и конкретность, позволяет опредметить генерализованную тревогу. По мере информирования пугающие моменты становятся рационально осознанными. Знания разрушают мифы, окружающие саму беременность и роды, вселяют чувство уверенности. В ходе работы участницам рекомендуются книги, периодические издания, освещающие актуальные вопросы по беременности и родам. Осуществляется просмотр видеофильмов, посвященных темам, которые чаще всего вызывают тревогу. В данном процессе использован принцип эмоционального сопереживания, который позволяет беременным опосредованно делать выводы о собственных ситуациях, получать ответы на волнующие вопросы. Проводится анализ имеющихся и возможных ситуаций в ходе беседы. В случае актуальных проблемных ситуаций психотерапевт помогает установить причинно-следственные связи в поведении. Кроме того, участницы программы рассматривают возможные ситуации, что позволяет научиться видеть ситуацию изнутри, разбирать мотивы поведения различных сторон.

На втором этапе ведется работа с использованием блока поведенческих методов. Акцент сделан на перекоординацию неэффективных и формирование новых моделей поведения. К данному блоку относятся ролевые игры. Пример: беременной предлагается представить себя в актуальной на данный момент роли. Женщины получают опыт переживания состояния материнства, моделируют собственное поведение в отношении ребенка, анализируют эффективность различных моделей родительского поведения.

Частота сеансов — ежедневно, при общем количестве от 2 до 3.

Оценка лечения производится путем повторного заполнения опросника, включающего шкалу тревоги Шихана и шкалу депрессии Бека до родов и на 2–3-е сут после родов.

2. Коррекция сократительной активности матки до достижения оптимальной биологической готовности к родам  $\beta$ -адреномиметиками и антагонистами кальция, нестероидными противовоспалительными лекарствен-

ными средствами: инфузии гексопреналина 10 мкг в 0,9% растворе натрия хлорида; верапамил 80 мг внутрь за 30 мин до гексопреналина; ибупрофен 400 мг перорально.

3. Регуляция суточного ритма сна и отдыха (медикаментозный сон в ночное время суток или при утомлении): лекарственные средства бензодиазепинового ряда (диазепам 10 мг 0,5% раствора внутримышечно); ненаркотические анальгетики (анальгин 50% — 4 мл); антигистамины (хлоропирамин 20–40 мг внутримышечно); спазмолитики (дротаверин 40 мг внутримышечно или внутривенно 0,9% раствора натрия хлорида);

4. Профилактика внутриутробной гипоксии плода (инфузии 500 мл 5% раствора глюкозы + аскорбиновой кислоты 5% — 5–10 мл, депротейнизированный гемодериват из крови молочных телят 400 мг внутривенно капельно).

5. Терапия, направленная на «созревание» шейки матки: простагландин-Е2 (динопростон 0,5 мг интрацервикально, 1,0 мг вагинально).

При патологическом прелиминарном периоде и оптимальной биологической готовности к родам при доношенной беременности показана медикаментозная стимуляция родов и амниотомия.

*Область применения:* акушерство и гинекология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут применяться в родовспомогательных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* организационно-методическая и консультативная помощь.

#### **New technologies of psychotherapeutic and medical treatment of the preliminary period pathology**

*A.N. Barsukov, I.V. Kurlovich, M.V. Beluga,  
R.N. Demidova, V.V. Rimashevskiy*

There were examined 107 patients in order to provide differentiated psychological and psychiatric help to pregnant women with abnormal preliminary period on the basis of complex diagnostics of mental and emotional state. The developed method of psychotherapeutic correction of abnormal preliminary period reduces the incidence of operative delivery and improves the outcomes of pregnancy and childbirth for mother and fetus.

*Field of application:* obstetrics, gynecology.

*Offers for cooperation:* organizational, methodological and advisory assistance.

УДК 618.344-001.48:618.3/4

#### **Особенности течения беременности и родов у женщин с отслойкой хориона в I триместре беременности**

*A.H. Barsukov, B.L. Семенчук, Т.П. Ващилина*

**Рубрика:** 76.29.48

*НИР:* «Разработать и внедрить комплексный метод ведения беременности у женщин с частичной отслойкой хориона в I триместре беременности, позволяющий снизить частоту преждевременных родов,

заболеваемость новорожденных и репродуктивные потери».

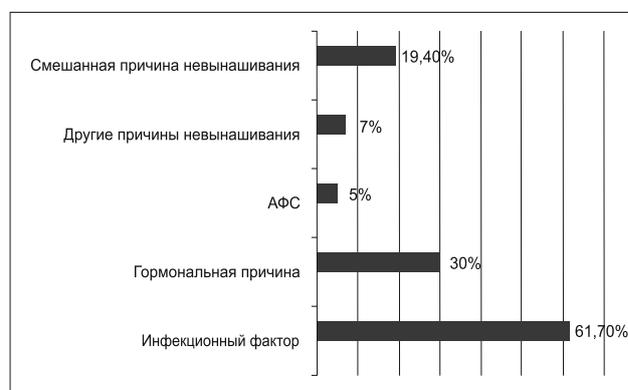
*Сроки выполнения НИР:* январь 2013 г. — декабрь 2015 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. А.Н. Барсуков.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать и внедрить комплексный метод ведения беременности у женщин с частичной отслойкой хориона в I триместре беременности, позволяющий снизить частоту преждевременных родов, заболеваемость новорожденных и репродуктивные потери.

Для достижения поставленной цели изучены 89 исходов беременности и родов у женщин, имевших в анамнезе отслойку хориона в I триместре (основная группа), и 32 случая беременности и родов женщин без указанной патологии (группа сравнения) в период 2010–2012 гг. Возраст беременных в основной группе составил от 19 до 46 лет (в среднем  $28,1 \pm 3,8$  года), в группе сравнения — от 24 до 34 лет (средний возраст  $27,6 \pm 3,1$  года). У всех пациенток беременность была одноплодной и наступила самостоятельно без использования методов вспомогательных репродуктивных технологий. Угроза невынашивания беременности в I триместре у женщин основной группы проявлялась жалобами на боли внизу живота (77 случаев, или 86,1%) и кровянистыми выделениями (47, или 52,2%). У 35 беременных (38,9%) основной группы наблюдалось сочетание жалоб. В группе сравнения угрозы невынашивания беременности в I триместре не диагностировано. При УЗИ у женщин с отслойкой хориона выявлено, что средний срок беременности составил  $8,3 \pm 1,6$  недели, что соответствовало регрессу желтого тела. Средний копчиковый размер составил  $19,8 \pm 12,8$  мм; локализация хориона по передней стенке была диагностирована в 36 случаях (40,6%), по задней — в 33 случаях (37,2%), в 20 случаях прикрепление хориона наблюдалось у дна матки (22,2%). Максимальный объем выявленной гематомы составил 51 мм<sup>3</sup>. Удельный вес причин невынашивания беременности в основной группе представлен на диаграмме.



**Рис. Удельный вес причин невынашивания беременности в основной группе**

При анализе причин невынашивания первое место занимает инфекционный фактор — 55 случаев (61,7%). Из них по числу диагностированных случа-

ев первое место занимает условно-патогенная микрофлора (грамположительные палочки  $\leq 10^3$ , *Candida spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *enterococcus fecalis*, *Esherichia coli*, *Staf. epidermidis*). В последующем потеря беременности произошла у 8 женщин основной группы (9%), из них неразвивающаяся беременность диагностирована у 2 женщин (2,2%), самопроизвольный поздний выкидыш произошел в 2 случаях. В 4 случаях (4,4%) выявлены врожденные пороки развития плода при медико-генетическом скрининге в 12 недель и произведено прерывание беременности по медицинским показаниям.

Во II триместре 67 женщин (75,3%) из основной группы находились на стационарном лечении по поводу угрозы прерывания беременности. В группе сравнения угроза невынашивания беременности во II триместре, требующая стационарного лечения, диагностирована у 3 женщин (9,4%;  $p < 0,01$ ). В III триместре по поводу угрозы преждевременных родов было госпитализировано 18 женщин из основной группы (10%), ИЦН развилась у 7 пациенток (8%). У 21 женщины (11,7%) основной группы диагностирована хроническая фетоплацентарная недостаточность, осложнившаяся в 8 случаях (8,9%) синдромом задержки развития плода (СЗРП). У 81 пациентки (91%) основной группы беременность закончилась родами: срочные роды произошли в 72 случаях (88,9%), средний срок гестации при родоразрешении составил  $38,9 \pm 0,7$  недели, преждевременные — в 7 случаях (8,6%). Роды через естественные родовые пути произошли у 53 женщин (65,4%), в 28 случаях (34,6%) — путем операции кесарево сечение. Показания к оперативному родоразрешению были следующие: хроническая фетоплацентарная недостаточность в стадии субкомпенсации и декомпенсации, гестоз, аномалии развития половых органов, отсутствие эффекта от родоиндукции и центральное предлежание плаценты. В группе сравнения все женщины родоразрешены в сроке доношенной беременности: через естественные родовые пути — 82,2% (26 случаев), путем операции кесарево сечение — 18,8% (6 случаев). Средняя масса детей, рожденных от матерей обеих групп, не имела значимых различий и составила  $3267,4 \pm 474$  и  $3285,5 \pm 355$  г соответственно ( $p > 0,05$ ). Оценка по шкале Апгар у детей в основной группе на 1-й мин была достоверно ниже, чем в группе сравнения ( $7,7 \pm 0,6$  и 8,0 баллов,  $p < 0,05$ ), на 5-й мин достоверных различий не зарегистрировано —  $8,0 \pm 0,4$  и  $8,3 \pm 0,5$  балла соответственно.

Анализ морфогистологических исследований показал, что центральное прикрепление пуповины в группе сравнения встречалось достоверно чаще, чем в основной группе: 18 (85,7%) и 14 (30,4%) случаев соответственно,  $p < 0,05$ . Патология прикрепления пуповины в основной группе диагностирована в 32 случаях (69,6%), из них краевое прикрепление пуповины — в 18 случаях (39,1%), оболочечное прикрепление — в 2 (2,2%), эксцентричное — в 10 случаях (21,7%). В группе сравнения эксцентричное прикрепление пуповины выявлено в 3 случаях (14,3%,  $p < 0,01$ ).

**Выводы.** Анализ исходов беременности и родов у женщин с отслойкой хориона в I триместре свидетельствует, что наиболее частой причиной угрозы прерывания беременности, сопровождавшейся отслойкой хориона, являлся инфекционный фактор, обусловленный условно-патогенной микрофлорой. У женщин с отслойкой хориона в I триместре наиболее частыми осложнениями в течение беременности являются: угроза преждевременных родов и хроническая фетоплацентарная недостаточность, осложнившаяся синдромом задержки развития плода, что требует стационарного лечения. При морфологическом исследовании последов выявлена высокая встречаемость патологии прикрепления пуповины (69,9% случаев).

**Область применения:** акушерство, перинатология.

**Рекомендации по использованию:** результаты исследования могут применяться в родовспомогательных учреждениях здравоохранения.

**Предложения по сотрудничеству:** организационно-методическая и консультативная помощь.

#### **Analysis of pregnancy in women with chorionic detachment in the first trimester of pregnancy**

*A.N. Barsukov, V.L. Semenchuk, T.P. Vaschilina*

There were analyzed 89 pregnancies in women with a history of chorionic detachment in the 1st trimester. The analysis in this group of women showed that the most frequent cause of threatened abortion in the 1st trimester associated with the detachment of chorion, was the infectious factor due to pathogens. This demonstrates the need for a more thorough examination of women for the presence of infection while pregnancy planning. It is necessary to identify the pathogens and opportunistic microorganisms at this stage.

**Field of application:** obstetrics, perinatology.

**Offers for cooperation:** consultative assistance, joint research.

УДК 577.124.8:618.3/4

#### **Анализ исходов беременности и родов у женщин с нарушениями углеводного обмена**

*Л.А. Секержицкая, Р.Л. Коршикова<sup>1</sup>,  
В.В. Римашевский<sup>2</sup>, Р.Н. Демидова*

**Рубрика: 76.29.48**

**НИИР:** «Разработать комплексную программу организационно-методических и лечебных мероприятий по снижению неблагоприятных исходов беременности и родов для матери и плода у женщин с эндокринной патологией (сахарным диабетом 2 типа, гестационным сахарным диабетом, метаболическим синдромом)».

**Сроки выполнения НИИР:** январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

**Научный руководитель:** канд. мед. наук, доц. А.Н. Барсуков.

**Организации-соисполнители:** <sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», <sup>2</sup>ГУО «Бе-

лорусская медицинская академия последипломного образования».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — оценка гестационного процесса и связанных с ним особенностей исходов беременности у женщин с нарушениями углеводного обмена.

Для достижения поставленной цели было проведено клиничко-лабораторное и функциональное обследование 30 беременных с сахарным диабетом 2 типа (СД2), 70 — с гестационным сахарным диабетом (ГСД), 50 — с метаболическим синдромом (МС), 50 здоровых беременных.

Беременные с ГСД в 32% случаев получали инсулинотерапию, у 68% беременных нарушения углеводного обмена корригировались диетой. Все беременные с СД2 (100%) получали инсулинотерапию.

Группу беременных с МС составили женщины с верифицированным диагнозом «артериальная гипертензия» и «экзогенно-конституциональное ожирение». Все пациентки проконсультированы врачом-кардиологом для адекватной коррекции артериальной гипертензии.

При изучении состояния маточно-фетоплацентарной системы в I и II триместре беременности достоверных различий не зарегистрировано.

Наибольшее количество осложнений в III триместре беременности встречается в группе пациенток с МС, где одновременно отмечалось несколько нозологических форм осложнений. Хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФПН) встречалась в 16 раз чаще, чем в группе сравнения, угроза прерывания беременности — в 2 раза, поздний гестоз — в 16 раз, инфекция мочеполовой системы — в 8 раз чаще. Поздний гестоз, маловодие, многоводие, гипотрофия, макросомия плода в группе сравнения не встречались ( $p < 0,01$ ). В группе женщин с СД2 ХФПН встречалось в 15 раз чаще, чем в группе сравнения, инфекция мочеполовой системы — в 5 раз ( $p < 0,01$ ). У женщин с ГСД ХФПН встречалось в 7 раз чаще, чем в группе сравнения, угроза прерывания беременности — в 2 раза чаще, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ).

Продолжительность гестации в группе женщин с СД2 составила  $262,6 \pm 2,27$  дня, в группе женщин с ГСД —  $269,2 \pm 1,20$  дня, у беременных с МС —  $257,5 \pm 3,93$  дня, у беременных группы сравнения —  $273,1 \pm 1,61$  дня. Выявлены достоверные различия между обследуемыми группами и группой сравнения ( $p < 0,05$ ).

У беременных группы сравнения все роды были срочными (100%). Преждевременные роды в сроке 34–36 недель зарегистрированы у 2 беременных с СД2 (8,3%), у 2 беременных с ГСД (3,1%), у 5 беременных с МС (9,6%). У 2 женщин с МС преждевременные роды зарегистрированы в сроке 26–30 недель и в 1 случае (2%) в сроке 32 недели.

Беременные с СД2 в 29,1% (7) случаев, беременные с ГСД в 25,0% (16) случаев, женщины с МС в 37,2% (16) случаев были родоразрешены путем операции кесарево сечение. В группе сравнения оперативное родоразрешение составило 12%. Показаниями для операции у женщин группы сравнения служили неполноценность

рубца на матке, ХФПН, усугубившаяся в родах, и слабость родовой деятельности. В обследуемых группах показания для операции кесарево сечение были сочетанными.

Наличие у беременных пациенток нарушений углеводного обмена определило не только патологическое течение беременности, но и обусловило высокий риск серьезных осложнений при любом виде родоразрешения. Анестезия и интенсивная терапия включала предоперационную подготовку, методики анестезии и интенсивную терапию раннего послеродового периода.

Принципы обязательной предоперационной подготовки включали коррекцию углеводного обмена, коррекцию нарушений сердечно-сосудистой системы и почечной дисфункции, а также профилактику и лечение инфекционных осложнений.

Методом выбора анестезии явились регионарные методики при кесаревом сечении и при родах через естественные родовые пути.

Эффективное ведение послеродового/послеоперационного периода основывалось на адекватном обезболивании и элементах технологии fast-track анестезии с быстрой реабилитацией, активизацией и ранним энтеральным питанием.

Таким образом, частота неблагоприятных исходов беременности и родов в группе пациенток с метаболическим синдромом в 1,5 раза выше по сравнению с группой беременных с сахарным диабетом 2 типа и в 9 раз выше по сравнению с группой беременных с гестационным сахарным диабетом, что связано с развитием акушерских осложнений и досрочным родоразрешением. Отсутствие случаев материнской и перинатальной смертности обусловлено мультидисциплинарным подходом при организации помощи беременным с нарушениями углеводного обмена. Дальнейшее улучшение исхода беременности и родов связано с полной компенсацией осложнений беременности и родов и внедрением современных методов лечения и клиничко-диагностического контроля нарушений углеводного обмена, методик анестезии и интенсивной терапии при родоразрешении. Состояние новорожденных определяется качеством ведения беременности, предродовой подготовки, родоразрешения и анестезиологического пособия.

*Область применения:* акушерство и гинекология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут применяться в родовспомогательных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* организационно-методическая и консультативная помощь.

### **The course of pregnancy and reproductive outcomes in women with carbohydrate metabolism disorders**

L.A. Sekerzhitskaya, <sup>1</sup>R.L. Korshikova, <sup>2</sup>V.V. Rimashevskiy, R.N. Demidova

<sup>1</sup>Belarusian State Medical University,

<sup>2</sup>Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education

There was done the analysis of outcomes of pregnancy and childbirth in women with glucose metabolism disorders.

The identified complications of pregnancy indicate that the most common adverse outcomes of pregnancy and childbirth are observed in the group of women with metabolic syndrome. Pregnancy complications in women with metabolic syndrome are 1.5 times more often than in the group of pregnant women with type 2 diabetes mellitus and 9 times more often than in the group of pregnant women with gestational diabetes, which is associated with early delivery.

*Field of application:* obstetrics, gynecology.

*Offers for cooperation:* organizational, methodological and advisory assistance.

УДК 616.811-053.32]-084

### Программа профилактики тяжелых поражений ЦНС у новорожденных с очень низкой массой тела при рождении

*Т.В. Гнедько, А.Н. Витушко*

**Рубрики:** 76.29.48; 76.29.47

*НИИР:* «Разработать и внедрить программу комплексной лучевой диагностики при патологических состояниях у новорожденных и детей раннего возраста».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, доц. Е.А. Улезко, канд. мед. наук, доц. Т.В. Гнедько.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать клинические рекомендации по интенсивному ведению недоношенных новорожденных для предотвращения осложнений со стороны ЦНС.

Для определения факторов риска развития церебральных кровоизлияний и обоснования основных положений программы их профилактики было проведено комплексное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование 60 недоношенных новорожденных с массой тела при рождении менее 1500 г в динамике раннего неонатального периода.

При сравнительном анализе результатов обследования глубоко недоношенных детей получены новые данные об изменении почасовых параметров респираторной поддержки в соответствии с показателями кислотно-основного состояния артериальной крови и значениями инвазивного артериального давления, регистрация, оценка и коррекция которых позволит предупредить развитие церебральной патологии. Кроме этого, были выявлены уровни общего белка и альбумина, а также лактата, знание которых позволяет прогнозировать развитие перивентрикулярных кровоизлияний (ПВК) тяжелых степеней. На основании полученных данных была разработана программа профилактики тяжелых поражений ЦНС у новорожденных с очень низкой массой тела при рождении, включающая использование в практике интенсивной терапии научно обоснованной технологии непрерывного мониторинга и оценки данных инвазивного артериального давления, способов прогнозирования перивентрикулярных кровоизлияний с помощью доступных параметров гемодина-

мики, а также рутинных лабораторных тестов ( $\text{paco}_2$ ,  $\text{paO}_2$ , уровня лактата, общего белка и альбумина в плазме крови). Кроме этого, программа включает рекомендации по оптимизации респираторной и инфузионно-трансфузионной терапии недоношенных новорожденных при риске развития церебральных кровоизлияний.

Ранний перевод глубоко недоношенных детей на самостоятельное дыхание с СРАР-поддержкой, а также минимизация среднего давления в дыхательных путях при проведении ИВЛ может способствовать предотвращению церебральных кровоизлияний, которые наиболее вероятны при значении МАР более 6,8 mbar.

У недоношенных детей необходимо осуществлять контроль  $\text{PaCO}_2$  и  $\text{PaO}_2$  с обязательной регистрацией максимальных и минимальных значений показателей с целью их экстренной нормализации при респираторной поддержке. Значения  $\text{PaCO}_2$ , значительно выходящие за пределы физиологической нормы ( $\leq 28,7$  и  $> 57,8$  мм рт. ст.), а также их выраженные колебания (более 39 мм рт. ст.) способствуют развитию тяжелых ПВК. Гипероксия более 147 мм рт. ст. является фактором риска прогрессирования ПВК умеренной выраженности до более тяжелых степеней.

Систематическая регистрация максимальной ЧСС более 160 уд./мин за 12-часовой интервал с 24 до 60 ч жизни можно рассматривать как прогностически неблагоприятный клинический признак по развитию ПВК тяжелой степени. Необходимо проводить мониторинг состояния гемодинамики у недоношенных новорожденных с ОНМТ (предпочтительнее инвазивными методами) и не допускать как гипо-, так и гипертензии в раннем неонатальном периоде.

Сохранение потребности в дофамине в дозах 10 мкг/кг/мин и более (особенно в сочетании с адреналином либо норадреналином) в возрасте более 1 сут жизни является прогностически неблагоприятным признаком развития ПВК.

Уровень общего белка  $\leq 40$  г/л и альбумина  $\leq 26$  г/л являются значимыми предикторами развития тяжелых ПВК с лучшим соотношением чувствительности и специфичности для альбумина.

При коррекции гипоальбуминемии у недоношенных с ОНМТ предпочтительней применять концентрированные растворы альбумина (10 и 20%) со скоростями менее 6 мл/кг/ч.

Сочетание таких лабораторных признаков, как АВЕ  $\leq 5$ ,  $\text{HCO}_3^- \leq 20$  ммоль/л, лактат  $> 2,5$  ммоль/л, гликемия  $> 4,5$  ммоль/л при подаче глюкозы в инфузии, не превосходящей гепатический выброс (4 мг/кг/мин), у недоношенного ребенка с ОНМТ в возрасте более 2-х сут жизни свидетельствует о возможности развития церебрального кровоизлияния, что требует коррекции лечебно-диагностических мероприятий.

Подана заявка на патент «Способ прогнозирования церебрального кровоизлияния в первые 168 ч жизни у недоношенного ребенка с очень низкой массой тела при проведении искусственной вентиляции легких» от 29.09.2013.

*Область применения:* неонатология.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования.

### **The program of prevention of severe CNS lesions in infants with very low birth weight**

*T.V. Gnedko, A.N. Vitushko*

There were developed the guidelines for the management of intensive preterm infants to prevent complications in the central nervous system.

*Field of application:* neonatology.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 616.348-002.4-053.32]-073.75

### **Оценка кишечного кровотока у недоношенных новорожденных с риском развития некротического энтероколита**

*T.B. Гнедько, Е.А. Улезко*

**Рубрики:** 76.29.47; 76.29.62

*НИИР:* «Разработать и внедрить программу комплексной лучевой диагностики при патологических состояниях у новорожденных и детей раннего возраста».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, доц. Е.А. Улезко, канд. мед. наук, доц. Т.В. Гнедько.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать дополнительные неинвазивные критерии для прогнозирования и диагностики некротического энтероколита у недоношенных новорожденных.

Некротический энтероколит определяется как неспецифическое воспалительное заболевание, вызываемое инфекционными агентами на фоне незрелости механизмов местной защиты и/или гипоксически-ишемического повреждения слизистой кишечника, склонное к генерализации с развитием системной воспалительной реакции. В период новорожденности наблюдается в 2–16% случаях в зависимости от гестационного возраста, из них 80% составляют недоношенные дети с низкой массой тела при рождении.

Проведено комплексное обследование 37 недоношенных детей с массой тела при рождении  $1557,43 \pm 111,25$  г, включая рентгенографическое и ультразвуковое исследование брюшной полости с доплерографической оценкой кишечного кровотока и регистрацией линейных показателей скоростей в верхней брыжеечной артерии.

При рентгенологическом исследовании у 62% детей отмечалась пневматизация кишечника, у 51% — динамическая кишечная непроходимость, у 35% — жидкость в брюшной полости. Ультразвуковое исследование выявило наличие асцита у 18% незрелых новорожденных и атонию кишечника — у 5%. При доплерографии верхне-брыжеечной артерии максимальная линейная скорость кровотока составила  $61,94 \pm 4,03$  см/с,

минимальная скорость кровотока вдоль оси сосуда —  $15,79 \pm 1,27$  см/с, индекс резистентности —  $0,74 \pm 0,01$ , пульсационный индекс —  $3,12 \pm 0,55$ . При индивидуальном анализе нарушение кровотока было представлено как повышением, так и снижением исследуемых показателей. При этом повышение индекса резистентности было установлено у каждого пятого ребенка (21,8%).

Обследование недоношенных новорожденных с риском развития некротического энтероколита необходимо проводить поэтапно с использованием комплекса клинично-лабораторных методов в сочетании с лучевой диагностикой, включая рентгенографическое и ультразвуковое исследование брюшной полости и забрюшинного пространства, а также доплерографическую оценку показателей кишечного кровотока. Доплерографические изменения верхне-брыжеечной артерии, наряду с рентгенографическими и ультразвуковыми, могут рассматриваться как дополнительные критерии при прогнозировании и диагностике некротического энтероколита у недоношенных новорожденных.

*Область применения:* неонатология.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования.

### **Evaluation of intestinal blood flow in preterm infants with the risk of necrotizing enterocolitis**

*T.V. Gnedko, E.A. Ulezko*

There were developed additional non-invasive criteria for prediction and diagnostics of necrotizing enterocolitis in preterm infants.

*Field of application:* neonatology.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 616.-002+616.9]-085.831-053.31

### **Светотерапия в лечении инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных**

*К.У. Вильчук, Т.В. Гнедько, И.И. Паюк*

**Рубрики:** 76.29.47; 76.29.50

*Инновационный проект:* «Разработать и освоить в производстве фототерапевтический аппарат на основе излучения сверхъярких светодиодов и лазерного источника света для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний новорожденных детей (шифр «Lotos»)».

*Сроки выполнения НИИР:* июль 2011 г. — июнь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. К.У. Вильчук.

*Организация-разработчик:* ГНУ «Институт физики» НАН Беларуси.

*Предприятия-изготовители:* ГНУ «Институт физики» НАН Беларуси, Научно-производственный кооператив «Люзар».

*Источник финансирования:* госбюджет; средства НПК «Люзар».

*Цель* — разработать методику светотерапии при комплексном лечении инфекционно-воспалительных заболеваний новорожденных.

Комплексное лечение проведено новорожденным детям, находившимся на стационарном лечении в специализированном отделении Центра с диагнозом «омфалит».

При проведении сеансов светотерапии использовался режим, включающий воздействие выносным источником красного спектра и длиной волны  $\lambda = 0,650 \pm 0,02$  мкм с расстояния 10 см над околопупочной областью в течение 3 мин 1 раз в день. При наличии фотосенсибилизатора воздействие проводилось выносным источником синего спектра длиной волны  $\lambda = 0,405 \pm 0,02$  мкм на расстоянии 10 см над околопупочной областью в течение 5 мин 1 раз в день. Частота сеансов светотерапии составила от 4 до 7. Размер дефекта пупочной ранки до лечения составил  $Me = 6,5$  (5,5–7,25) мм с глубиной раневой поверхности  $Me = 0,5$  (0,4–0,6) мм. При анализе структуры выделенных микробов с околопупочной области у каждого второго ребенка отмечалось выделение *St. Epidermidis*. Состояние пациентов улучшилось после проведения трех сеансов светотерапии и сочеталось с уменьшением гиперемии, отека тканей локальной области воспаления. К 4-му сеансу площадь пупочной ранки сократилась до  $Me = 0,5$  (0,4–0,6) мм, глубина раневой поверхности уменьшилась до  $Me = 0,2$  (0,1–0,3) мм.

Применение фототерапии источником красного и синего спектра было эффективным при лечении омфалита у новорожденных и рекомендовано для снижения фармакологической нагрузки на организм ребенка.

*Область применения:* неонатология.

*Рекомендации по использованию:* внедрить в практическую работу врачей-неонатологов, врачей-педиатров, иных врачей-специалистов, оказывающих медицинскую помощь новорожденным детям.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования.

### **Light therapy in the treatment of infectious and inflammatory diseases in newborns**

*K.U. Vilchuk, T.V. Gnedko, I.I. Payuk*

There was developed the technique of phototherapy in the complex treatment of infectious and inflammatory diseases in newborns.

*Field of application:* neonatology.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 616.34-003.972:616.33-018.73]-072.1-053.2

### **Метод эндоскопии с оптическим увеличением в диагностике кишечной метаплазии слизистой оболочки желудка у детей**

*Е.В. Ласицкая, К.У. Вильчук, К.Ю. Мараховский, М.Г. Девялтовская*

**Рубрики:** 76.29.47; 76.29.52

*НИР:* «Разработать и внедрить комплексную технологию диагностики кишечной метаплазии слизистой желудка у детей с применением высокотехнологично-

го метода эндоскопии с оптическим увеличением и использованием узковолнового света».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2013 г. — декабрь 2015 г.

*Научные руководители:* канд. мед. наук М.Г. Девялтовская, канд. мед. наук К.Ю. Мараховский.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать и внедрить комплексную технологию диагностики кишечной метаплазии слизистой желудка у детей на основе применения эндоскопии с оптическим увеличением и использованием освещения слизистой узковолновым светом.

Работа выполнялась на базе эндоскопического отделения ГУ «Республиканский научно-практический центр “Мать и дитя”». Обследовано 19 детей в возрасте от 7 до 18 лет с патологией желудка. Всем детям осуществлялось комплексное клиничко-лабораторное обследование, выполнена эндоскопия высокотехнологичным методом «Narrow Band Imagine» (NBI). Характерной особенностью метода эндоскопии с оптическим увеличением и использованием узковолнового света длиной волны 430–450 нм является преимущественное отражение от слоев слизистой примерно на 200 мкм ниже, где располагаются ее микрокапилляры. Исследование выполнялось эндоскопической видеосистемой типа «Olympus» Exera2 в комплекте с видеогастроскопами Gif-Q1602, Gif-M180, Gif-N180. Патоморфологическое исследование биоптата слизистой желудка проведено всем детям.

Эндоскопическое исследование с применением методики NBI проведено у 19 детей. У 8 детей обнаружена измененная микроархитектоника слизистой оболочки желудка, соответствующая пангастропатии с вероятным наличием кишечной метаплазии, которая была подтверждена гистологически. У 9 пациентов определены пангастропатии различной степени тяжести, у 2 детей патологии не обнаружено.

Патоморфологическое исследование биоптата слизистой оболочки желудка выполнено у 19 детей. В 100% случаев обнаружена кишечная метаплазия: у 5 детей она обнаружена впервые при исследовании биоптата слизистой, у 8 выявлена эндоскопически и подтверждена морфологически, у 6 детей определена кишечная метаплазия на фоне хронического атрофического гастрита с различной степенью активности.

Применение метода эндоскопии, который заключается в сочетании оптического увеличения и узковолнового света, рекомендован для раннего выявления очагов кишечной метаплазии слизистой желудка у детей.

*Область применения:* педиатрия, эндоскопическая диагностика.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут применяться в учреждениях здравоохранения педиатрического профиля 3–4 уровней оказания медицинской помощи.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

**Endoscopy with optical zoom in diagnostics of intestinal metaplasia of the stomach mucosa in children**

*E.V. Lasitskaya, K.U. Vilchuk, K.Yu. Marahovsky, M.G. Devyaltovskaya*

There were studied 19 children with the stomach pathology at the age of 7–18. The endoscopic research using NBI was done in 19 children. 8 children had the changed pattern of stomach mucosa which corresponds to pangastropathy with possible intestinal metaplasia, which was proved histologically. In all 19 cases intestinal metaplasia was identified pathomorphologically.

*Field of application:* pediatrics, endoscopy.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616-053.13-007.21:616-053.35]-097

**Состояние клеточного иммунитета у детей с задержкой внутриутробного роста на первом году жизни**

*О.В. Севрук, М.Г. Девялтовская, Л.А. Тимошина*

**Рубрики: 76.29.47; 76.29.52**

*НИР:* «Разработать и внедрить технологию оценки состояния здоровья, обследования и терапии детей с задержкой внутриутробного роста»

*Сроки выполнения НИР:* ноябрь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук М.Г. Девялтовская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать и внедрить технологию обследования, терапии и профилактики заболеваний у детей с задержкой внутриутробного роста (ЗВУР) на основе анализа динамики показателей клинико-иммунологического, элементного и гормонального статуса.

Обследованы 80 доношенных детей с ЗВУР и 30 детей группы контроля. Исследование проводилось на базе Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя». Изучены данные антропометрии при рождении, показатели клеточного иммунитета (CD45+3+, CD3+4+, CD3+8+, CD3-19+, CD3-56+, CD3+56+ CD3+25+, CD3+HLA-DR+) методом проточной цитометрии с применением моноклональных антител.

Дети исследуемых групп достоверно различались по антропометрическим показателям: массе тела (основная группа — 2326±235 г, группа сравнения — 3412±324 г;  $t=15,9$ ,  $p<0,001$ ); длине тела (основная группа — 47±2,0 см, группа сравнения — 52±1,9 см,  $t=10,9$ ,  $p<0,001$ ), окружности головы (основная группа — 32±1,4 см, группа сравнения — 36±4,9 см,  $t=4,4$ ,  $p<0,001$ ) и грудной клетки (основная группа — 30±1,5 см, группа сравнения — 33±1,0 см,  $t=7,8$ ,  $p<0,001$ ). Это подтверждает принадлежность основной группы к детям с ЗВУР и соответствует критериям отбора. Группы были сопоставимы по сроку

гестации (основная группа — 38,3±1,11 недели, группа сравнения — 38,7±0,73 недели,  $p=0,15$ ), полу ( $\chi^2=0,37$ ,  $p=0,54$ ), возрасту матерей (основная группа — 28,1±5,68 года, группа сравнения — 27,4±4,36 года,  $t=0,73$ ,  $p=0,47$ ).

У детей с ЗВУР выявлено снижение абсолютных и относительных показателей клеточного иммунитета в периоде новорожденности: CD45+3+ (менее 77,95% или менее  $3,87 \times 10^9/\text{л}$ ), CD3+4+ (менее 60,95% или менее  $2,86 \times 10^9/\text{л}$ ), CD3+8+ (менее 19,5% или менее  $0,89 \times 10^9/\text{л}$ ), это расценено как наличие Т-клеточного дефицита иммунитета. Снижение абсолютных и относительных показателей клеточного иммунитета CD3-19+ (менее 9,85% или менее  $0,50 \times 10^9/\text{л}$ ) свидетельствовало о наличии В-клеточного дефицита. Количество клеток CD3+ в состоянии раннего апоптоза (окрашенных Annexin+PI-) более 4,8% свидетельствует о дисбалансе клеточного иммунитета у новорожденных.

В 1-й мес. обнаружено снижение абсолютного числа CD45+3+ клеток у детей с ЗВУР за счет абсолютно уменьшения CD3+4+, повышение относительного числа лимфоцитов с антигенами CD3-19+ (критерий Вилкоксона,  $p<0,01$ ). Это произошло благодаря компенсаторному количественному увеличению CD3-19+ эффекторных клеток, которые функционально незрелы и компенсируют свою функциональную несостоятельность количественно. Отмечено снижение абсолютного уровня клеток с фенотипом CD3+25+ у детей с ЗВУР и сокращение их относительного числа в 2 раза, это связано с уменьшением проявлений инфекционно-воспалительного процесса, переносимого в периоде новорожденности. Это является благоприятным клиническим признаком для данной когорты младенцев. Количество Annexin+PI-клеток CD3+ в состоянии раннего апоптоза по-прежнему было высоким, достоверно выше, чем у детей группы сравнения ( $p<0,05$ ).

В 6 мес. выявлено снижение абсолютного числа CD3+25+ клеток в основной группе, что расценено как угнетение иммунитета у детей с ЗВУР. Относительные и абсолютные показатели активации клеток CD3-56+ находились в пределах нормативных значений и не выявили групповых различий ( $p>0,05$ ).

В возрасте 12 мес. отмечены нормальные значения относительного и абсолютного количества клеток с фенотипом CD45+3+, CD3+4+, CD3+8+, CD3-19+ в группах исследования. Не выявлено различий по этим параметрам в группах исследования ( $p>0,05$ ). Относительные и абсолютные показатели активации клеток CD3-56+ и CD3+25+ находились в пределах нормативных значений и не имели групповых различий ( $p>0,05$ ). Показатели раннего апоптоза CD3+ лимфоцитов у детей с ЗВУР оставались выше установленного нормативного уровня с большим значением в группе детей с ЗВУР ( $5,8 \pm 1,86\%$  и  $3,4 \pm 1,34\%$  — группа сравнения,  $p=0,001$ ).

Проведена терапия с использованием лекарственных средств, содержащими интерфероны в составе комплексной терапии у новорожденных с ЗВУР. Использовали лекарственное средство виферон свечи,

150 000 МЕ 2 раза в день ректально в течение 7 дней — новорожденным в возрасте 7-14 дней. В лечебную группу вошли 30 детей с ЗВУР, в группу сравнения 27 детей с ЗВУР. В группах исследования имели место диагнозы: пневмония новорожденного (код P23 по МКБ-10), внутриутробная инфекция без дополнительного уточнения (P37.9), назофарингит (j00), омфалит новорожденного (P38). После коррекции иммунного статуса в лечебной группе произошло увеличение относительного и абсолютного числа лимфоцитов с фенотипом CD3-19+ до нормального уровня: с 10,6 (8,5; 16,5) до 25,8 (20; 29,3)%, критерий Вилкоксона  $p=0,0003$ ; с 0,6 (0,4; 0,9) до 1,1 (0,8; 1,73)  $\times 10^9$ /л, критерий Вилкоксона  $p=0,008$ . В лечебной группе в результате применения лекарственных средств, содержащих интерфероны, произошла нормализация относительного и абсолютного показателей Т-хелперов с фенотипом CD3+4+ (группа сравнения 64,3 $\pm$ 1,43%,  $p=0,03$  и 3,2 $\pm$ 1,3  $\times 10^9$ /л,  $p=0,02$  соответственно), нормализация относительного числа CD3+56+клеток (группа сравнения 0,2 $\pm$ 0,03%,  $p=0,04$ ) и относительного числа маркеров активации лимфоцитов CD3+HLA-DR+ (группа сравнения 1,1 $\pm$ 0,26%,  $p=0,04$ ). По сравнению с группой сравнения выявлено снижение доли клеток, вступивших в ранний апоптоз, у детей лечебной группы (группа сравнения 4,8 $\pm$ 2,8%,  $p=0,01$ ).

Анализ результатов дает основание для следующего заключения: для младенцев с ЗВУР характерны иммунодефицитные состояния по клеточному звену иммунитета, высокие показатели раннего апоптоза CD3+клеток в возрасте 5-6 дней, 1, 6 и 12 мес.

Использование в комплексной терапии детей с ЗВУР лекарственных средств, содержащих рекомбинантные интерфероны (виферон), приводит к повышению уровня лимфоцитов с фенотипом CD3-19+, нормализации Т-хелперов CD3+4+, НКТ-клеток, маркеров поздней активации лимфоцитов CD3+HLA-DR+ и показателя раннего апоптоза лимфоцитов. Рекомендуется применение рекомбинантных интерферонов в комплексной терапии инфекционно-воспалительных заболеваний новорожденных с ЗВУР.

*Область применения:* неонатология, педиатрия.

*Рекомендации по использованию:* обследование и терапия детей с ЗВУР в возрасте до 1 года на этапе амбулаторно-поликлинической помощи рекомендуются в практике учреждений здравоохранения педиатрического профиля 2–4 уровней оказания медицинской помощи в Республике Беларусь.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Cell immunity in infants with intrauterine growth retardation during the first year of life**

*O.V. Sevruk, M.G. Devyaltovskaya, L.A. Timoshina*

There was determined the immune status (rate of CD45+3+, CD3+4+, CD3+8+, CD3-19+, CD3-56+, CD3+56+ CD3+25+, CD3+HLA-DR+) in 80 infants with intrauterine growth retardation (IUGR) and 30 infants of the control group. The main result of this investigation was

the determination of immunodeficiency of cell immunity and a high level of CD3+cells in early apoptosis during the first year of life in children with IUGR.

There was used medicine with recombinant interferon in the complex therapy of children with IUGR. As a result there was marked the increasing level of CD3-19+ cells, normalization of the CD3+4+, CD3+HLA-DR+ and NKТ-cells, and CD3+ cells in early apoptosis (Annexin+PI-). It was recommended to use the medicine with recombinant interferon in the treatment of infectious diseases in children with IUGR.

*Field of application:* neonatology, pediatry.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.831-07-053.31

#### **Дополнительные критерии диагностики энцефалопатии новорожденных**

*А.А. Криштафович, М.Г. Деялтовская*

**Рубрики: 76.29.47; 76.29.52**

*НИИР:* «Разработать и внедрить технологию ранней диагностики приобретенных заболеваний почек и мочевыводящих путей у новорожденных и детей грудного возраста с поражением нервной системы».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2013 г. — декабрь 2016 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. К.У. Вильчук.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — установить дополнительные критерии диагностики энцефалопатии новорожденных (ЭН).

Исследование выполнялось в ГУ «Республиканский научно-практический центр “Мать и дитя”». Обследовано 146 доношенных новорожденных детей, которые были разделены на две исследуемые (I, II) и группу сравнения. В I группу включено 62 ребенка с основным клиническим диагнозом «ЭН гипоксически-ишемического генеза средней степени тяжести». Во II группу включен 41 ребенок с основным клиническим диагнозом «ЭН гипоксически-травматического генеза средней степени тяжести». Группу сравнения составили 43 здоровых новорожденных ребенка.

Клинический осмотр включал в себя определение неврологического статуса. Постановку неврологического диагноза и оценку степени тяжести заболевания у детей проводили согласно «Инструкции по клинической диагностике энцефалопатии новорожденных и родовой черепно-мозговой травмы» (Шанько Г.Г., Шишко Г.А., Улезко Е.А., 2003) на основании анамнестических данных о течении ante-, интранатальных периодов, триплексного сканирования головного мозга, подтверждения факта гипоксии и ацидоза при исследовании кислотно-основного состояния и газов крови.

Статистическая обработка данных проводилась методами вариационной статистики с использованием программ STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc.). Достовер-

ность различий распределения пациентов в сравниваемых группах определяли, используя критерий  $\chi^2$ , или точный двусторонний критерий F-Фишера, в зависимости от значений абсолютных частот. Вычисляли показатель относительного риска (ОР) развития патологии, 95% доверительный интервал (ДИ). При проверке статистических гипотез значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

Установлено, что этиологический фактор энцефалопатии влиял на распределение новорожденных в зависимости от выраженности нистагма в покое в возрасте 5–14-ти сут ( $\chi^2 = 49,28$ ;  $p < 0,001$ ). Результаты сопоставления показателя в исследуемых и группе сравнения приведены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение новорожденных с гипоксически-ишемической и гипоксически-травматической энцефалопатией в зависимости от выраженности нистагма в покое в возрасте 5–14-ти сут

Группа	Число новорожденных Выраженность нистагма			
	отсутствие нистагма	низко- амплитуд.	средне- амплитуд.	постоян- ный
I	5 (8,1%)	26 (41,9%)	29 (46,8%)	2 (3,2%)
II	1 (2,4%)	9 (22,0%)	29 (70,7%)	2 (4,9%)
Сравнения	19 (44,2%)	19 (44,2%)	5 (11,6%)	0
Достоверность различий				
I и группа сравнения	$\chi^2 = 18,79$ $p < 0,001$	–	$\chi^2 = 14,32$ $p < 0,001$	–
II и группа сравнения	$F = 0,24$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 4,67$ $p = 0,031$	$\chi^2 = 30,43$ $p < 0,001$	–
I и II	–	$\chi^2 = 4,39$ $p = 0,036$	$\chi^2 = 5,76$ $p = 0,016$	–

Среднеамплитудный нистагм в покое встречался у детей I и II групп достоверно чаще, чем у детей группы сравнения в возрасте 5–14-ти сут. При этом у новорожденных II группы частота встречаемости среднеамплитудного нистагма в покое была достоверно увеличена по сравнению с аналогичным показателем у детей I группы. На основании значений таблицы 1 был рассчитан показатель ОР развития ЭН в возрасте 5–14-ти сут, составивший 1,8 (95% ДИ: 1,4–2,4) у детей I группы; 3,6 (95% ДИ: 2,1–5,9) — у детей II группы.

Установлено, что этиологический фактор энцефалопатии влиял на распределение новорожденных в зависимости от отсутствия реакции сосредоточения в возрасте 5–14-ти сут ( $\chi^2 = 36,85$ ;  $p < 0,001$ ). Результаты сопоставления показателя в исследуемых и группе сравнения приведены в табл. 2.

Таблица 2

Распределение новорожденных с гипоксически-ишемической и гипоксически-травматической энцефалопатией в зависимости от отсутствия реакции сосредоточения в возрасте 5–14-ти сут

Группа	Число новорожденных	
	наличие сосредоточения	отсутствие сосредоточения
I	19 (30,7%)	43 (69,3%)
II	4 (9,8%)	37 (90,2%)
Сравнения	31 (72,1%)	12 (27,9%)
Достоверность различий		
I и группа сравнения	$\chi^2 = 17,49$ $p < 0,001$	
II и группа сравнения	$\chi^2 = 33,56$ $p < 0,001$	
I и II	$\chi^2 = 6,21$ $p = 0,013$	

Реакция сосредоточения отсутствовала у детей I и II групп достоверно чаще по сравнению с детьми группы сравнения в возрасте 5–14-ти сут. При этом частота отсутствия реакции сосредоточения у новорожденных II группы была достоверно выше, чем у детей I группы. На основании значений таблицы 2 был рассчитан показатель ОР развития ЭН в возрасте 5–14-ти сут, составивший 2,1 (95% ДИ: 1,4–3,0) у детей I группы; 6,6 (95% ДИ: 2,6–16,8) — у детей II группы.

Таким образом, установлены дополнительные диагностические критерии гипоксически-ишемической и гипоксически-травматической ЭН в возрасте 5–14-ти сут: наличие среднеамплитудного нистагма в покое (I группа ОР — 1,8; II группа ОР — 3,6) и отсутствие реакции сосредоточения (I группа ОР — 2,1; II группа ОР — 6,6). В гипоксически-травматической группе у детей очаговые нарушения более выражены.

*Область применения:* педиатрия, детская неврология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут применяться в учреждениях здравоохранения педиатрического профиля.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### Additional criteria for diagnostics of neonatal encephalopathy

A.A. Krishtafovich, M.G. Devyaltovskaya

The study included 62 children with the diagnosis «Neonatal encephalopathy of hypoxic-ischemic genesis of moderate severity» (I group), 41 children with the diagnosis «Neonatal encephalopathy of hypoxic-traumatic genesis of moderate severity» (II group) and 43 healthy newborn children (control group). There were developed the additional diagnostic criteria for hypoxic-ischemic and hypoxic-traumatic encephalopathy: the presence of average-amplitude nystagmus (I group RR — 1.8; II group RR — 3.6) and the lack of concentration reaction (I group

RR — 2.1; II group RR — 6.6). In hypoxic-traumatic group of children the focal violations were more pronounced.

*Field of application:* pediatrics, neurology.

*Recommendations for use:* the results of the study can be applied in pediatric health care.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.24-002.5-053.2]-039.36

### Прогрессирование латентной туберкулезной инфекции у детей

Л.А. Горбач

**Рубрики:** 76.29.53; 76.29.47

*НИР:* «Разработать и внедрить в практику программы профилактики и новые методы улучшения переносимости и повышения эффективности химиотерапии туберкулеза у детей и подростков».

*Сроки выполнения НИР:* 01.01.2010 — 31.12.2012.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. К.У. Вильчук.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Латентная туберкулезная инфекция (ЛТИ) — это состояние, характеризующееся наличием положительных реакций на туберкулин при отсутствии клинико-лабораторных и рентгенологических признаков локального туберкулеза. Пациенты с ЛТИ составляют резервуар для появления новых случаев активного туберкулеза. Эффективное лечение ЛТИ предупреждает переход ее в клинически манифестную форму, способствует снижению заболеваемости, смертности и потерь от этого заболевания. В связи с этим во всем мире, особенно в странах с низкой заболеваемостью туберкулезом, выявление лиц с латентной туберкулезной инфекцией и своевременное проведение профилактики является одной из главных мер по предупреждению и снижению распространения данного заболевания среди населения. Особое значение ЛТИ имеет в детском возрасте. Это обусловлено тем, что дети имеют самый высокий риск перехода латентной туберкулезной инфекции в заболевание, инфицирование детей всегда первично, а инфекционный процесс, как правило, свежий. Дети, по сравнению с взрослыми, имеют больше лет жизни для возможного возникновения заболевания туберкулезом.

*Цель* — изучение 53 случаев прогрессирования латентной туберкулезной инфекции в локальную форму заболевания (туберкулез органов дыхания) у детей.

Для исследования использовались данные из амбулаторных карт пациентов о результатах туберкулинодиагностики и вакцинации БЦЖ, о сопутствующих заболеваниях за все предшествовавшие годы до момента выявления латентной туберкулезной инфекции, ее прогрессирования в туберкулез органов дыхания. Анализировались меры химиофилактики детям в связи с выявлением у них латентной туберкулезной инфекции за вышеуказанный период времени.

Исследование было проведено в двух группах. В первую группу были включены 23 пациента, которые

находились на диспансерном наблюдении в связи с латентной туберкулезной инфекцией и получали превентивное лечение. Вторая группа включала 30 пациентов, которые тоже имели ЛТИ, но не находились на диспансерном наблюдении и не получали химиотерапевтические лекарственные средства до момента выявления туберкулеза органов дыхания.

Средний возраст пациентов обеих групп не отличался между собой. В первой группе он составил  $15,96 \pm 1,36$  года, во второй —  $15,87 \pm 2,11$  года ( $p = 0,86$ ). Не выявлено достоверного различия между группами по полу (Хи-квадрат =  $0,26$  с 1 степенью свободы;  $p = 0,61$ ). В первой группе было 14 мальчиков (60,9%) и 9 девочек (39,1%), во второй — 15 мальчиков и 15 девочек (по 50%).

Проанализирована продолжительность периода от момента выявления латентной туберкулезной инфекции до момента ее прогрессирования в локальный туберкулез. В первой группе средняя продолжительность вышеуказанного периода составила  $7,4 \pm 3,8$  года, во второй —  $5,7 \pm 2,8$  года, различие между группами недостоверно ( $t = 1,85$ ; число степеней свободы = 51;  $p = 0,07$ ). Однако при по пятилетиям (через 5, 10 и 15 лет) получены достоверные различия между сравниваемыми группами (Хи-квадрат =  $7,67$ ; число степеней свободы = 2;  $p = 0,02$ ). Дети, получившие превентивное лечение, чаще всего заболели туберкулезом в более поздние сроки — через 6–10 лет после выявления латентной туберкулезной инфекции. Наибольшее число случаев заболевания туберкулезом в данной группе отмечалось во втором пятилетии — 10 случаев (43,5%). Дети, не получившие превентивное лечение, заболели туберкулезом раньше, т. е. в первые пять лет от момента выявления ЛТИ. В данной группе наибольшее число случаев заболевания было зарегистрировано в первом пятилетии — 18 случаев (60%). Таким образом, при превентивном лечении латентной туберкулезной инфекцией отмечалось снижение риска возникновения заболевания в первые пять лет от момента инфицирования.

Достоверных различий по методу выявления туберкулеза у детей анализируемых групп не выявлено (Хи-квадрат =  $0,001$  с 1 степенью свободы;  $p = 0,979$ ). Большинство детей обеих групп не имели жалоб при выявлении у них туберкулеза органов дыхания. Только у 43,5% детей первой группы и у 40% детей второй группы туберкулез был выявлен по жалобам.

Не получено достоверных различий при сравнении структур клинических форм заболевания в исследуемых группах (Хи-квадрат =  $0,758$  с 1 степенью свободы;  $p = 0,384$ ). В клинической структуре обеих групп преобладали вторичные формы туберкулеза: у 87% детей первой группы и у 73,3% детей второй группы.

Большинство детей обеих групп имели различные сопутствующие заболевания, обострение которых могло способствовать переходу латентной туберкулезной инфекции в туберкулез органов дыхания. Это отмечалось у 87% детей первой и у 93,3% второй группы.

Различие между группами недостоверно: Хи-квадрат =  $0,098$  с 1 степенью свободы;  $p = 0,754$ . Можно предположить, что дополнительные курсы превен-

тивной химиотерапии при обострении сопутствующих заболеваний могли предупредить возникновение туберкулеза органов дыхания у этих детей.

Таким образом, на основании исследований можно сделать вывод, что превентивная терапия при ЛТИ снижает риск возникновения заболевания туберкулезом в первые пять лет от момента инфицирования. Заболевание туберкулезом у детей, получивших превентивную терапию, выявлялось в более поздние сроки от момента инфицирования по сравнению с детьми, не получившими превентивное лечение. Прогрессированию латентной туберкулезной инфекции в туберкулез органов дыхания у детей может способствовать обострение сопутствующих заболеваний.

*Область применения:* фтизиатрия, педиатрия.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования с заинтересованными.

### Progression of latent tuberculosis infection in children

*L.A. Gorbach*

There was carried out the analysis of 53 cases of latent tuberculosis infection in children. Aggravation of associated diseases can promote progression of latent tuberculosis infection in children. Preventive therapy reduces the risk of tuberculosis during the first five years after being infected with *Mycobacterium tuberculosis*.

*Field of application:* phthisiology, pediatrics.

*Offers for cooperation:* consultative assistance, joint research.

УДК 616.155.25:616.839--055.2-053.6

### Динамика агрегационной функции тромбоцитов на фоне коррекции потенциально возможных факторов риска тромботических осложнений у девочек-подростков с соматоформной дисфункцией вегетативной нервной системы

*К.У. Вильчук, Е.Т. Зубовская, И.В. Митрошенко, М.К. Гуцинская, М.Г. Девялтовская*

**Рубрика:** 76.29.47

*НИИР:* «Разработать патогенетически обоснованные подходы к диагностике и лечению антифосфолипидного синдрома у девочек-подростков».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук М.Г. Девялтовская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать комплексную программу диагностики и лечения антифосфолипидного синдрома у девочек-подростков с соматоформной дисфункцией вегетативной нервной системы.

В задачи исследования входило определение агрегационной функции тромбоцитов, показателей коагулограммы и уровня растворимых фибринмономерных комплексов (РКМФ), волчаночного антикоагулянта (ВА), антифосфолипидных антител (АФЛА) и антител

к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 и их значения в формировании антифосфолипидного синдрома (АФС).

Для достижения поставленных задач нами обследованы 250 девочек-подростков в возрасте 12–18 лет с клиническими проявлениями вегетативных расстройств с преимущественным поражением сердечно-сосудистой системы (основная группа) и 50 здоровых девочек-подростков такого же возраста. Всем подросткам проведено клиническое, клинико-лабораторное и инструментальное (ультразвуковое сканирование сердца, ЭКГ, реоэнцефалография и кардиоинтервалография) обследования.

При изучении семейного анамнеза установлено, что у родственников девочек-подростков основной группы наиболее часто встречалась артериальная гипертензия (41,3%), варикозная болезнь (31,5%), ревматические и аутоиммунные заболевания (2,8%), рецидивирующие инсульты и инфаркты (2,7%).

Все (100%) девочки основной группы предъявляли жалобы на головные боли по типу мигрени, нередко с обморочными состояниями, головокружение (51%), кардиалгии и сердцебиение (36%), повышенную раздражительность (34%), нарушение сна (28%). Артериальное давление в 6% случаев у девочек основной группы было выше физиологической нормы, у 49% — ниже физиологической нормы.

Проведено динамическое исследование агрегационной функции тромбоцитов с применением индукторов агрегации (АДФ, адреналин, коллаген).

У 71,15% девочек основной группы изменение функциональных свойств тромбоцитов проявлялось гиперагрегацией тромбоцитов, причем максимальная степень агрегации клеток наиболее выраженной оказалась у 38,5% на индуктор коллаген и у 32,7% на индуктор адреналин. Гиперактивность тромбоцитов и наличие тромбинемии у подростков с вегето-сосудистыми дистониями являются предпосылкой развития тромботических нарушений в системе гемостаза.

Гетерогенность клинических проявлений антифосфолипидного синдрома отсутствие общепризнанных клинических и лабораторных показателей, позволяющих прогнозировать риск тромботических осложнений, существенно усложняет выбор медикаментозной терапии пациентов с признаками АФС.

На основании исследований разработана методика по снижению потенциально контролируемых факторов риска тромбоэмболических осложнений у девочек-подростков.

Из основной группы девочек была выделена подгруппа из 53 подростков, имевших лабораторные критерии АФС (повышенный уровень ВА и/или АФЛА и/или антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1).

В зависимости от агрегационной функции тромбоцитов был разработан лечебный комплекс и проведена коррекционная терапия выявленных нарушений с последующим клинико-лабораторным обследованием.

Комплекс лечения включал: глицин, фолиевую кислоту, пентоксифиллин. Подростки с гиперагрегационным синдромом дополнительно получали ацетилсалициловую кислоту. При пониженной агрегационной

функции тромбоцитов и удлинении латентного периода агрегации из лечебного комплекса был исключен пентоксифиллин. Курс лечения составил 21 день.

Противопоказаний к предложенной терапии у подростков не было.

Через две недели после курса коррекционной терапии было проведено повторное исследование агрегационной функции тромбоцитов. Оказалось, что у 6 девочек (40%) агрегационная функция тромбоцитов нормализовалась, у 5 (33,3%) она была сниженной и у 4 (26,7%) сохранилась повышенной. Уровень РКМФ сохранился повышенным у 2 девочек (6,7%).

Повторное исследование АФЛА и антител к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 было проведено через 12 недель после первичного определения. Антитела к  $\beta_2$ -гликопротеину 1 сохранились повышенными у 2 подростков и находились в пределах 15,01–34,9 МЕ/мл и у одной девочки обнаружен ВА 1,21 ед. (в первоначальном определении ВА составил 0,88 ед.).

Выявление признаков антифосфолипидного синдрома у девочек-подростков с соматоформной дисфункцией вегетативной нервной системы имеет важное прогностическое значение, поскольку предполагает высокий риск тромботических осложнений при наступлении репродуктивного возраста. Гиперактивность тромбоцитов у девочек-подростков с соматоформной дисфункцией вегетативной нервной системы может свидетельствовать о нарушении целостности эндотелиального слоя сосудистой стенки с последующей активацией тромбоцитов и развитием в дальнейшем активации в системе гемостаза. Коррекция выявленных нарушений способствует нормализации функциональной активности тромбоцитов.

*Область применения:* педиатрия, клиническая лабораторная диагностика.

*Предложения по сотрудничеству:* организационно-методическая и консультационная помощь.

**Dynamics of platelet aggregation at the background of correction of potentially possible risk factors of thrombotic complications in teenage girls with somatoform autonomic nervous system dysfunction**

*K.U. Vilchuk, E.T. Zubovskaya, I.V. Mitroshenko, M.K. Guschinskaya, M.G. Devyaltovskaya*

The aim of the study was to determine aggregation of platelets, coagulation parameters, the level of soluble complexes, lupus anticoagulant, antiphospholipid antibodies and antibodies to  $\beta_2$ - glycoprotein 1, and their values in the formation of antiphospholipid syndrome in teenage girls with somatoform dysfunction of the autonomic nervous system.

We studied 250 girls aged 12–18 years with clinical manifestations of autonomic disorders, mainly affecting the cardiovascular system (study group) and 50 healthy girls of the same age.

Determination of antiphospholipid syndrome in teenagers with somatoform autonomic nervous system

dysfunction has an important prognostic value, because it involves a high risk of thrombotic events. Hyperactivity of platelets and the presence of thrombinemia in girls with somatoform autonomic nervous system dysfunction is a precondition for thrombotic disorders in the hemostatic system. The main change in the functional properties of platelets was manifested through hyperaggregation of platelets in 71.15%, with the maximal degree of aggregation was more expressed in 38.5% of patients on the inductor collagen and in 32.7% on the inductor adrenaline .

Correction of violations promoted normalization of platelet function.

**УДК 618.33-007-07**

**Диагностические тест-системы для пренатального скрининга беременных I триместра на аномалии развития плода**

*Н.Б. Гусина, А.В. Зиновик, А.А. Ершова-Павлова, И.В. Наумчик, И.И. Вашкевич<sup>1</sup>, О.В. Свиридов<sup>1</sup>*

**Рубрики: 76.03.39; 76.29.48**

*НИИР:* «Разработать методологию и критерии оценки конструкции и медико-аналитических характеристик набора реагентов для определения свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина (св.бета-ХГЧ) в сыворотке крови человека методами лантанидного иммунофлуориметрического и иммуноферментного анализа для пренатальной диагностики врожденных патологий развития плода»; «Разработать методологию и критерии оценки конструкции и медико-аналитических характеристик набора реагентов для определения белка беременности А (ПАББ-А) в сыворотке крови человека методами лантанидного иммунофлуориметрического и иммуноферментного анализа для пренатальной диагностики врожденных патологий развития плода».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научные руководители:* канд. мед. наук И.В. Наумчик, канд. биол. наук Н.Б. Гусина.

*Организация-соисполнитель:* <sup>1</sup>ГНУ «Институт биоорганической химии» НАН Беларуси.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Наследственные и врожденные заболевания (НВЗ) в мире являются основной причиной мертворождаемости, младенческой и ранней детской заболеваемости и смертности, детской инвалидности. Для подавляющего большинства НВЗ эффективные методы лечения отсутствуют, и основным профилактическим мероприятием по предупреждению рождения детей с тяжелыми формами таких заболеваний являются скринирующие программы пренатальной диагностики беременных с последующей элиминацией пораженных плодов. В Беларуси врожденные пороки развития (ВНР) встречаются с частотой 2–3 случая на 100 родившихся детей, 2 ребенка из 1000 (250–270 детей ежегодно) рождаются с тяжелой хромосомной патологией. Пренаталь-

ный скрининг беременных I триместра осуществляется в республике с 1999 г. и направлен на выявление ВПР и хромосомных нарушений, прежде всего синдрома Дауна. Эффективность пренатального скрининга в Беларуси составляет 88%, при ложноположительных результатах — до 3,3%. По данным литературы, удовлетворительным считается скрининг, который дает не менее 75% положительных результатов и не более 3% ложноположительных.

Пренатальный скрининг включает ультразвуковые исследования и определение в сыворотке крови беременных биохимических маркеров патологии плода — св.бета-ХГЧ и ПАББ-А. Для их определения используются импортные наборы реагентов DELFIA-Free hCG- $\beta$  kit и DELFIA-PAPP-A kit (Perkin Elmer, США). Разработка отечественных аналогов наборов реагентов представляет несомненную актуальность для практического здравоохранения республики.

*Цель* — разработка методологии и критериев оценки конструкции и медико-аналитических характеристик отечественных наборов реагентов для определения св.бета-ХГЧ и ПАББ-А в сыворотке крови человека методами лантанидного иммунофлуориметрического (ЛИФМА) и иммуноферментного анализа (ИФА) для пренатальной диагностики врожденных аномалий развития плода.

Для анализа образцов разрабатываемых наборов реагентов ЛИФМА- и ИФА-св.бета-ХГЧ, ЛИФМА- и ИФА-ПАББ-А была осуществлена выборка проб сывороток крови женщин I триместра беременности в норме и с установленной врожденной патологией развития плода, всего 1342 пробы сывороток. Проведено аналитическое тестирование иммуносорбента — компонента разрабатываемых наборов реагентов, показавшее, что образцы иммуносорбентов и технологии их изготовления могут быть рекомендованы для конструирования тест-систем для определения содержания св.бета-ХГЧ и ПАББ-А в сыворотке крови с целью пренатальной диагностики врожденных аномалий развития плода. По разработанным программам и методикам, проекту ТУ, проекту инструкции по применению проведены технико-лабораторные, сравнительные медико-биологические, предварительные и приемочные медицинские испытания и установлено, что изготавливаемые наборы реагентов позволяют осуществлять количественное определение содержания св.бета-ХГЧ и ПАББ-А в сыворотке крови, имеют высокую корреляцию с импортными аналогами, пригодны для проведения пренатального скрининга беременных I триместра для выявления врожденных аномалий развития плода, соответствуют современным требованиям, предъявляемым к изделиям данного назначения. Определены диапазоны медиан, стандартных отклонений концентраций св.бета-ХГЧ и ПАББ-А в 1310 пробах сывороток крови женщин I триместра с неосложненной беременностью с учетом срока беременности, возраста и веса матери, данных ультразвукового исследо-

вания плода, подготовлен протокол расчетов области нормальных значений этих белков с использованием разрабатываемых наборов реагентов.

Таким образом, исследования показали, что разрабатываемые отечественные наборы реагентов ЛИФМА- и ИФА-св.бета-ХГЧ, ЛИФМА- и ИФА-ПАББ-А по своим техническим характеристикам соответствуют импортным аналогам — наборам реагентов DELFIA-Free hCG- $\beta$  kit и DELFIA-PAPP-A kit (Perkin Elmer, США). Результаты приемочных медицинских испытаний позволили рекомендовать разработанные наборы реагентов к государственной регистрации и серийному выпуску для использования в медицинской практике. Отечественные аналоги подобных реагентов отсутствуют.

*Область применения:* медицинская генетика.

*Рекомендации по использованию:* предотвращение рождения детей с врожденной и наследственной патологией.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Diagnostic test-system for prenatal screening of fetal abnormalities**

*N.B. Gusina, A.V. Zinovik, A.A. Ershova-Pavlova,  
I.V. Naumchik, I.I. Vashkevich, O.V. Sviridov*

Our reagents for detection of free  $\beta$ -hCG and PAPP-A, the markers of fetal development in blood serum correspond to the 1st trimester of gestation. According to their technical characteristics they correspond to the sets of reagents DELFIA-Free hCG- $\beta$  kit and DELFIA-PAPP-A kit (Perkin Elmer, USA). Our reagents LIFMA-free  $\beta$ -hCG, IFA-free  $\beta$ -hCG, LIFMA-PABB-A and IFA-PABB-A were recommended for use in medical practice.

*Field of application:* medical genetics.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.7-007.17:618.393]-07

#### **Спектр системных скелетных дисплазий, сопоставление пренатального и патоморфологического диагнозов у плодов, абортированных по генетическим показаниям в I и II триместрах беременности**

*А.А. Лазаревич, И.В. Новикова, И.В. Наумчик*

**Рубрики: 76.03.39; 76.29.48**

*НИР:* «Разработать и внедрить программу пренатальной диагностики и медико-генетического консультирования при системных скелетных дисплазиях».

*Сроки выполнения НИР:* I кв. 2013 г. — IV кв. 2015 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук И.В. Наумчик.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Системные скелетные дисплазии (ССД) представляют собой генетически гетерогенную группу остеохондродисплазий, включающую, согласно Между-

народной номенклатуре конституциональных нарушений развития костей (2006), 372 заболевания. По суммарным данным популяционная частота ССД в среднем составляет 2–3 случая на 10000, в т. ч. летальных ССД — 1 на 10000.

По данным Белорусского регистра, с 1988 по 2011 гг. популяционная частота ССД составила 1,5 на 10000. Частота ССД может быть недооцененной из-за отсутствия патологоанатомической верификации диагноза. Для пренатальной диагностики особый интерес представляют летальные скелетные дисплазии, приводящие к мертворождаемости и высокой младенческой смертности. Клиническая картина данных нарушений характеризуется широким полиморфизмом, который проявляется различными аномалиями конечностей, грудной клетки, черепа и пороками развития внутренних органов. Ультразвуковая диагностика ССД основана на оценке скелета плода, которая обычно проводится во II триместре беременности. Перевод популяционного скрининга беременных в I триместр и появление ультразвуковых аппаратов с высоким разрешением создают предпосылки как для ранней оценки конечностей плода (первичные центры оссификации в диафизах длинных трубчатых костей начинают визуализироваться с 11 недели беременности), так и для решения

вопроса о прерывании беременности в случае выявления тяжелой инвалидизирующей и некурабельной патологии. Верификация пренатального диагноза должна включать последующее патоморфологическое и рентгенологическое исследование abortированного плода. Критерии ультразвуковой и морфологической оценки скелета плода в ранние сроки беременности до настоящего времени не разработаны.

Материалом послужили 57 плодов, 12 из которых были abortированы в I триместре беременности. Нозологический диагноз ССД установлен на основании патоморфологических, рентгенологических и/или гистологических данных.

Как видно из табл., в целом наиболее распространенными ССД явились несовершенный остеогенез 2 типа, составивший более 42% от всех пренатально выявленных ССД, танатофорная дисплазия 1 типа (26,3%) и диастрофическая дисплазия (7%). Во II триместре также были диагностированы такие редкие патологии, как синдромы Робинова, Жене, омодисплазия, точечная хондродисплазия. У плодов, abortированных с 11-й по 13-ю неделю беременности, доля несовершенного остеогенеза составила 25%, диастрофической дисплазии — 50%, синдрома «коротких ребер – полидактилии» — 50%, ахондрогенеза — 100%, Один случай ССД остался неклассифицированным (материал для исследования доставлен в неполном объеме).

Таблица

Спектр ССД, установленный при патоморфологическом исследовании у плодов, abortированных по генетическим показаниям в I и II триместрах беременности

Вид ССД	Количество плодов			Частота, %
	II триместра	I триместра	Всего	
Несовершенный остеогенез 2 тип	18 (75%)	6 (25%)	24	42,1
Танатофорная дисплазия 1 тип	14 (93,3%)	1 (6,6%)	15	26,3
Танатофорная дисплазия 2 тип	1	-	1	1,8
Диастрофическая дисплазия	2 (50%)	2 (50%)	4	7,0
Кампомелическая дисплазия	3		3	5,3
Синдром «коротких ребер – полидактилии»	1 (Бимера–Лангера)	1 (Маевского)	2	3,5
Спондилококостальная дисплазия	2	-	2	3,5
Ахондрогенез 2 тип	-	1	1	1,8
Точечная хондродисплазия (мезомелического типа)	1	-	1	1,8
Асфиксическая торакальная дисплазия Жене	1	-	1	1,8
Омодисплазия	1	-	1	1,8
Синдром Робинова	1	-	1	1,8
Неклассифицированная ССД	-	1	1	1,8
Всего	45	12	57	100,0

Сравнение пренатального и патоморфологического диагнозов показало, что в большинстве случаев ультразвуковой диагноз у плодов I триместра звучал, как «ССД» без уточнения нозологии. У плодов II триместра нозологический тип ССД был установлен при ультразвуковом исследовании в 44% случаев, в 56% из них

пренатальный диагноз совпадал с патоморфологическим.

Патоморфологическая верификация пренатального диагноза ССД у плодов, abortированных по генетическим показаниям в I–II триместрах беременности, должна быть обязательным этапом пренатальной диа-

гностики, что важно для определения точного прогноза при медико-генетическом консультировании.

*Область применения:* генетика, пренатальная диагностика, патологическая анатомия.

*Рекомендации по использованию:* отделения ультразвуковой диагностики, областные детские патологоанатомические бюро.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь

**The range of systemic skeletal dysplasia, comparison of prenatal and pathologic diagnoses in fetuses aborted on genetic indications in the I and II trimesters of pregnancy**

*A.A. Lazarevich, I.V. Novikova, I.V. Naumchik*

Material: 57 fetuses, 12 of which were aborted in the 1st trimester of pregnancy. There was diagnosed systemic skeletal dysplasia (SSD) based of pathological, radiological and/or histological data. In the 2nd trimester we diagnosed such rare diseases as Robinova, Gene syndromes, omodisplasia, point chondrodysplasia. In the fetuses aborted from 11th to 13th weeks of pregnancy the proportion of imperfect osteogenesis was 25%, dystrophic dysplasia — 50%, the syndrome of "short ribs – polydactyly" — 50%, achondrogenesis — 100%. In the majority of cases the ultrasonic diagnosis in the 1st trimester fetuses sounded as "SSD" without specifying the nosology. In the 2nd trimester fetuses the nosological type of SSD was established by ultrasound in 44% of cases.

Pathological verification of prenatal diagnosis of SSD in fetuses, aborted on genetic indications in the I–II trimesters of pregnancy should be a compulsory step in prenatal diagnostics.

УДК 616-008-056.7-07(476)

**Возможности диагностики редких наследственных болезней обмена в Беларуси**

*Н.Б. Гусина, Т.И. Демидович, А.В. Зиновик, С.О. Мясников, О.Л. Зобикова, Р.Д. Хмель, А.А. Ершова-Павлова, И.В. Наумчик*

**Рубрика: 76.03.39**

*НИИР:* «Разработать и внедрить программу диагностики наследственных болезней обмена с неврологическими и нейродегенеративными нарушениями».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук И.В. Наумчик.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Наследственные болезни обмена (НБО) — обширная группа заболеваний, вносящих существенный вклад в структуру детской заболеваемости, инвалидности и смертности. НБО представляют серьезную медицинскую и социально-экономическую проблему, поскольку приводят либо к летальному исходу, либо к тяжелой инвалидности, сопровождающейся умственной отсталостью, значительно ухудшают качество жизни па-

циентов и требуют больших расходов на лечение и/или социальную опеку. НБО страдает каждый 500 житель планеты. По данным РНПЦ «Мать и дитя», в республике только за последние годы зарегистрировано более 1000 пациентов с такими болезнями. Количество известных нозологических форм НБО приблизилось к 700.

НБО характеризуются неспецифичностью ранней симптоматики и выраженным клиническим полиморфизмом, что затрудняет их диагностику. Фенотипические проявления НБО весьма разнообразны и врач практически любой специальности встречается с этой наследственной патологией. Наиболее частым проявлением НБО являются нарушения со стороны центральной и/или периферической нервной системы.

Нами проведено клиническое и комплексное лабораторное обследование 2550 пациентов с неврологическими нарушениями и подозрением НБО. Методом тандемной масс-спектрометрии определена область нормальных значений содержания аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови, разработан алгоритм интерпретации результатов исследования данных метаболитов. Из группы обследованных лиц выявлено 13 пациентов с органическими ацидемиями; установлены диагнозы очень редких НБО: дефицита глутаматформинотрансферазы, необычной формы дефицита митохондриальной дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной цепи (MCADD) (1 пациент), дефицита дегидрогеназы ацил-КоА со средней длиной цепи (1 пациент), синдрома митохондриальной деплеции (3 пациента) и других форм НБО. Изучен спектр мутаций у пациентов с глутаровой ацидезией I типа (4 пациента). Показано, что мутация p.R402W гена GCDH составляет 75% всех мутантных аллелей. При исследовании распространенности «аллелей псевдодефицита» гена арилсульфатазы А у жителей Беларуси установлено, что их популяционная частота составляет 7,8% для аллеля N350S и 5,8% для аллеля 1524+95A→G (15 пациентов). Изучены биохимические и молекулярно-генетические характеристики подострой некротизирующей энцефаломиелопатии Ли (11 пациентов). Показано, что основные биохимические маркеры заболевания — умеренной степени лактатацидемия и гипераланинемия — отражают субкомпенсированный метаболический ацидоз, наиболее распространенной генетической причиной синдрома Ли в Беларуси является делеция 845delCT в ядерном гене SURF1. Разработана технология идентификации данной мутации методом фрагментного анализа ДНК. Изучены клинические, биохимические и иммуногистохимические характеристики наследственных нарушений биогенеза пероксисом (2 пациента). Метод исследования числа пероксисом в культивируемых клетках адаптирован к клеткам амниотической жидкости, что позволяет проводить пренатальную диагностику этой наследственной патологии. На основе биохимических и молекулярно-генетических исследований разработан и внедрен в практику алгоритм «Комплексная лабораторная диагностика НБО с нейродегенеративными нарушениями».

Таким образом, разработка высокотехнологичных методов биохимической и молекулярно-генетической диагностики и их внедрение в практику позволяют повысить эффективность выявления НБО, осуществлять оптимальную тактику ведения пациентов, проводить адекватное медико-генетическое консультирование пробандов и членов их семей, пренатальную диагностику в семьях повышенного риска, а также профилактику этой группы тяжелой, инвалидизирующей наследственной патологии.

*Область применения:* медицинская генетика, неонатология, педиатрия.

*Рекомендации по использованию:* предотвращение рождения детей с врожденной и наследственной патологией.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Possibilities of diagnostics of rare inherited metabolic diseases in Belarus**

*N.B. Gusina, T.I. Demidovich, A.V. Zinovik,  
S.O. Myasnikov, O.L. Zobikova, R.D. Khmel,  
A.A. Ershova-Pavlova, I.V. Naumchik*

There was carried out the complex clinical and laboratory (biochemical and molecular-genetic) study of 2550 patients with neurological abnormalities and suspected inherited metabolic diseases. More than 50 patients had different forms of inherited metabolic diseases. There was developed the algorithm "Complex laboratory diagnostics of inherited metabolic diseases with neurological abnormalities".

*Fields of application:* medical genetics, neonatology, pediatrics.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.8-007-053.1-07

### **Пороки центральной нервной системы у плодов, абортirованных в I триместре беременности**

*И.В. Новикова, А.А. Лазаревич, Н.А. Венчикова*

**Рубрики:** 76.03.39; 76.29.48

*НИИР:* «Разработать и внедрить программу пре- и постнатальной диагностики и профилактики врожденных пороков развития центральной нервной системы».

*Сроки выполнения НИИР:* I кв. 2013 г. — IV кв. 2015 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. К.У. Вильчук.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Введение в протокол ультразвукового скринингового исследования в I триместре беременности средне-сагиттального среза для измерения nuchal translucency (NT) и поперечных срезов через голову и живот плода создает условия для прицельного изучения анатомии и выявления дефектов нервной трубки. Появление ультразвуковых аппаратов с высоким разрешением позволяет идентифицировать все случаи анэнцефалии и алобарной голопроэнцефалии, относимые наряду с омфа-

лоцеле, гастросхизом, мегацистисом и аномалией стебля тела, к «всегда выявляемым в I триместре аномалиям развития» (Syngelaki et al., 2011).

Преимуществом выявления летальных дефектов в I триместре является возможность раннего прерывания беременности аномальным плодом. В то же время остается актуальным вопрос аудита выявленных аномалий в условиях массового ультразвукового скрининга в I триместре беременности. В связи с этим целью настоящего исследования было изучение патологоанатомического спектра пороков у плодов, абортirованных в I триместре после ультразвуковой диагностики пороков развития центральной нервной системы (ЦНС).

Материалом для исследования послужили 244 плода с пороками ЦНС, абортirованные по генетическим показаниям в I триместре беременности в г. Минске в рамках программы популяционного пренатального скрининга (1996–2013 гг.). Прерывание беременности в I триместре проводили одномоментно путем кюретажа в сроке 11–13 недель. Соскоб в стерильной посуде доставляли для морфологического и цитогенетического исследования. Фрагменты плода изучали под стереомикроскопом SM-20, аномально сформированные органы фотографировали и исследовали гистологически на серийных срезах. Изображение аномальных органов получали с помощью цифровой камеры «DC3-420TH», установленной на стереомикроскопе и снабженной измерительным устройством. Возраст плода в I триместре определяли по длине стопы и первичным центрам окостенения в диафизах трубчатых костей.

Спектр выявленных аномалий включал изолированные дефекты нервной трубки: анэнцефалию с/без spina bifida (136 случаев), изолированную spina bifida (21), инициефалию (3), черепно-мозговые грыжи (9) и диастематомиелию (1). ПР ЦНС также входили в состав ассоциации расщелин (25), АДАМ-комплекса (11) и неклассифицированных комплексов множественных ПР (12), были компонентами хромосомных болезней (12), синдромов Меккеля (2) и агнатии-голопроэнцефалии (1). ПР ЦНС оказались ассоциированы с синдромами триплоидии (3), трисомиями 13 (2) и 18 (2), структурными перестройками хромосом (5). Голопроэнцефалия была проявлением синдромов Патау, Эдвардса и триплоидии, spina bifida — трисомии 18.

Патоморфологическое исследование позволило верифицировать ультразвуковой диагноз в 95,7% случаях. В 11 случаях из-за разрушения при кюретаже или неполноты материала соскоба диагноз оказался неверифицированным. Дополнительная информация, полученная при аутопсии абортirованных плодов в 47,2% (110/233), относилась к выявлению других ПР и хромосомной патологии в результате цитогенетического исследования постабортного материала.

*Область применения:* пренатальная диагностика, медицинская генетика.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут применяться для медико-генетического консультирования семей с выявленной патологией.

### Central nervous system malformations in the first trimester fetuses aborted for medical reasons

*I.V. Novikova, A.A. Lazarevich, N.A. Venchikova*

There was carried out the pathologic-anatomic examination on 244 first trimester fetuses fragmented from dilatation and curettage. Pathological examination showed the neural tube defects: anencephaly or iniencephaly + spina bifida (139 cases) and isolated spina bifida (21) were the most frequent. In 50 cases the central nervous system abnormalities were associated with other malformations, including schisis association (25), ADAM (11) and non-classified multiple malformation (12) complexes, Meckel (1) and agnathia-holoprosencephaly (1) syndromes. 12 cases had chromosomal syndromes: trisomies 18 and 13, triploidy and structural chromosomal rearrangements. Postabortion autopsy of the first trimester fetuses is necessary to confirm prenatal diagnosis and to improve the management of disease.

УДК 616.831/.832-009.26+616.8]-053.1-07:574.213.3

### Исследование экспансии CAG повторов в гене ATXN1 (6p23) в диагностике спиноцереbellарной атаксии 1-го типа в Беларуси

*О.К. Кислова, Е.А. Сулимчик*

**Рубрика: 76.03.39**

*НИИР:* «Разработать программу ДНК диагностики и медико-генетического консультирования пациентов (семей) с распространенными формами наследственных моторно-сенсорных нейропатий и спиноцереbellарных атаксий».

*Сроки выполнения НИИР:* I кв. 2013 г. — IV кв. 2015 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук И.В. Наумчик.

*Организация-соисполнитель:* ГУ «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии».

*Источник финансирования:* госбюджет.

Прогрессирующие аутосомно-доминантные спиноцереbellарные атаксии (АД СЦА) — генетически и клинически гетерогенная группа нейродегенеративных заболеваний, общей характеристикой которых является прогрессирующее расстройство координации движений, во многих случаях ассоциированное с офтальмоплегией, пирамидными и экстрапирамидными знаками, деменцией, пигментной ретинопатией и периферической нейропатией. Заболевание манифестирует обычно после 20–30 лет и обусловлено атрофическими изменениями в мозжечке и других отделах головного и спинного мозга. Распространенность наследственных спиноцереbellарных атаксий составляет по данным различных авторов от 1 до 32,1 случаев на 100000 населения. Трудности своевременной диагностики СЦА обусловлены наличием выраженного меж- и внутрисемейного полиморфизма, существованием большого числа «переходных», атипичных либо abortивных форм, а также отсутствием четких критериев прижизненной диагностики различных вариантов течения. Точная диагностика СЦА возможна только с помощью

методов ДНК-анализа, позволяющих как идентифицировать генетические формы АД СЦА у пациентов, так и проводить пресимптоматическую и пренатальную диагностику вотягощенных семьях, что особенно важно в связи с тяжелым инвалидизирующим течением заболевания и отсутствием эффективных методов его лечения. К настоящему времени картировано 30 хромосомных локусов, в 15 из которых идентифицированы мутантные гены. В 10 из этих генов мутации представляют собой экспансию внутригенных микросателлитных повторяющихся последовательностей, в остальных 5 генах это различные точковые мутации. Среди обширной группы наследственных спиноцереbellарных атаксий в Европе чаще других встречаются атаксии тип 1, 2, 3, 6.

Генетической причиной развития СЦА 1-го типа является экспансия тринуклеотидных повторов CAG в гене ATXN1 (6p23). По литературным данным, ≤36 повторов — нормальные аллели. Минимальное число повторов — 6. От 37 до 44 повторов — промежуточные аллели. При таком числе повторов заболевание не развивается, но есть риск передачи детям аллеля с аномально увеличенным числом повторов. Аллели с 45–83 повторами относятся к патологическим.

*Цель* — разработать программу ДНК-диагностики и медико-генетического консультирования (МГК) пациентов (семей) с распространенными типами спиноцереbellарных атаксий (СЦА) с целью снижения уровня инвалидности, повышения эффективности медико-генетического консультирования и пренатальной диагностики в семьях высокого риска.

Продукты ПЦР анализировали с помощью автоматического капиллярного электрофореза с полихромным лазерным сканированием в генетическом анализаторе ABI PRISM 310 (Applied Biosystems). Собран биологический материал от 100 здоровых лиц, не имеющих клинических признаков наследственной СЦА1 и других нейродегенеративных заболеваний, — группа контроля, и от 13 пациентов с предполагаемым клиническим диагнозом «наследственная СЦА» для создания банка ДНК. Образцы ДНК протестированы на наличие мутаций в гене SCA1 (ATXN1). Из 100 здоровых лиц группы контроля 90 имеют количество повторов от 24 до 28 и 10 лиц имеют количество повторов от 29 до 36. Из 13 пациентов 12 имеют количество тандемных тринуклеотидных повторов CAG от 24 до 28 и 1 пациент с количеством CAG повторов 32. Таким образом, экспансия CAG повторов в гене ATXN1 (6p23) у обследованных пациентов не найдена, что исключает у них СЦА1.

*Область применения:* неврология, медицинская генетика.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут применяться для диагностики и медико-генетического консультирования пациентов (семей) со спиноцереbellарными атаксиями.

### Research of CAG repeat expansion of ATXN1 (6p23) in diagnostics of type 1 spinocerebellar ataxia in Belarus

*O.K. Kislova, E.A. Sulimchik*

The autosomal-dominant spinocerebellar ataxias (ADCA) are heterogeneous group of neurodegenerative disorders with variable expression and phenotypic overlap. An accurate diagnosis means the detection of mutation in a specific causative gene.

The CAG repeat polymorphisms of the ATXN1 gene were analyzed using the automated DNA analysis method (ABI PRISM 310).

We examined the control group of 100 healthy people without clinical signs of SCA1 or other neurodegenerative diseases. The established normal range for the control group was 24–36 CAG: 90 people had CAG repeats from 24 to 28 and 10 people had CAG repeats from 29 to 36. Then we examined 13 patients with suspected autosomal dominant SCA. CAG repeat expansion of ATXN1 (6p23) was not found in the examined patients.

УДК 616.8:576.356.4)+616-007-07:575.1

### Молекулярно-цитогенетическая (FISH) диагностика синдромов моносомии 1p36 и Миллера–Дикера — геномных заболеваний с преимущественным поражением центральной нервной системы

*О.М. Хурс, Л.В. Исакович, А.Д. Политыко, Н.В. Румянцева, О.Л. Зобикова, В.Д. Кулак, Р.Д. Хмель, И.В. Наумчик*

#### Рубрика: 76.03.39

**НИИР:** «Разработать и внедрить программу молекулярно-цитогенетической диагностики синдромальных форм геномных заболеваний человека при неуточненном диагнозе у пациентов с задержкой психоречевого развития, умственной отсталостью и/или врожденными пороками развития на основе применения FISH».

**Сроки выполнения НИИР:** январь 2013 г. — декабрь 2015 г.

**Научный руководитель:** канд. мед. наук И.В. Наумчик.

**Источник финансирования:** госбюджет.

Геномные болезни — группа врожденных заболеваний, объединяющая клинически различающиеся синдромы, обусловленные дефектами определенных «горячих» точек генома человека.

**Цель** — разработать программу молекулярно-цитогенетической диагностики ряда геномных заболеваний человека у пациентов с задержкой психоречевого развития/умственной отсталостью и врожденными пороками развития на основе применения метода FISH.

Минимальными диагностическими критериями синдрома микроделеции (моносомии) 1p36 (OMIM 607872) являются: характерные черепно-лицевые дисморфии, умственная отсталость, задержка речевого развития (бедная/отсутствующая речь), гипото-

ния, аномалии формирования мозга (расширение боковых желудочков и субарахноидального пространства, атрофия коры, полимикрогирия, аномалии белого вещества, аномалии/морфологические варианты комиссур). Популяционная частота заболевания составляет 1 на 5000–10000 новорожденных. Синдром Миллера–Дикера (OMIM 247200) — редкое генетическое заболевание, ключевым фенотипическим признаком которого является лиссэнцефалия I типа (классическая), ассоциированная с микроцефалией, генерализованной гетеротопией, расширением желудочков и гипоплазией мозолистого тела. В большинстве случаев у пациентов с данными хромосомными заболеваниями обнаруживаются спорадические терминальные и интерстициальные микроделеции сегментов 1p36.23–p36.33 и 17p13.3 соответственно. У значительной части пробандов выявляются комплексные перестройки и унаследованные деривативные хромосомы, вовлекающие критические сегменты. Установление типа хромосомной аномалии требует применения как стандартного цитогенетического, так и молекулярно-цитогенетического анализов кариотипов пробанда и родителей, что составило основу алгоритмов диагностики данных заболеваний.

**Основные результаты.** В группы обследования вошли 10 пациентов с клинически предполагаемым диагнозом «синдром микроделеции 1p36» и 10 пациентов с клинически предполагаемым диагнозом «синдром Миллера–Дикера». Все пациенты имели нормальный кариотип (46,XX или 46,XY). Анализ FISH выполнялся с использованием локус-специфических ДНК-проб LSI 1p36 Microdeletion (LSI p58 SO/LSI Tel1p SG/LSI 1q25 SA) и LSI Miller-Dieker Region Probe (LSI LIS1 SO/LSI RARA SG) (Abbott Molecular Inc, США).

У 1 пробанда (мальчика в возрасте 4 лет 8 мес.) выявлена терминальная микроутрата хромосомного материала критической области 1p36. Клинический симптомокомплекс включал задержку физического развития, гипотонию, умственную отсталость, выраженную задержку речевого развития, микроцефалию, расширение желудочков мозга, судорожный синдром, характерные лицевые дисморфии. Для дифференцировки типа хромосомной аномалии требуется обследование родителей пробанда. Полученные результаты позволят планировать объем пренатальной диагностики с целью профилактики данного заболевания в потомстве.

Утрата хромосомного материала критической области 17p13.3 выявлена у девочки и мальчика в возрасте 3,5 и 7 мес. соответственно. Для определения типа хромосомной аномалии проведено исследование с использованием субтеломерной ДНК-пробы на короткое плечо хромосомы 17. Показано, что в обоих случаях причиной возникновения заболевания являлась интерстициальная микроделеция del(17)(p13.3p13.3). Выполнен анализ корреляции генотип–фенотип: различная степень тяжести фенотипической картины у детей позволяет предполагать наличие делеций различной протяженности. В обоих случаях хромосомный дефект возник спорадически, что обуславливает низкий риск по-

вторного рождения в семьях ребенка с данной патологией.

*Выводы.* Впервые в Беларуси установлены диагнозы двух новых геномных заболеваний: 1 пациенту — синдром моносомии 1p36, 2 пациентам — синдром Миллера–Дикера.

Определение этиологии задержки развития, умственной отсталости, аномального формирования головного мозга позволит проводить адекватное симптоматическое лечение пробандов, планировать объем пренатальной диагностики в семьях с целью профилактики рождения детей с данными тяжелыми хромосомными синдромами.

*Область применения:* медицинская генетика, цитогенетика, педиатрия.

*Рекомендации по использованию:* цитогенетические лаборатории.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении программы диагностики.

**Molecular-cytogenetic (FISH) diagnostics of monosomy 1p36 syndrome and Miller–Dieker syndrome — genomic disorders with cerebral affection**

*O.M. Khurs, L.V. Isakovich, A.D. Polityko, N.V. Rumyantseva, O.L. Zobikova, V.D. Kulak, R.D. Khmel, I.V. Naumchik*

In the majority of cases the diseases are associated with terminal and interstitial deletions on 1p36 and 17p13.3 accordingly, and with complex rearrangement of derivative chromosomes. For prenatal diagnostics it is necessary to determine the type of chromosome abnormality. Twenty patients (10 and 10) with suspected clinical diagnosis of these syndromes and normal karyotypes were examined. Interstitial 17p13.3 deletion was found in two cases, 1p36 deletion — in one case. Monosomy 1p36 deletion and Miller–Dieker syndromes were revealed for the first time in Belarus. Genotype-phenotype correlation analysis was carried out.

*Field of application:* clinical genetics, clinical cytogenetics, pediatrics.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

**РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР  
ГИГИЕНЫ**

УДК 613.96: 371.71

**Обоснование гигиенических требований  
к организации образовательного процесса  
в учреждениях профессионально-технического  
и среднего специального образования***А.М. Давыдок, А.А. Малахова***Рубрики: 76.33.31; 76.75.75**

*НИР:* «Разработать и обосновать санитарно-гигиенические требования к устройству, содержанию и организации образовательного процесса в учреждениях профессионально-технического и среднего специального образования (раздел НИОКР «Совершенствование нормативного правового и методического обеспечения государственного санитарного надзора»)».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук Т.Н. Пронина.

*Источник финансирования:* Министерство здравоохранения Республики Беларусь.

Одной из главных и значимых задач в системе профессионально-технического и среднего специального образования является сохранение и укрепление здоровья учащейся молодежи, как основного трудового потенциала в ближайшем будущем.

*Цель* — разработка санитарно-гигиенических требований к организации образовательного процесса, производственного обучения и практики учащихся, направленных на охрану здоровья и формирование работоспособности, способствующей успешной дальнейшей профессиональной деятельности.

Санитарно-гигиеническим обследованием охвачено шесть учреждений образования разного профиля, реализующих образовательные программы профессионально-технического и среднего специального образования. Для учебного процесса характерно увеличение учебной нагрузки до 38–40 ч в неделю при организации 5-дневной учебной недели, сокращение времени на отдых. При составлении расписания занятий не всегда учитывалась дневная динамика умственной работоспособности и степень сложности изучаемых предметов. Существующая организация физического воспитания в 50% случаев не обеспечивала полной потребности подростков в дневной и недельной двигательной активности. В режиме дня учащихся отмечалась сокращение длительности ночного сна, нарушения кратности питания.

По результатам углубленных медицинских осмотров проанализировано состояния здоровья 1175 подростков 15–17 лет — учащихся профессионально-технического колледжа. Выявлено 18,5% здоровых учащихся, 46,6% подростков с нарушениями и отклонениями в состоянии здоровья, 29,4% — с хроническими заболеваниями в состоянии компенсации и 5,5% — с хроническими заболеваниями в состоянии декомпенсации. В динамике трех лет обучения снизилась численность группы здоровых

учащихся с 20,9 до 16,3%, увеличилось число учащихся с хроническими заболеваниями с 17,9% на первом курсе до 45,3% на третьем курсе ( $p < 0,05$ ). С помощью разработанной анкеты-опросника изучены факторы риска, определяющие качество жизни и благополучия подростков и являющиеся потенциально опасными для их здоровья. Исследования проведены среди учащихся первого курса. Выявлено хроническое недосыпание у 19,9% учащихся, недостаточная двигательная активность — у 65,0%, нарушение режима питания — у 30,0%, высокая доля курящих — 37,0% среди юношей и 41,3% среди девушек; 16,5% учащейся молодежи недостаточно информированы о вреде курения. Результаты анализа показали прямую связь между факторами риска для здоровья, указанными в анкетах, уровнем социально-психологической адаптации к профессиональному обучению ( $p < 0,05$ ) и показателями здоровья.

Физиолого-гигиенические исследования направлены на совершенствование системы гигиенического нормирования учебных и техногенных нагрузок, создание здоровьесберегающей среды и благоприятных условий образовательного процесса и производственного обучения. Здоровьесберегающая среда предполагает упорядочение обязательной учебной нагрузки в неделю для учащихся первых и вторых курсов, получающих специальность на основе общего базового образования (9 классов общеобразовательной школы), сокращение учебной нагрузки при переходе на 5-дневную учебную неделю, допуск к обучению подростков, не имеющих медицинских противопоказаний к работе по выбранной специальности, организацию условий для занятий физкультурой и спортом, поиск новых адекватных подходов к организации активного отдыха учащихся и формированию правил здорового образа жизни. Обязательным условием гигиенического режима является выполнение гигиенических требований, устанавливающих параметры микроклимата учебных помещений и производственных мастерских, естественного и искусственного освещения рабочих мест учащихся, организацию рационального и сбалансированного питания. Факторы производственной среды должны быть безопасны для учащихся и не оказывать неблагоприятного воздействия на их здоровье в ближайшем и отдаленном периодах.

В результате исследований разработаны Санитарные нормы и правила «Требования для учреждений профессионально-технического и среднего специального образования», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.05.2013 г. № 38.

*Область применения:* государственный санитарный надзор в области гигиены детей и подростков, здравоохранение, образование.

*Рекомендации по использованию:* внедрение в центры гигиены и эпидемиологии, учреждения профессионально-технического и среднего специального образования.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### Justification of hygienic requirements to the organization of educational process in technical training colleges

*A.M. Davydok, A.A. Malakhova*

Academic loads, the day regime violations, insufficient physical activity, existence of addictions have negative impact on the state of health in students of technical training colleges. There were developed the Sanitary standards and rules that establish the requirements to organization of educational process.

*Field of application:* the state sanitary inspection in the field of hygiene of children and teenagers, health care, education.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 575.174.015.3:[613632+616-057]

### Полиморфизм генов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков

*С.В. Федорович, А.Г. Маркова, О.Г. Давыденко, Н.Г. Даниленко, О.Д. Левданский, О.А. Цыганкова*

**Рубрики:** 76.33.37; 34.23.41

*НИР:* «Выявить генетические маркеры предпатологии работников, контактирующих с полициклическими ароматическими углеводородами, и разработать меры профилактики профессиональной и производственно обусловленной заболеваемости».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.В. Федорович.

*Организация-соисполнитель:* ГНУ «Институт генетики и цитологии» НАН Беларуси.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — выявить генотипы риска развития заболеваний, связанных с профессиональной вредностью, у работников химически опасных производств.

Сущность исследований состояла в прогнозировании риска возникновения воспалительных заболеваний и доброкачественных новообразований органов репродуктивной системы у женщин-маляров на основе определения генотипа генов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков глутатион-S-трансферазы M1 (GSTM1) и глутатион-S-трансферазы T1 (GSTT1).

Глутатион-S-трансферазы играют ключевую роль во второй фазе детоксикации ксенобиотиков. Эти ферменты катализируют присоединение глутатиона к электрофильному центру разнообразных химических соединений, что приводит к потере токсичности и образованию более гидрофильных продуктов, которые в дальнейшем могут быть метаболизованы и выведены из клетки. Аллели ряда локусов, обнаруживающие нормальный полиморфизм в естественной среде обитания человеческих популяций, могут стать патологически-

ми в иных резко меняющихся условиях, а также при контакте людей с продуктами производственной деятельности.

По данным многих исследователей, одной из причин возникновения репродуктивных нарушений могут служить определенные комбинации аллельных вариантов генов суперсемейства глутатион-S-трансфераз, продукты которых ответственны за биотрансформацию и детоксикацию ксенобиотиков.

Проведенные нами исследования полиморфизма генов II фазы биотрансформации ксенобиотиков GSTM1 и GSTT1 показали, что полиморфные генотипы GSTT1 0/0 и GSTM1 0/0, а также их комбинации могут иметь высокую рисковую значимость в формировании генетической предрасположенности к развитию воспалительных заболеваний и доброкачественных новообразований женской половой сферы у женщин-маляров (табл.).

Таблица

Относительная вероятность развития заболеваний органов половой системы у женщин маляров на основании генотипирования по генам GSTM1 и GSTT1

Генотип	Вероятность	OR (95% CI)
GSTM1«+»/ GSTT1«+»	Очень низкая	0,51 (0,3–0,87)
GSTM1«0»/ GSTT1«+»	Низкая	0,97 (0,59–1,6)
GSTM1«+»/ GSTT1«0»	Средняя	1,65 (0,77–3,54)
GSTM1«0»/ GSTT1«0»	Высокая	2,17 (1,11–4,27)

Из табл. видно, что для определения относительного риска развития заболеваний органов половой системы следует иметь в виду, что основное влияние на данный показатель оказывает аллельное состояние гена GSTT1, полиморфизм гена GSTM1 вносит существенно меньший вклад, однако максимальный риск обуславливается отсутствием активности двух ферментов, кодируемых этими генами (генотип GSTM1«0»/GSTT1«0»).

На основании исследований разработан алгоритм выявления групп риска, в котором учтены результаты молекулярно-генетического тестирования генов, ответственных за биотрансформацию ксенобиотиков у работниц, контактирующих с органическими растворителями.

В результате разработки и внедрения в практическое здравоохранение результатов исследований будет получен социально-экономический эффект за счет внедрения профилактических мер (определение генотипа на предварительных и периодических медицинских осмотрах), направленных на сохранение профессионального здоровья работников.

*Область применения:* профпатология, медицина труда.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

## Gene polymorphisms of phase II of xenobiotics biotransformation

*S.V. Fedorovich, A.G. Markova, O.G. Davydenko, N.G. Danilenko, O.D. Levdansky, O.A. Tsygankova*

There was carried out the research of gene polymorphisms of phase II of xenobiotics biotransformation GSTM1 and GSTT1. It was established that polymorphic genotype GSTM1 0/0 and GSTM1 0/0, as well as their combinations may have a high risk when forming genetic susceptibility to inflammatory diseases and malignant tumors of female reproductive system.

*Field of application:* occupational pathology, occupational health.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 543.544.5:661.717.53:613.31

## Определение акриламида в питьевой воде методом газожидкостной хроматографии

*Л.М. Кремко, О.В. Саракач, А.И. Докутович*

**Рубрики:** 70.27.11; 70.27.15

*НИИР:* «Разработать и внедрить высокочувствительные методики определения карнитина, таурина, клетчатки, пищевых волокон в детском питании, акриламида и гептахлорэпоксида в бутилированной воде».

*Сроки выполнения НИИР:* 2010–2012 гг.

*Научный руководитель:* канд. хим. наук Л.М. Кремко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка методики определения акриламида в питьевой воде, обеспечивающей его определение на уровне 0,5 ПДК с высокой чувствительностью, селективностью и точностью.

Акриламид — особо опасный химический загрязнитель, канцероген. Поступление его в питьевую воду возможно при использовании для ее очистки флокулянтов на основе полиакриламида. Предельно допустимая концентрация (ПДК) в питьевой бутилированной воде составляет 0,1 мкг/л. Доступная по выполнению методика, обеспечивающая определение акриламида в воде на уровне и ниже установленной ПДК, до настоящего времени в Республике Беларусь отсутствовала.

Разработанная методика определения акриламида в питьевой воде основана на предварительном 10-кратном концентрировании пробы воды путем упаривания, переводе содержащегося в концентрате акриламида в 2,3-дибромпропионамид, экстракции полученного производного этилацетатом и анализе полученного экстракта методом газожидкостной хроматографии на приборе, оснащенный детектором по захвату электронов (ДЭЗ) и капиллярной колонкой для разделения смеси.

Для перевода акриламида в 2,3-дибромпропионамид согласно разработанной методике 50 мл концентрата воды обрабатывают 7,5 г бромида калия и 2,5 мл бромной воды, раствор подкисляют серной кислотой и выдерживают в течение 1 ч при 0°C. Образовавшийся 2,3-дибромпропионамид экстрагируют этилацетатом в два приема порциями по 10 мл. Органический

экстракт осушают безводным сульфатом натрия, объем экстракта доводят до 25 мл и подвергают хроматографическому анализу.

Хроматографический анализ проводят на газовом хроматографе, оснащенный детектором по захвату электронов и капиллярной колонкой DB-FFAP (60 м × 0,25 мм × 0,50 мкм) при следующих условиях: температура термостата колонки — 200°C, температура испарителя — 220°C, температура детектора — 260°C, газ-носитель — азот особой чистоты, скорость потока газаносителя составила 35 см/с, поддув ДЭЗ — 20 мл/мин, коэффициент деления потока — 1:1, объем вводимой пробы — 2 мкл, ориентировочное время удерживания 2,3-дибромпропионамида — 10,7 мин.

По предварительно построенному градуировочному графику находят концентрацию акриламида в экстракте, а затем рассчитывают его содержание в анализируемом образце воды.

Градуировочный график зависимости площади пика от концентрации акриламида носит линейный характер при его содержании от 1,0 до 20,0 мкг/л. Двадцатикратное концентрирование, достигаемое при упаривании пробы воды и получении экстракта, позволяет проводить определение акриламида при его содержании в воде от 0,05 до 1 мкг/л.

Разработанная методика определения акриламида в питьевой воде доступна по выполнению, обеспечивает определение акриламида в диапазоне концентраций, составляющих 0,5–10 ПДК в питьевой воде с высокой точностью. Относительное стандартное отклонение повторяемости не превышает 5,5%, промежуточной прецизионности — 7,2%, относительная расширенная неопределенность — 22%.

*Область применения:* использование производственными лабораториями предприятий, контролирующими состояние качества подготовленной воды, органами и учреждениями государственного санитарного надзора.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

## Determination of acrylamide in drinking water by gas-liquid chromatography

*L.M. Kremko, O.V. Sarakach, A.I. Dokutovich*

The developed method of determination of acrylamide in drinking water is based on the preliminary 10-fold concentrated samples of water, the transfer of acrylamide in the concentrate to 2,3-dibrompropionamid, the extraction of the derivative with ethyl acetate and the analysis of the extract obtained by gasliquid chromatography equipped with electron capture detector and a capillary column for separation of mixtures. The relative standard deviation of repeatability is less than 5.5%, the intermediate precision is 7.2%, the relative expansion uncertainty is 22%.

*Field of application:* the method can be used in industrial laboratories that control the quality of water, and in the agencies of state sanitary inspection.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 577.181:613.26

**Определение остаточных количеств левомецетина (хлорамфеникола) в сырье животного происхождения и пищевых продуктах методом ВЭЖХ-МС/МС**

*О.В. Шуляковская, Е.И. Полянских, Е.П. Шупилова, Л.Л. Бельшева*

**Рубрики: 65.09.03; 65.09.05**

*НИИР:* «Разработать высокочувствительные методики определения остаточных количеств антибиотиков (левомецетина, пенициллинов и стрептомицина) в сырье животного происхождения и пищевых продуктах».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2013 г. — декабрь 2015 г.

*Научный руководитель:* канд. хим. наук О.В. Шуляковская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать высокочувствительную методику определения остаточных количеств левомецетина (хлорамфеникола) в сырье животного происхождения и пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).

Для разработки высокочувствительной методики определения остаточных количеств левомецетина изучено влияние состава и рН подвижной фазы на величину его отклика. Определение левомецетина осуществлялось методом ВЭЖХ-МС/МС в режиме регистрации отрицательных ионов. Установлено, что при использовании деионизованной воды или водного раствора гидроксида аммония с рН 8,0 достигается наибольший отклик левомецетина, т. к. в нейтральных и слабощелочных растворах молекула левомецетина депротонируется и регистрируется масс-спектрометром. При использовании растворов нейтральных солей (10 мМ раствора ацетата аммония и 10 мМ раствора формиата аммония) интенсивность отклика левомецетина понизилась по сравнению с деионизованной водой в 4 и 8 раз соответственно. Очевидно, природа катионов и анионов солей, присутствующих в подвижной фазе, влияет на ионизацию данного анализа и приводит к образованию аддуктов с иным соотношением массы к заряду.

При разработке условий подготовки пробы особое внимание было уделено выбору экстрагента для выделения левомецетина из пищевой матрицы. С этой целью было изучено распределение левомецетина в системах «водный раствор левомецетина – органический растворитель (этилацетат, хлороформ, смесь растворителей (хлороформ – ацетон в соотношении 2:1), н-бутанол, гексан)». Установлено, что при экстракции левомецетина из водной фазы этилацетатом и н-бутанолом достигается наибольшая степень извлечения антибиотика 97,6 и 89,3% при отношении объемов органической и водной фаз 1 и 1,22 соответственно. Использование в пробоподготовке данных несмешивающихся с водой экстрагентов позволяет также очистить пробу от элек-

тролитов, сахаров и белковых компонентов пробы, т. к. они не экстрагируются в органическую фазу. К тому же указанные растворители летучи, а экстракт может быть упарен, что позволяет сконцентрировать анализ. Показано, что левомецетин практически не экстрагируется неполярным гексаном. Данный растворитель может использоваться для очистки проб от липидов, которые соэкстрагируются в органическую фазу вместе с антибиотиком при проведении пробоподготовки.

На основании полученных данных разработана методика определения остаточных количеств левомецетина в сырье животного происхождения и пищевых продуктах методом ВЭЖХ-МС/МС. Диапазон определяемых концентраций левомецетина составил 0,2–1,0 мкг/кг. Проведены исследования по метрологической оценке разработанной методики. Расширенная стандартная неопределенность составила 26,2%.

*Область применения:* гигиеническая оценка безопасности пищевых продуктов, лабораторные исследования для контроля производства, сертификации, декларирования параметров безопасности пищевых продуктов.

*Рекомендации по использованию:* методика рекомендуется к применению лабораториями санитарно-эпидемиологической службы различных уровней при наличии оборудования, научными учреждениями для оценки безопасности пищевых продуктов и животноводческого сырья.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования с отраслевыми научно-исследовательскими учреждениями по научным разработкам в области безопасности пищевых продуктов, а также консультативная помощь в освоении методов.

**Determination of residual amount of chloramphenicol in the food of animal origin with the HPLC-MS/MS method**

*O.V. Shulyakovskaya, A.I. Polyanskikh, E.P. Shupilova, L.L. Belysheva*

There was developed the method for determination of residual amount of chloramphenicol in the food of animal origin with the HPLC-MS/MS method. The range of the determined concentrations was 0.2–1.0 mkg/kg. There were carried out the investigations for metrological assessment of the developed method. The extended standard uncertainty is 26.2%.

*Field of application:* hygienic assessment of food safety.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 543.544.5:[664.16:641.1]

**Определение сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза, мальтодекстрин)**

**в специализированных продуктах питания, биологически активных и пищевых добавках**

*О.В. Шуляковская, Л.Л. Бельшева, Е.И. Полянских*

**Рубрики: 76.33.35; 65.09.05; 65.63.35**

*НИИР:* «Разработать унифицированные методики определения сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза, мальтодекстрин) в специализирован-

ных продуктах питания, биологически активных и пищевых добавках, трансизомеров жирных кислот в продуктах детского питания и оксиметилфурфурола в плодовоовощной продукции, напитках, меде и БАД».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. хим. наук О.В. Шуляковская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать чувствительную, селективную методику определения сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза, мальтодекстрин) в специализированных пищевых продуктах (к ним относятся пищевые продукты, предназначенные для детей всех возрастных групп, беременных и кормящих женщин, лиц пожилого возраста, диетического-профилактического питания, и т. п.), биологически активных и пищевых добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектированием.

Известно, что существующие методики дают информацию о суммарном содержании сахаров и о сумме редуцирующих веществ. Ферментные методы позволяют определять глюкозу, фруктозу, лактозу и галактозу, однако область их применения ограничивается фруктовыми и овощными соками и молоком. В республике отсутствовала унифицированная методика по определению индивидуальных сахаров. При разработке методики определения сахаров с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии нами изучались условия хроматографирования и экстракции сахаров из различных сложных матриц пищевых продуктов. Исследовалось 12 режимов хроматографирования смеси стандартных растворов глюкозы, фруктозы, сахарозы, лактозы, мальтозы, мальтодекстрина с концентрацией 2,0 мг/см<sup>3</sup> каждого компонента, в которых варьировались состав подвижной фазы ацетонитрил:вода в соотношениях 95:5, 90:10, 80:20, 70:30 и скорость ее подачи от 1 до 2 мин. Исследования проводились на трех видах колонок для ВЭЖХ: Zorbax Carbohydrate (150×4,6 mm) зернение 5 мкм, Nucleodur 100-5-NH<sub>2</sub>-RP (250×4,6 mm) зернение 5 мкм, Ultrasil-NH<sub>2</sub> (250×4,6 mm), зернение — 10 мкм. Установлены оптимальные условия проведения хроматографического анализа: подвижная фаза — ацетонитрил:вода (80:20), скорость подачи — 2,0 см<sup>3</sup>/мин для колонки Nucleodur 100-5-NH<sub>2</sub>-RP (250×4,6 mm) зернение — 5 мкм, т. к. именно при этих условиях время выхода всех пиков составляет 10 мин, что позволяет делать анализ более экспрессным. Изучались различные условия экстракции сахаров из пищевых матриц. Варьировались экстрагенты — дистиллированная вода и смесь этанол:вода (1:1), время экстракции (10, 15, 20 мин), температура экстракции (20, 40, 60°C), применение ультразвука. Установлено, что наилучшими условиями являются: экстрагент — смесь этанол:вода в соотношении 1:1, время экстракции — 15 мин, температура 40–60°C. Очистку полученных экстрактов необходимо осуществлять растворами Карреза с добавлением ацетонитрила. На основании исследований разработана методика определения со-

держания сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза и мальтодекстрин) в специализированных продуктах питания, биологически активных и пищевых добавках. Диапазон определяемых концентраций глюкозы, фруктозы, сахарозы, лактозы, мальтозы составил 2,5–500,0 г/кг, мальтодекстрина — 50,0–200,0 г/кг. Относительные значения расширенной стандартной неопределенности составили 9,7–26,3% для разных углеводов.

*Область применения:* оценка качества новых видов продуктов питания, лабораторные исследования для контроля производства, сертификации, декларирования заявленных параметров качества продуктов питания, пищевых и биологически активных добавок.

*Рекомендации по использованию:* методика рекомендуется к применению лабораториями санитарно-эпидемиологической службы разных уровней, госнадзора, разработчиками и производителями специализированных продуктов питания, учреждениями для оценки контроля качества продуктов питания.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования с отраслевыми научно-исследовательскими учреждениями по научным разработкам в области качества продуктов питания, а также консультативная помощь при освоении методов.

#### **Determination of sugars (glucose, fructose, sucrose, lactose, maltose, maltodextrin) in special foods and dietary supplements**

*O.V. Shulyakovskaya, L.L. Belysheva, A.I. Polyanskikh*

There was developed the method for determination of individual sugars (glucose, fructose, sucrose, lactose, maltose, maltodextrin) in special foods and dietary supplements by HPLC with refractometric detection. The range of detectable concentrations of glucose, fructose, sucrose, lactose, maltose is 2.5–500.0 g/kg for each carbohydrate and maltodextrin — 50.0–200.0 g/kg. The extended standard uncertainties are 9.7–26.3% for different sugars.

*Field of application:* hygienic assessment of food quality.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК [615.9:620.3]:612.085.2

#### **Разработка тест-модели и критериев оценки токсичности наноматериалов в тестах *in vitro***

*И.И. Ильюкова, Л.А. Наджарян, Е.К. Власенко, А.М. Войтович, И.И. Конева, М.В. Анисович, Т.Н. Гомолко, Н.В. Дудчик*

**Рубрика:** 76.35.45

*НИР:* «Разработать требования к проведению токсикологической оценки наноматериалов в тестах *in vitro*».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук И.И. Ильюкова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

В ходе выполнения заключительного этапа НИР изучены зависимости проявления токсического действия доза-время-эффект наночастиц (НЧ) серебра и одностенных углеродных нанотрубок (УНТ) на разработанных тест-моделях, отдаленные эффекты воздействия, проведена статистическая обработка полученных данных, проанализированы и обобщены результаты исследований, подготовлена Инструкция по применению «Токсикологическая оценка наноматериалов в тестах *in vitro*».

Краткосрочные и длительные эксперименты проведены на культурах нормальных и трансформированных клеток животных и человека с использованием различных концентраций НЧ двух видов.

В краткосрочном эксперименте клетки линии А549 высевали в 24-луночные планшеты, куда добавляли НЧ, экспозиция составила 7,5 ч. Оценку цитотоксичности проводили с помощью окрашивания мертвых клеток. Эффект оценивали в динамике. В опыте при концентрации НЧ серебра 1,3 мг/мл процент гибели нарастал и составил от 1% при минимальной экспозиции до 5,2% при максимальной, а при концентрации 13 мг/мл — от 4,6% до полной гибели.

В опытах на нормальных (фибробласты мыши) и трансформированных (А549) клетках изучали влияние НЧ серебра на выживаемость и пролиферативный потенциал клеточных культур в условиях длительного воздействия (до 12 сут), используя три дозовых уровня — 5, 25, 75 мкг/мл культуральной среды. При концентрации НЧ серебра 75 мкг/мл число клеток в культуре А549 на 12-е сут наблюдения составляет лишь 50% от числа клеток в контроле. Эффект является более выраженным в опытах на нормальных клетках.

Цитотоксические свойства НЧ серебра и УНТ изучены в эксперименте на культуре лимфоцитов человека. Получены кривые зависимости «доза-эффект», определены величины среднеингибиторных концентраций. Данные эксперимента свидетельствуют о высокой чувствительности лимфоцитов к воздействию НЧ. В отношении клеточной линии А-549 НЧ серебра и УНТ оказывают антипролиферативное действие, при этом количество клеток снижается в зависимости от времени культивирования. Таким образом, выявлена закономерность «доза-время-эффект» для наноматериалов различной природы.

Эффекты наноматериалов изучали также с использованием МТТ-теста. При внесении в среду культивирования НЧ серебра в максимальном количестве произошла полная гибель клеток, поэтому зависимость от дозы выявлена только для УНТ.

Исследовали влияние НЧ серебра в концентрациях от 1 до 10000 мкг/мл на индукцию активных форм кислорода в культуре клеток А549. Установлено, что воздействие НЧ серебра на клетки линии А549 приводит к индукции образования АФК, которая носит дозозависимый характер.

Изучена активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в среде культивирования клеток А549 при добавлении

НЧ серебра в концентрациях от 100 до 1000 мкг/мл и УНТ в концентрациях от 10 до 200 мкг/мл. В результате активность ЛДГ при максимальных концентрациях наноматериалов возрастала в 1,5 раза; УНТ приводили к этому эффекту в концентрации в 5 раз меньшей, чем НЧ серебра. Полученные результаты согласуются с известными научными данными.

Разработана Инструкция по применению «Инструкция по токсикологической оценке безопасности наноматериалов *in vitro*», внедрена в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси. Заключен договор о сотрудничестве с Белорусским государственным университетом.

#### **Development of test model and evaluation criteria of nanomaterials toxicity *in vitro***

*I.I. Ilyukova, L.A. Najaran, E.K. Vlasenko,  
A.M. Voitovich, I.I. Koneva, V.V. Anisovich, T.N. Gomolko,  
N.V. Dudchik*

The aim of research was to develop a methodological approach to determination of toxicity of nanomaterials for hygienic assessment of their safety in the Republic of Belarus.

There were selected the types of nanomaterials (nanoparticles) for testing *in vitro*; there were defined the cell lines to study the cytotoxicity of nanoparticles in the view of possible organ damage; there was done the analysis of the scientific literature regarding the methodological aspects of the study of the cytotoxic and mutagenic (genotoxic) action for toxicological assessment of nanomaterials.

There was prepared the "Instruction on the toxicological safety assessment of nanomaterials *in vitro*" and implemented at the Institute of Genetics and Cytology.

*Field of application:* toxicology.

УДК 613.31:546.175

#### **Гигиенический мониторинг нитратов в воде, предназначенной для потребления населением**

*Д.А. Будников, Е.В. Дроздова, В.В. Бурая*

**Рубрики: 76.33.33; 70.27.15; 70.27.19**

*НИР:* «Разработать и внедрить систему комплексного мониторинга нитратов в воде, предназначенной для потребления населением».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* Д.А. Будников.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать и научно обосновать комплексный интегральный подход к осуществлению мониторинга нитратов в источниках питьевого водоснабжения, своевременно выявлять риск их неблагоприятного воздействия, разработать профилактические мероприятия, направленные на сохранение здоровья населения.

Интегрированный комплексный подход к мониторингу объединяет два критерия оценки содержания азотистых соединений (нитратов, нитритов) в источни-

ках питьевого водоснабжения:

– сравнение обнаруженных их количеств с утвержденными предельно допустимыми концентрациями в соответствии с СанПиН 10-124 РБ 99 (ПДК нитратов в воде 45 мг/дм<sup>3</sup>, нитритов — 3 мг/дм<sup>3</sup>) и допустимой суточной дозой (ДСД) — количество нитратов, исходя из массы тела (в мг на 1 кг массы тела), установленный объединенным комитетом ФАО/ВОЗ 5 мг/кг массы тела в расчете на нитрат-ион). Методология предусматривает расчет допустимой и фактической нитратной нагрузки на различные возрастные группы населения, анализа заболеваемости, сопоставление этих показателей с фактическим содержанием нитратов в питьевой воде, что позволяет получать более объективную оценку фактических и потенциальных рисков нитратного загрязнения.

Фактическая нитратная нагрузка (ФНН) на организм с питьевой водой определяется по формуле:

$$\text{ФНН} = \text{Св} \times \text{R} \times (1 - \text{g}) \times \text{Кст} \times \text{Кв/ал}, \quad (1)$$

где Св — концентрация вещества в воде, мг/л;

R — суточная норма водопотребления, соответствует 2,0 л;

g — коэффициент деструкции вещества на очистных сооружениях или при его обезвреживании;

Кст — коэффициент стабильности вещества в водорастворимой (ионной) форме, равный 1;

Кв/ал — водно-алиментарный коэффициент, отражающий изоэффективные дозы при поступлении нитратов в ионной форме, равен 1,25.

Допустимая нитратная суточная нагрузка (ДНН) поступления с водой в зависимости от возраста определяется по формуле:

$$\text{ДНН} = \text{M} \times \text{ДСД}, \quad (2)$$

где M — масса тела, кг;

ДСД — допустимая суточная доза, мг/кг.

Сопоставление ДНН с ФНН позволило обосновать необходимость введения для населения в возрасте до 3 лет «понижающий возрастной коэффициент 0,5» при ПДК нитратов в питьевой воде 45 мг/л.

*Область применения:* органы государственного санитарного надзора и другие заинтересованные организации республики.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении; совместные исследования по указанной тематике.

### Hygienic monitoring of nitrates in water for human consumption

*D.A. Budnikov, E.V. Drozdova, V.V. Buraya*

There was developed the algorithm of expert assessment, the identification of risks and adverse health effects on population, and management in the monitoring of nitrates in drinking water. It includes determination of the actual content of nitrogenous compounds in drinking water, analysis of child morbidity in different age groups, its dependence on the content of nitrates in drinking water, and the analysis of the actual nitrate load.

УДК 613.955:[378.1:004.7]

### Обоснование гигиенических требований к организации образовательного процесса с использованием индивидуальных электронных устройств в учреждениях образования

*Т.Н. Пронина, С.И. Сычик, И.В. Жуковская, А.А. Малахова*

**Рубрика: 76.33.31**

*НИИР:* «Научно обосновать и разработать гигиенические требования к организации образовательного процесса с использованием индивидуальных электронных устройств в учреждениях образования».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2012 г. — июнь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук Т.Н. Пронина.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — дать комплексную гигиеническую оценку влияния индивидуальных электронных устройств (ИЭУ) на состояние здоровья учащихся, научно обосновать и разработать гигиенические требования к организации образовательного процесса с использованием ИЭУ в учреждениях общего среднего образования. Комплексные физиолого-гигиенические исследования выполнялись в условиях естественного гигиенического эксперимента в динамике 2011/2012 учебного года в рамках медицинского сопровождения экспериментальных проектов Министерства образования Республики Беларусь «Апробация модели обучения с использованием электронных устройств в учреждениях общего среднего образования» и «Апробация учебно-методических комплексов, интегрированных на платформе электронных планшетных устройств, в непрерывном образовательном процессе лицея БГУ».

Проведена гигиеническая экспертиза условий обучения и организации образовательного процесса с использованием ИЭУ в 6 экспериментальных учреждениях общего среднего образования; изучено состояние здоровья 389 учащихся экспериментальных и контрольных классов I–III ступени обучения в динамике образовательной деятельности; изучена динамика умственной работоспособности учащихся, проведена сравнительная оценка психофизиологических функций и адаптационных возможностей учащихся в условиях образовательной среды; проанализирован режим использования ИЭУ во внеучебное время.

В результате исследований дана комплексная оценка влияния ИЭУ на состояние здоровья школьников. Основой для гигиенической регламентации организации образовательного процесса с использованием ИЭУ в учреждениях общего среднего образования послужили следующие результаты исследований и выводы:

1. Время работы с ИЭУ на уроках во 2–4 классах составило 7–10 мин, в 6–10 классах — 10–15 мин; при данных режимах работы с ИЭУ не установлено отрицательного влияния на умственную работоспособность учащихся, психоэмоциональный статус, уровень адаптационных резервов, функциональное состояние центральной нервной системы и зрительного анализатора.

2. Несоответствие эргономических характеристик ИЭУ гигиеническим требованиям к конструкции клавиатуры, «нерациональная» рабочая поза учащихся, высокая плотность уроков, недостаточное внимание профилактики утомления, нарушений осанки и зрения в динамике урока являются факторами риска образовательной среды по развитию утомления, которое отмечалось у учащихся экспериментальных и контрольных классов в динамике образовательного процесса (учебного дня, недели и четверти).

3. Неблагоприятная динамика показателей здоровья учащихся в условиях образовательной деятельности, увеличение распространенности школьно-зависимых заболеваний (органов зрения, костно-мышечной системы, нервной системы и других), снижение адаптационных резервов с возрастом требует улучшения условий образовательной среды и формирования системы здоровьесбережения; электронные средства обучения должны использоваться в четко определенных рамках единой здоровьесберегающей среды учреждения образования.

Таким образом, установлен приоритет строгого соблюдения принципов эргономики для сохранения здоровья пользователей портативных видеодисплейных терминалов (ВДТ) и персональных электронно-вычислительных машин (ПЭВМ). Впервые разработаны требования к организации образовательного процесса с использованием портативных ПЭВМ (нетбуки, ноутбуки и другое) и ВДТ (планшеты, электронные книги и другое) в учреждениях образования. Регламентируемая продолжительность непрерывного занятия, связанного с фиксацией взгляда непосредственно на экране портативного компьютера, на занятии не должна превышать:

- для учащихся 1-х классов — 7 мин;
- для учащихся 2–4-х классов — 10 мин;
- для учащихся 6–8-х классов — 15 мин;
- для учащихся 8–11-х классов — 20 мин.

Количество занятий (учебных и факультативных) с использованием ВДТ, ПЭВМ (включая портативные) в течение учебного дня должно составлять:

- для учащихся 1–4-х классов — не более 1 занятия;
- для учащихся 5–9-х классов — не более 2 занятий;
- для учащихся 10–11-х классов — не более 3 занятий.

Разработаны «Требования к организации и оборудованию рабочих мест с ВДТ, ЭВМ и ПЭВМ иных типов учреждений образования» (гл. 9), «Требования к организации занятий обучающихся с использованием ВДТ, ЭВМ и ПЭВМ всех типов учреждений образования» (гл. 12), изложенные в Санитарных нормах и правилах «Требования при работе с видеодисплейными терминалами и электронно-вычислительными машинами», утвержденных постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 59 от 28.06.2013.

Гигиеническая регламентация использования ИЭУ в образовательном процессе позволит уменьшить негативное влияние новых факторов риска условий обучения на здоровье обучающихся и снизить причинно-обусловленную хроническую заболеваемость детей и подростков.

*Область применения:* государственный санитарный надзор в области гигиены детей и подростков, здравоохранение, образование.

*Рекомендации по использованию:* учреждения, осуществляющие государственный санитарный надзор, учреждения образования.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.

### **Substantiation of the hygienic requirements to organization of the educational process using personal electronic devices in educational institutions**

*T.N. Pronina, S.I. Sychik, I.V. Zhukovskaya, A.A. Malakhova*

The complex hygienic assessment of the influence of personal electronic devices on health of children, their psycho-physiological status and mental performance in secondary educational institutions was done. For the first time there were developed the hygienic requirements to organization of the educational process using personal electronic devices (netbooks, laptops, tablets, e-books, etc.) in secondary educational institutions.

Hygienic regulations for the use of personal electronic devices during educational process will reduce the negative effects of new risk factors of educational environment on children's health and reduce the number of chronic diseases in children and adolescents.

*Field of application:* state sanitary inspection, health care, education.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 615.9:[632.95+677.62+661.185

### **Разработка и научное обоснование современных критериев токсикологической оценки и классификации смесевых химических композиций в зависимости от пороговых уровней высокотоксичных химических веществ, входящих в их состав**

*Г.В. Лисовская, И.И. Ильюкова, С.Ю. Петрова, Т.В. Деменкова, В.А. Стельмах*

**Рубрики: 34.47.51; 76.33.33**

*НИР:* «Разработать методические подходы к токсикологической оценке смесевых химических композиций для последующей классификации и маркировки».

*Сроки выполнения НИР:* 2010–2012 гг.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук И.И. Ильюкова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Проблема химической безопасности в настоящее время приобрела глобальное значение. С учетом широких масштабов всемирной торговли химическими веществами и необходимости разработки национальных программ в целях обеспечения безопасного использования, перевозки и удаления этих веществ в странах Евросоюза была создана система классификации мар-

кировки химических веществ — **Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химических веществ (СГС, GHS).**

Первым шагом к безопасному применению химических веществ является определение опасности, которую они могут представлять для здоровья человека и окружающей среды, и информирование о мерах предосторожности, необходимых для безопасного обращения с химическими веществами или при авариях.

*Цель* — определение и обоснование пороговых уровней высокотоксичных химических веществ как критериев оценки для классификации смесевых химических композиций согласно требованиям СГС.

В процессе выполнения НИР проведен экспериментально-токсикологический скрининг различных смесевых химических композиций и на этой основе научно обоснован ряд критериев, предназначенных для оценки токсикологических показателей безопасности и безвредности для человека смесевых химических композиций, а также проведения их классификации, т. е. определение класса опасности смеси химических веществ в зависимости от пороговых уровней высокотоксичных химических веществ, входящих в их состав.

Разработаны требования к постановке токсикологических экспериментов, критерии интерпретации полученных результатов и алгоритмы действий исследователей при оценке токсикологических показателей безопасности и безвредности для человека смесевых химических композиций.

Данные методические подходы к токсикологической оценке смесевых химических композиций для последующей классификации и маркировки применяются при классификации смесевой химической продукции, содержащей высокотоксичные химические вещества, и предназначены для применения в народном хозяйстве кроме готовых лекарственных средств; готовых средств ветеринарного назначения и кормов для животных; готовой пищевой продукции, готовых биологически активных добавок к пище; средств индивидуальной защиты дерматологических; готовой парфюмерно-косметической продукции; химической продукции в составе изделий, которая в процессе обращения не изменяет свой химический состав и агрегатное состояние, не образует пыль, пары и аэрозоли, содержащие опасные химические вещества в концентрациях, способных оказать вредное воздействие на жизнь или здоровье граждан, жизнь или здоровье животных, растений, окружающую среду, а также излучающих, ядерных и радиоактивных веществ, материалов и отходов.

*Область применения:* общая токсикология.

*Рекомендации по использованию:* предназначены для специалистов токсикологических лабораторий учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор за безопасностью и безвредностью для человека смесевых химических композиций.

*Предложения по сотрудничеству:* оценка токсичности смесевых композиций химических веществ в рамках международной системы классификации и маркировки химических веществ — СГС (GHS).

### **Development and scientific basis of modern toxicological evaluation criteria and classification of mixed chemical compositions depending on the threshold levels of highly toxic chemicals within them**

*G.V. Lisovskaya, I.I. Iluykova, S.Yu. Petrova, T.V. Demenkova, V.A. Stelmakh*

The experimental toxicology screening of various mixed chemical compositions was conducted. There were developed the criteria for assessment of toxicological safety of indicators and mixed chemical compositions, the classification of mixed chemical compositions. There were developed the requirements for toxicological experiments, the criteria for interpretation of the results and algorithms of researches.

*Field of application:* general toxicology.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 613.6:[614.254.1:616-073.756.8

### **Научное обоснование гигиенических требований к условиям труда медицинских работников, занятых в кабинетах магнитно-резонансной томографии**

*Т.М. Рыбина, Э.К. Казей, Л.Н. Денчук*

**Рубрика: 76.33.37**

*НИР:* «Научно обосновать и разработать гигиенические требования к условиям труда медицинских работников, занятых в кабинетах магнитно-резонансной томографии».

*Сроки выполнения НИР:* июль 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. Т.М. Рыбина.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Использование в клинической практике магнитно-резонансной томографии (МРТ) связано с непосредственным воздействием на медицинских работников комплекса вредных физических факторов, источниками которых она является: магнитные и электромагнитные поля и излучения, повышенный уровень шума, психофизиологические особенности трудового процесса.

*Целью* работы являлась гигиеническая оценка условий труда медицинских работников, выполняющих исследования на магнитно-резонансном томографе. Анализ комплексного влияния условий труда на функциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем работников. Обоснование гигиенических требований при эксплуатации магнитно-резонансных томографов и мер по гигиенической оптимизации условий труда работников кабинета МРТ.

На основании количественной и качественной оценки факторов производственной среды и трудового процесса подтверждены вредные условия труда врачей и лаборантов (1, 2 степень), выполняющих исследования на магнитно-резонансных томографах в медицинских учреждениях Республики Беларусь.

Результаты обследования медицинских работников кабинетов МРТ выявили изменения функционального состояния нервной и сердечно-сосудистой систем. В результате исследований была подтверждена высокая степень утомления зрительного анализатора (изменения критической частоты слияния мельканий у 79% врачей и лаборантов и снижение подвижности нервных процессов в корковом отделе зрительного анализатора), негативное влияние производственных факторов на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы. Динамический анализ variability сердечного ритма у 65% работников выявил превышение индекса напряженности сердечной деятельности по сравнению с физиологической нормой. По результатам суточного мониторинга артериального давления у работников кабинетов МРТ установлены признаки функциональной «рабочей» гипертензии при измененном циркадном ритме и нарушении вариаций частоты сердечных сокращений, что при отсутствии общесоматических причин напрямую свидетельствует о негативном влиянии производственных факторов на организм.

На основании исследований подготовлен и утвержден нормативный документ, устанавливающий гигиенические требования к условиям труда, устройству, оборудованию, содержанию и эксплуатации кабинетов магнитно-резонансной томографии — Санитарные нормы и правила «Требования к условиям труда медицинских работников, занятых в кабинетах магнитно-резонансной томографии», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 7 от 21.01.2013.

**Scientific substantiation of hygienic requirements to the working conditions of medical staff occupied in the rooms of magnetic resonance imaging**

*T.M. Rybina, E.K. Kazey, L.N. Denchuk*

There were developed the hygienic requirements to the working conditions of medical staff occupied in the rooms of magnetic resonance imaging.

УДК 616.233-002-036.12-057-084

**Медицинская профилактика производственно обусловленного хронического бронхита**

*С.И. Сычик, А.П. Сиваков, Т.М. Рыбина, С.А. Ляликов, Н.И. Саевич, Т.И. Грекова*

**Рубрика: 76.33.37**

*НИИР:* «Разработать критерии отбора и методы медицинской профилактики у работников с производственно обусловленным хроническим бронхитом».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.П. Сиваков.

*Организация-соисполнитель:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать методы медицинской профилактики производственно обусловленного бронхита и определить критерии отбора работников для проведения данных методов медицинской профилактики.

Учитывая Негаусовский характер распределения исследуемых показателей, при статистической обработке результатов исследования были использованы непараметрические методы. Для сравнения двух зависимых переменных (результаты обследования до и после лечения) использовали тест Вилкоксона (Wilcoxon Matched Pairs Test). Для множественного сравнения независимых переменных применялись тест Краскела–Уоллеса (Kruskal-Wallis ANOVA) и медианный тест (Median Test). Нулевая гипотеза (об отсутствии различий между переменными) отвергалась на уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

Определены и проанализированы уровни интерлейкинов сыворотки крови работников. Концентрация исследованных провоспалительных цитокинов в сыворотке крови составила IL-6 — 4,4 (9,8; 14,3), TNF- $\alpha$  — 3,60 (1,20; 7,47), что превышает референтные значения и значения группы сравнения и может подтверждать наличие хронического воспалительного процесса. Повышенное содержание IgG (15,9 $\pm$ 6,2 мг/мл), IgE (69,9 $\pm$ 15,6 мг/мл), а также концентраций интерлейкинов в сыворотке крови работников свидетельствует о нарушении иммунного статуса пациентов, напряженности иммунитета и необходимости проведения профилактических мероприятий. Установлено, что одна из основных причин развития хронических бронхитов у работников пылеобразующих производств — вторичный индуцированный иммунодефицит, наиболее характерным изменением в иммунном статусе является дефект в системе фагоцитоза. Оптимальным объектом исследования для доказательства этого служат факторы, наиболее тесно связанные с регуляцией процесса фагоцитоза и/или отражающие функциональную активность фагоцитов: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, ФНО- $\alpha$ , С3 и С4 компоненты комплемента, а также уровень иммуноглобулинов.

Доказано, что изученные факторы иммунного ответа тесно связаны с показателями, характеризующими состояние работников (функция внешнего дыхания, сатурация крови), что позволяет использовать их при формировании групп для проведения медицинской профилактики.

Установлено позитивное влияние магнито-, рефлексотерапии на показатели иммунологической реактивности, функции внешнего дыхания, психофизиологического состояния организма (отмечалось достоверное снижение показателей теста САТ ( $N = 7,82$ ;  $p = 0,02$ ), отмечена тенденция к увеличению среднего значения сатурации артериальной крови за 2-й этап и достоверный рост минимального значения сатурации артериальной крови за 1-й этап. Приросты разницы средних значений индекса наполнения пульса между 2-м и 1-м этапами и 3-м и 1-м этапами после профилактики были значимо более высокими у работников опытной группы, а также достоверно повысились показатели всех шкал теста САН (Самочувствие, Активность, Настроение) и увеличился результат итоговой оценки ( $p = 0,003$ ). Динамика концентрации IL-1 (IL-1 после профилактики—

IL-1 до профилактики) достоверно ( $\text{Chi-Square} = 12,74$ ;  $p = 0,002$ ) зависела от характера профилактических мероприятий. В опытной группе было достигнуто значимое снижение сывороточного содержания белка системы комплемента C3 ( $p = 0,003$ ). Установлен ряд корреляционных связей по иммунологическим показателям: достоверная отрицательная зависимость между уровнем ФНО- $\alpha$  и показателями внешнего дыхания работников (дыхательный объем (ДО):  $R = -0,44$ ;  $p < 0,03$ ; минутный объем дыхания (МОД) в покое:  $R = -0,51$ ;  $p < 0,01$ ). На уровне тенденции концентрация ФНО- $\alpha$  связана со степенью дыхательной недостаточности у работников ( $R = -0,45$ ;  $p = 0,06$ ), уровень иммуноглобулинов классов А, Е и G положительно коррелирует с МОД ( $R = 0,42$ ,  $p < 0,05$ ;  $R = 0,46$ ,  $p < 0,03$ ;  $R = 0,49$ ,  $p < 0,02$  соответственно). Концентрация IgM высокодостоверно положительно связана с уровнем сатурации крови кислородом при задержке дыхания ( $R = 0,55$ ;  $p < 0,01$ ) и гипервентиляции ( $R = 0,53$ ;  $p < 0,02$ ) и отрицательно — с индексом качества жизни ( $R = -0,79$ ;  $p < 0,04$ ), содержание компонента комплемента C3 положительно коррелирует с величиной SpO<sub>2</sub> при гипервентиляции ( $R = 0,47$ ;  $p = 0,05$ ). Динамика концентрации IL-1 (IL-1 после профилактики—IL-1 до профилактики) достоверно ( $\text{Chi-Square} = 12,74$ ;  $p = 0,002$ ) зависела от характера профилактики.

Таким образом, показано, что изучаемые факторы иммунного ответа тесно связаны с показателями, характеризующими состояние работников: характеристиками внешнего дыхания, степенью сатурации, степенью дыхательной недостаточности, что может являться показателями для формирования критериев отбора для ее проведения.

Разработана технология прогностической оценки и профилактического воздействия на работника, контактирующего с промышленным аэрозолем, путем определения у него следующих физиологических и клинико-лабораторных показателей: пол, степень дыхательной недостаточности, масса тела, индекс массы тела, возраст, длительность электрокардиографического интервала P, уровень гемоглобина, число эритроцитов, число лейкоцитов, СОЭ, жизненная емкость легких (ЖЕЛ), ДО, МОД, частота дыхания (ЧД), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду/форсированная жизненная емкость легких (ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ), индекс Тиффно, ритмокардиографический показатель Дельта, с расчетом интегральных показателей эффективности медицинской профилактики  $y_1$ ,  $y_2$  и  $y_3$  по формулам:

$$y_1 = -108421,9 \times m_1 + 25402,2 \times m_2 + 3588,1 \times m_3 - 4331,4 \times m_4 - 775,6 \times m_5 + 1217744,7 \times m_6 - 1953,8 \times m_7 + 84811,0 \times m_8 - 8880,4 \times m_9 - 4442,9 \times m_{10} - 2716,2 \times m_{11} - 390,3 \times m_{12} + 725,1 \times m_{13} - 2380,8 \times m_{14} + 3219,1 \times m_{15} + 4283,6 \times m_{16} - 1240,1 \times m_{17} + 340,6 \times m_{18} - 313484,1$$

$$y_2 = -104578,8 \times m_1 + 24501,2 \times m_2 + 3461,1 \times m_3 - 4177,6 \times m_4 - 747,8 \times m_5 + 1174714,3 \times m_6 - 1884,4 \times m_7 + 81805,7 \times m_8 - 8566,0 \times m_9 - 4285,3 \times m_{10} - 2619,7 \times m_{11} - 376,7 \times m_{12} + 699,4 \times m_{13} - 2296,4 \times m_{14} + 3105,1 \times m_{15} + 4131,4 \times m_{16} - 1196,1 \times m_{17} + 328,3 \times m_{18} - 291696,1$$

$$y_3 = -110524,9 \times m_1 + 25899,9 \times m_2 + 3657,3 \times m_3 - 4412,8 \times m_4 - 792,0 \times m_5 + 1241329,1 \times m_6 - 1992,6 \times m_7 + 86465,8 \times m_8 - 9054,8 \times m_9 - 4531,9 \times m_{10} - 2771,6 \times m_{11} - 398,3 \times m_{12} + 739,9 \times m_{13} - 2432,5 \times m_{14} + 3282,8 \times m_{15} + 4370,3 \times m_{16} - 1265,7 \times m_{17} + 346,9 \times m_{18} - 325676,9$$

где  $y_1$ ,  $y_2$ ,  $y_3$  — интегральные показатели эффективности медицинской профилактики 1, 2, 3 соответственно. Окончательную прогностическую оценку дают на основании сравнения вычисленных интегральных показателей. Разработанный способ является основанием к рациональному использованию методов оздоровления и повышения работоспособности лиц, занятых в условиях воздействия промышленного аэрозоля. Заявлен патент.

*Область применения:* профпатология, пульмонология, профилактическая медицина.

*Рекомендации по использованию:* реализация разработанного способа возможна в любом УЗ.

*Предложения по сотрудничеству:* возможна продажа разработки на основе патентов.

#### Medical prevention of work-related chronic bronchitis

*S.I. Sychik, A.P. Sivakov, T.M. Rybina, S.A. Lyalikov, N.I. Saevich, T.I. Grekova*

It was revealed that the immune response of the staff with chronic bronchitis is closely connected with the spirometry parameters and blood saturation. The criteria for formation of groups and methods of physiotherapy and reflexotherapy for medical prevention of chronic bronchitis were developed.

УДК 616.2-057-084

#### Профилактика профессиональных и производственно обусловленных заболеваний органов дыхания

*Т.М. Рыбина, С.И. Сычик, Е.В. Амельченко, Н.В. Дудчик, Т.К. Данилова, О.В. Цуканова*

**Рубрика: 76.33.37**

*НИР:* «Изучить особенности формирования профессиональных и производственно обусловленных заболеваний органов дыхания и разработать меры профилактики».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. Т.М. Рыбина.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучить особенности формирования профессиональных и производственно обусловленных заболеваний органов дыхания на основе определения уровня цитокинов, полиморфизма генов, участвующих в регуляции активации и гомеостаза Т-лимфоцитов, цитокинов; разработать меры профилактики, направленные на снижение заболеваемости, смертности и инвалидизации работников.

В настоящее время перспективным направлением профилактики профессиональных заболеваний дыхания является оценка индивидуального риска и управление им. В основе данного направления лежит прогнозирование индивидуальной предрасположенности к развитию заболеваний. Известно, что основу патогенеза профессиональных болезней органов дыхания составляет самоподдерживающийся воспалительный процесс, индуцированный различными аэрополлютантами (профессиональные факторы, курение и другие), реализующийся при наличии определенной генетической конституции. Генетический полиморфизм ферментов метаболизма ксенобиотиков является важнейшим фактором, определяющим индивидуальную чувствительность организма рабочих к вредным химическим веществам производственной среды и формирующим предрасположенность к развитию профессиональной патологии.

Определены биомаркеры предрасположенности и/или устойчивости к формированию профессиональных и производственно обусловленных заболеваний органов дыхания. Выявлена частота встречаемости семи молекулярно-генетических вариантов (гены TNF- $\alpha$ , ERHX1, CAT, IL1, IL6) и четырех иммунологических показателей (гены IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) у работников с профессиональными заболеваниями органов дыхания (240 человек) и у лиц, занятых во вредных условиях труда, но не имеющих заболеваний органов дыхания (60 человек).

Изучен полиморфизм гена микросомальной эпоксид-гидролазы у работников с установленным диагнозом профессионального заболевания органов дыхания. Статистический анализ результатов молекулярно-генетических исследований проводился с использованием статистического пакета Statistica 6.0. Значимость различий между группами по частотам встречаемости аллелей и генотипов исследованных полиморфизмов оценивали по критерию  $\chi^2$  при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Анализ данных показал, что по полиморфизму в позиции T337C дикий тип (CC генотип) определен у 8,6% обследованных работников с профессиональными заболеваниями легких, генотип СТ — у 41,3%, генотип ТТ — у 50,1%. В позиции A416G в группе исследования установлен дикий тип (AA генотип) у 59,8%, генотип AG — у 37,6%, генотип GG — у 2,6% работников.

Исследования полиморфизма гена ERHX1 в 3-м экзоне T337C установили присутствие мутантной аллели Т у 69,3% работников с профессиональными заболеваниями органов дыхания, в 4-м экзоне A416G мутантный аллель G встречался у 21,4% работников.

Установлены статистически достоверные различия по встречаемости дикого генотипа AA и гетерозигот в позиции A416G между группой работников с пнев-

мокониозами и группой сравнения: в 1-й группе дикий генотип встречался достоверно чаще в сравнении с группой сравнения ( $\chi^2 = 4,40$ ;  $p = 0,036$ ). Выявлено более редкое присутствие дикого генотипа AA у работников с ХОБЛ при сравнении с группой работников с пневмокониозами ( $\chi^2 = 4,14$ ;  $p = 0,04$ ). Гетерозиготы AG в группе работников с пневмокониозами встречались достоверно реже в сравнении с работниками группы ХОБЛ ( $\chi^2 = 4,39$ ;  $p = 0,036$ ).

Данные исследования выявили статистически достоверные различия по встречаемости дикого генотипа AA и гетерозигот в позиции A416G между группами работников с заболеваниями органов дыхания и контроля. Таким образом, полиморфизм гена ERHX1 по локусу A416G может являться одним из предрасполагающих факторов развития профессиональных заболеваний органов дыхания, в частности пневмокониоза, а работа в условиях воздействия промышленного аэрозоля — пусковым фактором в развитии данной патологии. Установлено, что для массового скрининга работников и профессионального отбора может использоваться определение полиморфизма в 5' нетранслируемом районе гена фактора некроза опухоли в позиции G(-308)A. Присутствие аллели А повышает риск развития заболеваний органов дыхания. Чувствительность теста составляет 89%, специфичность — 53% (прогностическая эффективность маркера (AUC) = 0,71 единиц).

Исследование полиморфизма гена ERHX1 по локусу A416G может быть использовано для скринингового обследования коллективов работников с целью выделения их в группы риска по формированию профессиональных заболеваний органов дыхания, также позволяет информировать работника о высоком риске возникновения заболевания при приеме на работу в условиях воздействия производственного пылевого фактора.

Разработан метод определения риска развития профессиональных и производственно обусловленных заболеваний органов дыхания, включающий в себя балльную оценку установленных факторов риска, изложенный в одноименной инструкции, которая применяется в учреждениях здравоохранения в области профпатологии, пульмонологии, профилактической медицины.

#### **Prevention of occupational and work-related pulmonary diseases**

*T.M. Rybina, S.I. Sychik, E.V. Amelchenko, N.V. Dudchik, T.K. Danilova, O.V. Tsukanova*

There were determined immunologic and genetic markers of professional and work related respiratory diseases; the methods of their prevention were developed.

УДК 613.632:616-057

#### **Нарушения эндоэлементного статуса человека в условиях воздействия химических факторов производственной среды**

*В.А. Зайцев, Л.С. Ивашкевич, Т.М. Рыбина, З.Т. Бутько, А.А. Плешкова*

Рубрика: 76.33.37

*НИИР*: «Разработать и внедрить критерии оценки нарушений эндоэлементного статуса человека в условиях воздействия химических факторов производственной среды».

*Сроки выполнения НИИР*: январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель*: канд. мед. наук В.А. Зайцев.

*Источник финансирования*: госбюджет.

*Цель* — разработать и внедрить критерии оценки эндоэлементного статуса человека для предупреждения развития профессионально обусловленной и неинфекционной патологии при воздействии химических факторов производственной среды у рабочих крупного машиностроительного предприятия республики.

Изучено содержание химических неорганических ксенобиотиков в воздушной среде рабочих мест литейных и сварочных производств Минского тракторного завода (алюминия, кальция, кадмия, хрома, меди, железа, магния, марганца, никеля, фосфора, свинца, кремния, цинка, титана). Установлено, что для всех рабочих мест содержание химических элементов не превышало средних гигиенических нормативов, за исключением железа и марганца, содержание которых для некоторых рабочих мест сварщиков превышало гигиенические нормативы по железу в 2 раза, по марганцу — в 1,5–8,5 раза.

Выполнены клинико-лабораторные исследования с анализом минерального состава образцов цельной крови и волос головы работников литейных и сварочных производств Минского тракторного завода на содержание 12 химических элементов (кальций, магний, фосфор, медь, цинк, железо, алюминий, марганец, хром, никель, свинец, кадмий).

Корреляционный анализ установил положительную связь средней силы между количеством марганца в воздухе рабочей зоны и содержанием железа, фосфора и цинка в волосах головы, кадмия и фосфора в крови работающих, между количеством железа в воздухе рабочей зоны и содержанием фосфора и цинка в волосах головы и кадмия в крови работающих.

На основании исследований разработаны Инструкция по применению № 024-1211 «Диагностика и профилактика токсических микроэлементозов у работников литейных и сварочных производств», утвержденная заместителем Министра здравоохранения – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 15.12.2011, Инструкция по применению № 013-1114 «Метод оценки нарушений эндоэлементного статуса человека в условиях воздействия химических факторов производственной среды», утвержденная Первым заместителем Министра здравоохранения Республики Беларусь 12.12.2012.

#### **Violations of the element status in the staff due to the influence of industrial chemical factors**

*V.A. Zaitsev, L.S. Ivashkevich, T.M. Rybina, Z.T. Butko, A.A. Pleshkova*

There were developed the criteria for estimation of the element status of the staff and the methods for prevention

of occupational pathology due to the influence of industrial chemical factors.

УДК 615.9:504

#### **Оценка интегральной токсичности объектов окружающей среды методами биотестирования**

*Н.В. Дудчик, Е.В. Дроздова*

**Рубрики: 76.01.94; 76.35.45**

*НИИР*: «Обосновать требования и разработать методы оценки интегральной токсичности объектов окружающей среды».

*Сроки выполнения НИИР*: январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научные руководители*: канд. биол. наук Н.В. Дудчик, канд. мед. наук Е.В. Дроздова.

*Источник финансирования*: госбюджет.

Техногенное загрязнение окружающей среды в настоящее время приобрело глобальное значение. Существующая традиционная система контроля состояния и безопасности объектов окружающей среды для человека, основанная на химико-аналитических методах, может привести к заведомой недооценке опасности, не позволяя предусмотреть результат комбинированного действия двух и более токсичных веществ, присутствующих в малых количествах, а также токсичность их производных. В связи с этим для оценки токсичности целесообразно использовать показатель интегральной токсичности — токсичность объекта окружающей среды, обусловленная всей совокупностью присутствующих химических поллютантов. Для оценки интегральной токсичности используют методы биотестирования — процедуру установления токсичности среды с помощью тест-объектов по изменению их жизненно важных функций.

Разработанные специалистами ГУ «Республиканский научно-практический гигиены» методы оценки интегральной токсичности объектов окружающей среды явилась итогом выполнения научно-исследовательской работы, в рамках которой получены следующие результаты.

Обоснованы научно-методические подходы для использования популяционных, субпопуляционных и морфологических параметров тест-моделей с целью отбора маркеров выявления интегральной токсичности на основе анализа предлагаемых в ЕС критериев оценки токсичности объектов, ретроспективного изучения микрофлоры как перспективных тест-моделей при биотестировании и определения критериев формирования батареи тестов для эффективной оценки интегральной токсичности и мутагенной активности объектов окружающей среды.

Проведены экспериментальные исследования чувствительности тест-культур к эталонным референс-веществам при тестировании интегральной токсичности и определен перечень референс-веществ для оценки релевантности методов биотестирования. В результате экспериментального изучения популяци-

онных, кинетических, морфологических и биохимических параметров тест-культур отобраны информативные критерии оценки интегральной токсичности и суммарной мутагенной активности. Проведена оптимизация параметров проведения тестирования, в т. ч. рабочие параметры тест-культур, состав питательных сред, время и температурные режимы при проведении тестов. Получены новые данные о тинкториально-морфологических, культуральных, биохимических параметрах тест-объектов.

Разработаны батареи методов оценки интегральной токсичности объектов окружающей среды в краткосрочных тестах.

Разработанные методы будут использованы для совершенствования действующей системы оценки и контроля безопасности среды обитания человека, основанной на традиционной санитарно-гигиенической практике, предоставляя объективную характеристику действительных химических рисков. Методы обеспечивают достоверность, воспроизводимость результатов, точность, простоту исполнения, гуманизацию токсикологических экспериментов.

Разработанные методы обладают достаточными относительной точностью (в диапазоне 95–99%), относительной чувствительностью (95–98%) и относительной специфичностью (95–100%), что свидетельствует о возможности их использования при тестировании различных объектов окружающей среды.

Определены критерии формирования батареи тестов для эффективной оценки интегральной токсичности и мутагенной активности объектов окружающей среды. Расширение круга тест-систем и формирование их в батареи тестов значительно расширяет возможности биотестирования, в ряде случаев удешевляет проведение экспериментов и сокращает объемы исследований.

Обобщение полученных данных с учетом чувствительности методов к отдельным группам веществ и особенностей тестируемых сред (вода, вытяжка и т. д.) позволило определить последовательность этапного тестирования, основанную на метрологических параметрах методов (точность, чувствительность, воспроизводимость, диапазон оценки токсичности), а также по степени эволюционной организации тест-модели. Краткосрочные тесты, включаемые в батарею, являются взаимодополняющими, т. е. отличаются по конечному эффекту (повреждение ДНК, генные мутации, хромосомные aberrации и др.), по уровню биологической организации объекта исследования (прокариоты, эукариоты, системы *in vitro*, *in vivo*). Отобранные в батарею тесты прошли верификацию на соединениях с известной токсической активностью.

Проведена апробация разработанных методик оценки интегральной токсичности и суммарной мутагенной активности для их адаптации к различным объектам исследования: поверхностным и сточным водам, воде питьевой водопроводной, почве, седиментам.

Подана заявка на изобретение № а20110732 от 30.05.2011 «Способ количественной оценки ингибирующего действия образца поверхностных, подземных или сточных вод на рост популяции бактерий рода

*Pseudomonas*» (авторы Дудчик Н.В., Половинкин Л.В., Застенская И.А., Дроздова Е.В., Трешкова Т.С.), получен приоритет.

Методы внедрены в ГУ «Республиканский научно-практический гигиены» в 2012 г.

*Область применения:* оценка объектов окружающей среды, химических веществ и их смесей. Использование краткосрочных тестов для определения токсического действия позволило повысить эффективность токсикологических исследований за счет оптимизации материальных и временных затрат. Разработанные подходы использованы для совершенствования действующей системы оценки и контроля безопасности среды обитания человека, давая объективную характеристику действительных химических рисков, что обусловило их социальный эффект.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь ГУ «РНПЦ гигиены» при внедрении технологии оценки интегральной токсичности объектов окружающей среды методами биотестирования. Перспективными представляются совместные исследования по обоснованию требований и разработке альтернативных методов оценки токсического воздействия в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики, а также документов международных организаций, принятых в качестве гармонизирующих и стандартизирующих при проведении краткосрочных тестов.

#### **Assessment of Integrated toxicity of environmental objects with the help of biotesting methods**

*N.V. Dudchik, E.V. Drozdova*

The following results were received: there were selected the strains of sensitive microorganisms for estimation of integrated toxicity of environmental objects; there were studied the features of development of microorganisms in periodic and fixed systems; there were defined kinetic parameters of growth of test cultures on different phases of development; there were selected the informative criteria of estimation for revealing the reaction of pro- and eukaryotic cells on xenobiotics; there were defined the criteria of composition of test-batteries for effective estimation of integrated toxicity and mutagen activity of objects. Generalization of the received data, taking into account the sensitivity of methods to specific groups of substances and features of the tested environmental objects (water, extracts, etc.) helped to define the sequence of testing, based on metrological parameters of the methods and on the evolutionary degree of test model.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 614.71:616-084]:613.6.02

#### **К совершенствованию оценки риска загрязняющих веществ для здоровья населения**

*Т.Д. Гриценко, С.М. Соколов,  
Л.М. Шевчук, Т.Е. Науменко, С.Т. Андрианова,  
А.Е. Пишегорода, А.Н. Ганькин*

Рубрика: 76.33.33

*НИИР:* «Разработать и внедрить методологию комплексной оценки риска воздействия загрязнений атмосферного воздуха на здоровье населения для обеспечения ведения предсаннадзора».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. Т.Е. Науменко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать методологию комплексной оценки риска воздействия загрязнений атмосферного воздуха на здоровье населения для обеспечения ведения предсаннадзора.

Научная новизна исследований заключается в совершенствовании методологии оценки риска воздействия загрязнений атмосферного воздуха на здоровье населения.

В международной практике обоснование приоритетов об ограничении или развитии региона, об инвестициях в экономику принимаются с учетом оценки риска для здоровья населения последствий планируемого вида деятельности. Действующие до настоящего времени Методические рекомендации по гигиенической оценке качества атмосферного воздуха и эколого-эпидемиологической оценке риска для здоровья населения используются свыше 10 лет (МР 113-9711 от 10.02.1998).

Унифицирована методология комплексной гигиенической оценки риска воздействия загрязняющих веществ в атмосферном воздухе на здоровье населения, состоящая из этапов: аналитический обзор и экспертиза представленной документации на соответствие действующим техническим нормативным правовым актам Республики Беларусь и разработка программы исследования; идентификация опасности; определение приоритетного перечня загрязняющих веществ для процедуры оценки риска; токсиколого-гигиеническая характеристика основных приоритетных загрязняющих веществ для проведения процедуры оценки риска; расчет комплексного показателя загрязнения атмосферного воздуха и гигиеническая оценка степени загрязнения атмосферного воздуха в расчетных точках; гигиеническая оценка популяционного здоровья населения по эколого-эпидемиологической шкале риска; расчет риска рефлекторного, хронического, канцерогенного действия; индексов, коэффициентов опасности загрязняющих веществ и оценка риска их воздействия на здоровье населения; расчет и оценка риска влияния приоритетных загрязняющих веществ в атмосферном воздухе на критические органы и системы (центральная нервная система, органы дыхания, сердечно-сосудистая система, кроветворная система и другие).

Усовершенствован алгоритм расчета комплексного показателя загрязнения атмосферного воздуха «Р», учитывающего кратность превышения предельно допустимых концентраций, класс опасности и количество совместно присутствующих загрязняющих веществ, разных периодов осреднения. Разработаны критерии гигиенической оценки качества атмосферного воздуха по среднесуточным и максимально разовым

концентрациям комплекса загрязняющих веществ и по отдельному веществу. Проведена апробация предложенного алгоритма расчета на ряде предприятий различных отраслей промышленности. Выполнен ретроспективный анализ уровней заболеваемости населения в динамике за период 2002–2009 гг., одновременно установлены величины риска рефлекторного и хронического действия, индексы и коэффициенты опасности для критических органов и систем организма.

На основании исследований подготовлена и утверждена Инструкция по применению № 025-1211 «Методика оценки риска здоровью населения факторов среды обитания», утвержденной Заместителем Министра здравоохранения Республики Беларусь 08.06.2012.

Предложенная методология оценки риска здоровью позволит получать достоверные результаты и величины потенциального риска для здоровья населения от предприятий и объектов любого вида хозяйственной деятельности (на этапах проектирования и строительства), а также может использоваться при разработке стратегических планов и программ.

*Область применения:* учреждения Министерства здравоохранения, осуществляющие государственный санитарный надзор

*Рекомендации по использованию:* в научно-практических центрах гигиенического профиля и учреждениях образования медицинского профиля.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Improvement of risk assessment of pollutants**

*T.D. Gritsenko, S.M. Sokolov,  
L.M. Shevchuk, T.E. Naumenko, S.T. Andrianova,  
A.E. Pshegroda, A.N. Gankin*

There was developed the methodology of integrated risk assessment of pollutants in the air.

*Field of application:* institutions of the Ministry of Health.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 614.71:661.92]:613.6.02

#### **Расчетно-программный комплекс по оценке риска воздействия на здоровье населения качества атмосферного воздуха**

*С.М. Соколов, Т.Д. Гриценко,  
А.Е. Пшегрода, Л.М. Шевчук, Т.Е. Науменко,  
А.Н. Ганькин, С.Т. Андрианова*

**Рубрика: 76.33.33**

*НИИР:* «Разработать и внедрить методологию комплексной оценки риска воздействия загрязнений атмосферного воздуха на здоровье населения для обеспечения ведения предсаннадзора».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. Т.Е. Науменко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать расчетно-программный ком-

плекс по оценке риска воздействия на здоровье населения качества атмосферного воздуха при установлении оптимальных размеров санитарно-защитных зон с учетом результатов расчета рассеивания загрязняющих веществ в атмосферном воздухе.

Разработан расчетно-программный комплекс, позволяющий в кратчайшие сроки и с минимальными затратами получить достоверные данные по оценке риска воздействия загрязняющих веществ в атмосферном воздухе для принятия управленческих решений.

Практическим инструментом оценки воздействия на здоровье факторов окружающей среды является методология оценки риска, которая официально признана и развивается Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) и другими международными организациями и учреждениями. В то же время требуют усовершенствования компьютерные алгоритмы и программы расчета риска.

В результате был разработан расчетно-программный комплекс «Компьютерная информационно-расчетная система по оценке риска воздействия качества атмосферного воздуха на здоровье населения», автоматизирующий процессы расчета и анализа риска.

Расчетно-программный комплекс реализует положения, изложенные в Инструкции по применению № 025-1211 «Методика оценки риска здоровью населения факторов среды обитания», утвержденной заместителем министра здравоохранения Республики Беларусь 08.06.2012 г. Он представляет собой компьютерную программу, которая автоматизирует процессы расчета комплексного показателя «Р» загрязнения атмосферного воздуха, расчета риска рефлекторного, хронического, канцерогенного действия, индексов и коэффициентов опасности загрязняющих веществ.

При разработке интегрированной информационной системы по оценке риска подготовлена электронная база данных, содержащая информацию о риске для здоровья и сведения о конкретных химических веществах. Ядром системы является собрание файлов, в которых представлены токсиколого-гигиеническая характеристика приоритетных загрязняющих химических веществ и их гигиенические нормативы — предельно допустимые концентрации, класс опасности, преимущественный характер действия на органы и системы. Сопроводительная документация включает: алфавитный список химических веществ, согласно нумерации CAS (Chemical Abstracts Service); описание положений и методов (Инструкция по применению); руководство пользователя с подробным описанием процедур; перечень терминов и определений по оценке риска.

Проведена апробация расчетно-программного комплекса при установлении оптимальной достаточности размеров санитарно-защитных зон различных объектов аграрного и промышленного назначения, подлежащих государственной санитарно-гигиенической экспертизе.

Условиями работы расчетно-программного комплекса являются: операционная система семейства Windows 98/2000/XP/Vista/7; процессор не ниже Пен-

тум 3, 1000 МГц; память не менее 512 Мб; на винчестере свободного места не менее 100 Мб. Язык программирования: Object Pascal из пакета Borland Delphi 6.0.

Разработанный расчетно-программный комплекс проводит вычисление следующих параметров риска, необходимых для проведения гигиенической оценки:

- расчет величин поступления: средняя суточная доза в течение жизни (LADD);
- расчет и анализ уровня потенциального риска немедленного действия;
- расчет потенциального риска хронического действия;
- расчет коэффициента (потенциальный риск развития неканцерогенных эффектов) и индекса (риск комбинированного воздействия химических соединений) опасности в условиях кратковременного (острого) и длительного (хронического) воздействия;
- расчет единичного риска;
- расчет значения общей и среднесуточной потенциальной дозы;
- расчет референтной дозы;
- расчет концентраций (среднегодовой, среднесуточной и максимальной разовой).

В результате исследований подготовленный и апробированный расчетно-программный комплекс «Компьютерная информационно-расчетная система по оценке риска воздействия качества атмосферного воздуха на здоровье населения» зарегистрирован в отраслевом фонде алгоритмов и программ (ОФАП, БелЦМТ) ИНВ № 000238 от 06.12.2012.

*Область применения:* учреждения Министерства здравоохранения, осуществляющие государственный санитарный надзор.

*Рекомендации по использованию:* в научно-практических центрах гигиенического профиля и учреждениях образования медицинского профиля.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Software for the risk assessment of air quality on human health**

*S.M. Sokolov, T.D. Gritsenko,  
A.E. Pshetroda, L.M. Shevchuk, T.E. Naumenko,  
A.N. Gankin, S.T. Andrianova*

There was developed a program complex "Computer Information system for risk assessment of air quality on human health", that automates the calculation process and risk analysis. The computer program automates the process of calculation of complex index "P" of air pollution, acute risk, chronic risk, the risk of carcinogenic effects, indices, coefficients, and the risk factors of pollutants.

*Field of application:* institutions of the Ministry of Health, state sanitary inspection.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ И ЭКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

УДК 614.876.06:621.039.58

### Методический подход к реконструкции индивидуализированных доз внутреннего облучения населения, проживающего на радиоактивно загрязненной территории

Н.Г. Власова, Е.А. Дрозд, А.Н. Матарас, Л.Н. Эвентова,  
Ю.В. Висенберг, Г.Н. Евтушкова

Рубрика: 76.33.39

Тема НИИР: «Разработать и внедрить программное обеспечение для расчета индивидуализированных накопленных доз облучения лиц, включенных в Государственный регистр».

Сроки выполнения НИИР: январь 2011 г. — декабрь 2015 г.

Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. Н.Г. Власова.

Источник финансирования: госбюджет.

Для проведения радиационно-эпидемиологических исследований по установлению зависимости «доза–эффект» необходимо знание индивидуальных накопленных с момента аварии доз облучения. Государственный регистр лиц, подвергшихся воздействию радиации вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС (Госрегистр), является основным инструментом при радиационно-эпидемиологических исследованиях. В Госрегистре содержатся сведения о дозах облучения менее чем у 2% населения. Поэтому актуальной задачей является реконструкция индивидуализированных накопленных с момента аварии доз у пострадавшего населения.

Особую трудность представляет разработка метода расчета индивидуализированной дозы внутреннего облучения, поскольку она является весьма варибельной:

разброс доз в населенном пункте достигает 2 порядков величины.

Очевидно, следует использовать параметры, наиболее полно характеризующие индивида в плане формирования дозы облучения и так или иначе определяющие восприятие фактора радиационной опасности, причем эти параметры должны быть устойчивы во времени. Такими факторами могут быть пол и возраст, т. к. лишь они являются доступными: в Госрегистре, к сожалению, имеется только индивидуальная информация об этих факторах.

К настоящему времени в Беларуси в результате многолетнего СИЧ-мониторинга накоплен большой объем данных об индивидуальных измерениях содержания радионуклидов цезия в организме человека (более 2,5 млн записей), что может быть использовано в качестве основы для разработки метода реконструкции индивидуализированных доз внутреннего облучения.

В исследование включено более 73000 данных СИЧ-измерений жителей Лельчицкого, Ельского и Наровлянского районов Гомельской области, составляющих Полесский регион за период с 1990 по 2000 гг. Для корректности сравнения доз внутреннего облучения проведено нормирование на плотность загрязнения соответствующего населенного пункта.

В результате статистического анализа выявлено значимое различие по среднему значению дозы внутреннего облучения между мужчинами и женщинами. Достоверность различий выборки подтверждена с помощью теста Колмогорова–Смирнова при уровне значимости  $p < 0,05$ .

В табл. 1 представлены средние значения нормированной на плотность загрязнения дозы внутреннего облучения мужчин и женщин за каждый год исследуемого периода.

Различие по среднему значению нормированной

Таблица 1

Средние значения нормированной дозы внутреннего облучения

Год	Мужчины			Женщины			различие, %
	число обследованных на СИЧ	среднее, (мЗв/год) / (Ки/км <sup>2</sup> )	*СГО	число обследованных на СИЧ	среднее, (мЗв/год) / (Ки/км <sup>2</sup> )	*СГО	
1990	3760	0,289	2,3	3713	0,256	2,0	11
1991	2559	0,186	2,3	2683	0,141	2,3	24
1992	1562	0,183	2,4	1478	0,129	2,7	30
1993	1377	0,219	1,7	1293	0,146	2,1	34
1994	2719	0,151	2,1	2405	0,097	2,3	36
1995	3743	0,139	2,5	3533	0,087	2,5	37
1996	4991	0,230	2,1	4595	0,155	2,0	33
1997	3918	0,213	2,1	3510	0,150	2,3	29
1998	4338	0,210	2,0	3721	0,147	2,0	30
1999	5140	0,130	2,4	4731	0,076	2,6	41
2000	3892	0,089	3,4	3585	0,062	3,5	30

Примечание: \*СГО — стандартное геометрическое отклонение распределения нормированной на плотность загрязнения дозы внутреннего облучения: отношение 84%-го квантиля к 50%-му квантилю (медиане).

дозы внутреннего облучения между мужчинами и женщинами в среднем составляет 30%.

Изучены возрастные различия в формировании дозы внутреннего облучения. Методом однофакторного дисперсионного анализа выявлены четыре возрастные группы, достоверно различающиеся по среднему значению дозы внутреннего облучения. В первую груп-

пу вошли дети дошкольного возраста от 0 до 6 лет, во вторую — школьники и учащиеся от 6 до 18 лет, в третью — лица от 18 до 60 лет и в четвертую — лица 60 лет и старше.

В табл. 2 представлены средние значения нормированной дозы внутреннего облучения по годам для каждой возрастной группы.

Таблица 2

## Средние дозы внутреннего облучения возрастных групп

Год	Возрастные группы, годы							
	0–6		7–17		18–59		≥60	
	Кол-во СИЧ-измерений	Среднее	Кол-во СИЧ-измерений	Среднее	Кол-во СИЧ-измерений	Среднее	Кол-во СИЧ-измерений	Среднее
1990	952	0,207	1796	0,250	3936	0,273	789	0,401
1991	189	0,098	1005	0,120	2938	0,167	1110	0,201
1992	140	0,043	608	0,064	1721	0,177	571	0,222
1993	64	0,055	551	0,134	1651	0,194	404	0,229
1994	112	0,033	1784	0,068	2642	0,155	586	0,182
1995	531	0,047	2739	0,080	3330	0,148	676	0,141
1996	564	0,101	2849	0,122	5053	0,240	1120	0,215
1997	321	0,051	1629	0,095	4367	0,208	1111	0,257
1998	558	0,072	2355	0,105	4167	0,228	979	0,225
1999	648	0,026	3104	0,049	4951	0,144	1168	0,126
2000	588	0,024	2165	0,047	3902	0,099	822	0,079

С целью установления места среднего значения дозы каждой возрастной группы на кривой распределения

были определены квантили распределения дозы средних значений. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

## Квантили распределения дозы внутреннего облучения

Год	Значение квантиля распределения дозы по возрастным группам, %			
	0–6 лет	7–17 лет	18–59 лет	≥60 лет
1990	43	53	68	83
1991	36	47	73	79
1992	20	31	72	79
1993	10	46	68	76
1994	13	38	74	81
1995	28	55	78	76
1996	31	40	76	71
1997	16	33	71	81
1998	21	35	75	80
1999	19	40	79	75
2000	33	47	77	72
<b>В среднем</b>	<b>26</b>	<b>45</b>	<b>74</b>	<b>78</b>

Как видно из данных табл. 3, значения квантилей распределения дозы для каждой группы существенно различаются.

Кроме того, наблюдается устойчивость относительной нормированной дозы внутреннего облучения во времени для каждой возрастной группы.

Так, доза внутреннего облучения группы, включающей детей до 6 лет, в среднем соответствует 26%-му квантилю распределения дозы; второй группы, включающей детей и подростков в возрасте от 7 до 17 лет, соответствует 45%-му квантилю распределения дозы внутреннего облучения. Третья и четвертая группы,

взрослые и лица старше 60 лет — 74%-му и 78%-му квантилям распределения дозы соответственно.

Установленные значимые различия в формировании дозы внутреннего облучения по полу и возрасту, а также выявленная устойчивость дозы во времени будут использованы для разработки метода оценки накопленных с момента аварии индивидуализированных доз внутреннего облучения лиц, включенных в Госрегистр.

*Область применения:* дозиметрия и радиационная защита.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования будут использованы для реконструкции индивидуальных доз облучения лиц, включенных в Госрегистр.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по теме.

### **Methodical approach to individualized internal dose in inhabitants of contaminated territories**

*N.G. Vlasova, E.A. Drozd, A.N. Mataras, L.N. Eventova, Yu.V. Visenberg, G.N. Evtushkova*

Gender and age differences in internal dose were revealed. Stability of average relative internal dose in age dependent male and female groups was revealed. It may be used for development of the method for accumulated individualized internal dose assessment for persons included in the State Registry.

*Field of application:* dosimetry and radiation protection.

*Recommendations for use:* the results of the study may be used for reconstruction of the individualized internal doses of persons included in the State Registry.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.155.392-036.11:575.224.22

### **Анализ распространенности генных мутаций FLT3, NPM1, СЕВРА и р53 в группе пациентов с острым нелимфобластным лейкозом**

*А.Е. Силин, В.Н. Мартинков, Д.К. Новик, Ж.М. Козич, И.Б. Тропашко, В.К. Шнудейко, А.А. Силина, А.В. Воропаева, С.М. Мартыненко*

**Рубрика: 76.03.39**

*НИР:* «Провести анализ распространенности наиболее значимых генных мутаций и хромосомных aberrаций в группах взрослых пациентов с миелодиспластическим синдромом и острым нелимфобластным лейкозом».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук А.Е. Силин.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Важной составляющей лечения острых нелимфобластных лейкозов (ОНЛЛ) является своевременный прогноз заболевания и оценка на каждом из этапов лечения эффективности терапии.

В настоящее время особое внимание уделяется поиску молекулярно-генетических маркеров при ОНЛЛ. По данным различных исследований, ОНЛЛ часто

сопровождается соматическими мутациями ряда генов. К их числу относятся ген FLT3, мутации которого (FLT3-ITD и FLT3 D835), по данным литературы, определяют неблагоприятный прогноз, ген NPM1 (благоприятный прогноз, кроме случаев сочетания с мутациями FLT3), ген СЕВРА (благоприятный прогноз) и ген р53 (неблагоприятный прогноз).

*Цель* — анализ вклада мутаций генов FLT3, NPM1, СЕВРА и р53 в формирование оценки прогноза заболевания у пациентов с ОНЛЛ и миелодиспластическим синдромом МДС (вариант — рефрактерная анемия с избытком бластов, РАИБ).

В целом в исследовании на добровольной основе приняли участие 120 пациентов, проходивших лечение в период 2009–2013 гг. в гематологическом отделении для взрослых ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». В зависимости от диагноза данные пациенты разделены на две группы — МДС РАИБ и ОНЛЛ. Группа пациентов с МДС включала 23 человека — 14 мужчин и 9 женщин; средний возраст 58 лет. Группа с ОНЛЛ сформирована из 97 пациентов, из них 38 мужчин и 59 женщин; средний возраст 54 года.

По классификации FAB группа исследования из числа пациентов с ОНЛЛ подразделялась на 5 подгрупп (M0-M4).

Мутации FLT-ITD и NPM1 анализировали методом ПЦР со специфическими праймерами, фланкирующими 14–15 экзоны гена FLT3 и 11 интрон-12 экзон гена NPM1 с последующей электрофоретической детекцией в 2,7% агарозном геле с окраской бромистым этидием. Мутацию FLT3 D835 анализировали посредством метода RFLP-PCR с рестриктазой EcoRV. Мутации гена СЕВРА выявляли методом SSCP-PCR в пределах всей кодирующей последовательности гена посредством 12% неденатурирующего полиакриламидного гель-электрофореза с окраской серебром. Таким же методом анализировали мутации гена р53 в пределах 5–9 экзонов. Для идентификации мутаций генов СЕВРА и р53 проводили секвенирование с прямым и обратным праймерами посредством генетического анализатора AB3500.

В результате молекулярно-генетического анализа в группе пациентов с МДС РАИБ было выявлено два случая соматических мутаций FLT3-ITD (8,7±5,9%), а также два случая мутации NPM1 (8,7±5,9%).

При ОНЛЛ было выявлено 50 случаев наличия в крови и/или костном мозге различных мутаций из числа анализируемых: в 22 случаях (22,7±4,3%) — мутация FLT-ITD, в 21 (21,6±4,2%) — мутация гена NPM1, в клиническом материале 7 пациентов (7,2±2,6%) — мутация D835 гена FLT3.

Наблюдались различия в составе и частоте встречаемости анализируемых мутаций в различных подгруппах пациентов с ОНЛЛ (рис. 1).

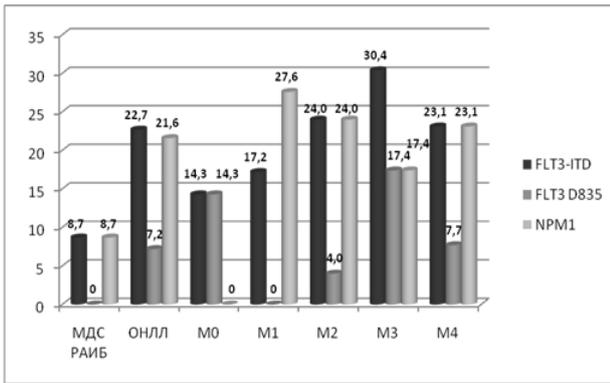


Рис. 1. Распространенность мутаций генов FLT3-ITD и NPM1 в исследуемых группах и подгруппах пациентов с МДС РАИБ и ОНЛЛ

В ходе SSCP-анализа гена СЕВРА в целом были выявлены 14 случаев подтвержденных секвенированием мутаций, которые встречались только в группе ОНЛЛ. У трех пациентов были выявлены по две мутации, локализованные в различных анализируемых фрагментах. В подавляющем большинстве наблюдений выявлены мутации в виде инсерций или делеций, включая относительно крупные — от 3 до 18 пар нуклеотидов. Также отмечены 4 случая однонуклеотидных замен. При этом в трех случаях мутация представляла собой синонимическую замену g.5512G>A, что предположительно не может привести к клинически значимому эффекту. В одном случае присутствовала несинонимическая замена g.6027G>C, приводящая к изменению кодирующей последовательности p.Arg306Pro.

Распределение выявленных мутаций по группам и подгруппам исследования было неравномерным (рис. 2). Расчеты произведены по числу пациентов с мутациями (11 случаев) без учета двойных мутаций.

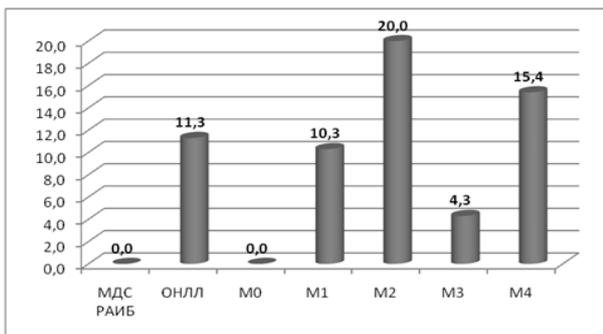


Рис. 2. Распределение мутаций гена СЕВРА по группам и подгруппам исследования

В ходе анализа ДНК, выделенной из костного мозга 120 пациентов, выявлены 17 случаев подтвержденных секвенированием соматических мутаций гена p53, локализованных в пределах 5–9 экзонов. При этом у трех пациентов были выявлены одновременно по две различные мутации. Распространенность мутаций гена p53 по подгруппам наглядно представлена на рис. 3.

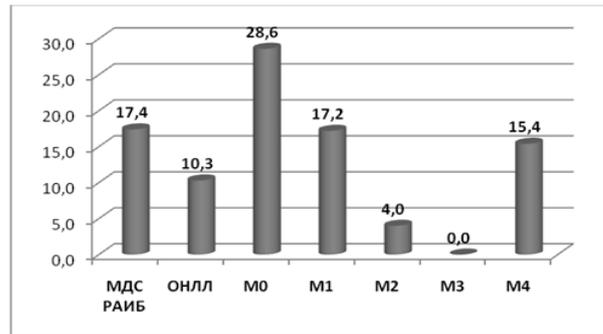


Рис. 3. Распространенность мутаций генов p53 в исследуемых группах и подгруппах пациентов с МДС РАИБ и ОНЛЛ

Для того чтобы оценить, какой вклад могут внести исследуемые нами мутации в оценку прогноза и эффективности лечения и насколько они дополняют традиционный спектр цитогенетических маркеров, был проведен анализ сопряженности выявленных мутаций и хромосомных aberrаций в исследуемых группах и подгруппах пациентов с МДС РАИБ и ОНЛЛ.

В соответствии с протоколом диагностики ОНЛЛ в пределах исследуемой группы (МДС РАИБ+ОНЛЛ) был проведен молекулярно-генетический анализ хромосомных транслокаций t(8;21)(q22;q22), t(15;17)(q22;q21) и inv(16)(p13;q22), а также цитогенетический анализ хромосомных aberrаций. В результате только у 25 пациентов выявлена какая-либо хромосомная aberrация, что составляет 20,8±3,7%.

При использовании в качестве маркеров только мутаций FLT3 и NPM1 охватывается группа из 39 пациентов (32,5±4,3%). Добавление в тестирование мутаций СЕВРА и p53 без хромосомных aberrаций увеличивает группу с прогностическими маркерами до 60 человек (50,0±0,6%).

Совместное использование при тестировании всех анализируемых мутаций и хромосомных aberrаций позволяет охватить прогностическими маркерами группу из 72 пациентов, что составляет 60,0±0,7%. Таким образом, использование молекулярно-генетических маркеров позволяет расширить общую группу с какими-либо прогностическими характеристиками почти на 40%.

В отдельной группе пациентов с ОНЛЛ количество выявленных хромосомных aberrаций составило 21 из 97 обследованных (21,6±0,5%).

При совместном использовании всех анализируемых соматических мутаций группа с маркерами прогноза и эффективности лечения включает 51 пациента из 97 (52,6±0,7%).

Совместное использование всех анализируемых маркеров, включая хромосомные aberrации, позволяет охватить прогностическими маркерами группу из 61 пациента с ОНЛЛ (62,9±0,8%). Иными словами, использование молекулярно-генетических маркеров совместно с цитогенетическими расширяет группу с прогностическими маркерами на 41,3% относительно

только цитогенетических данных. Таким образом, тестирование молекулярно-генетических маркеров существенно улучшает оценку прогноза пациентов с ОНЛЛ и более эффективно контролирует процесс лечения.

*Область применения:* онкогематология.

*Рекомендации по использованию:* молекулярно-генетический анализ соматических мутаций генов FLT3, NPM1, CEBPA и p53 может быть использован для оценки прогноза и эффективности лечения пациентов с ОНЛЛ без цитогенетических нарушений.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования, поиск дополнительных маркеров для оценки прогноза и эффективности лечения с ОНЛЛ.

#### **Analysis of prevalence of CEBPA, NPM1, FLT3 and p53 gene mutations in the groups of patients with acute nonlymphocytic leukemia**

*A.E. Silin, V.N. Martinkov, D.K. Novik, Zh.M. Kozich,  
I.B. Tropashko, V.K. Shpudeyko, A.A. Silina,  
A.V. Voropaeva, S.M. Martynenko*

In the group consisting of 23 patients with myelodysplastic syndrome MDS (option — refractory anemia with excess blasts, RAEB) and 97 patients with acute nonlymphoblastic leukemia (ANLL) a molecular genetic analysis of the prevalence of somatic mutations in the genes FLT3, NPM1, CEBPA, and p53 was carried out.

FLT3-ITD mutations in the group of patients with MDS RAEB occur with a frequency of  $8.7 \pm 5.9\%$ , while in the group with ANLL —  $22.7 \pm 4.3\%$ . FLT3 D835 mutation was detected only in the group of ANLL with a frequency of  $7.2 \pm 2.6\%$ .

NPM1 gene mutations were detected in  $8.7 \pm 5.9\%$  of MDS RAEB cases and in  $21.6 \pm 4.2\%$  of ANLL cases.

CEBPA somatic mutations were found in  $11.3 \pm 3.2\%$  of ANLL cases, while the group of MDS RAEB was free of them. Mutations in the p53 gene have been detected in  $17.4 \pm 7.9\%$  of MDS RAEB cases and in  $10.3 \pm 0.3\%$  of ANLL cases.

By means of direct sequencing there was given the characteristics to all the detected CEBPA and p53 gene mutations.

Analysis of the results shows that the use of molecular genetic markers together with cytogenetic ones lets to expand the group with prognostic markers by 41.3% in comparison with the use of cytogenetic data only.

*Field of application:* oncohematology.

*Recommendations for use:* molecular and genetic analysis of somatic mutations of the genes FLT3, NPM1, CEBPA and p53 can be used to evaluate the prognosis and treatment efficacy of patients with ANLL without cytogenetic abnormalities.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616-006.6.04:614.876](476)

#### **Первично-множественные злокачественные новообразования у наиболее пострадавших от последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС категорий населения**

*А.В. Рожко, Э.А. Надыров, А.А. Чешик*

**Рубрики: 76.29.49; 76.33.39**

*НИИР:* «Мероприятия по социальной защите, медицинскому обеспечению и оздоровлению пострадавшего населения».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2013 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, доц. А.В. Рожко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — установить тенденции и оценить риски развития первично-множественных злокачественных новообразований (ПМНЗ) у лиц, наиболее пострадавших от последствий аварии на Чернобыльской АЭС.

За более чем 25-летний период, прошедший после катастрофы на Чернобыльской АЭС, было выполнено большое количество научных исследований, посвященных изучению как онкологической, так и неонкологической заболеваемости пострадавшего населения. В то же время до настоящего времени остается актуальным установление причинной связи отдельных нозологических форм онкологических заболеваний с аварийным облучением и продолжение радиационно-эпидемиологических исследований в области малых доз облучения. Научные публикации, посвященные изучению взаимосвязи возникновения ПМЗН при воздействии малых доз облучения, в доступной научной литературе практически отсутствуют.

В 2013 г. в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» проведено исследование заболеваемости ПМЗН у наиболее пострадавших от последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС категорий населения. Исходным материалом исследования служили данные Государственного регистра лиц, подвергшихся воздействию радиации вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС. В исследование были включены все случаи ПМЗН за период 1988–2011 гг. в группе повышенного радиационного риска (А) — лица, находившиеся в зоне эвакуации в ранний послеварийный период. Для расчета референтных показателей из общего числа диагнозов онкологических заболеваний по Республике Беларусь за 1988–2011 гг. после предварительной верификации были вычтены все случаи заболеваний, зарегистрированные у пострадавшего населения, наблюдаемого на Республиканском уровне государственного регистра.

При оценке структуры ПМЗН учитывались случаи заболеваний одним из компонентов которых являлись злокачественные новообразования желудка (МКБ-10: С16), злокачественные новообразования слепой и ободочной кишки (МКБ-10: С18), злокачественные новообразования прямой кишки (МКБ-10: С20), злокачественные новообразования бронхов и легкого (МКБ-10: С34), злокачественные новообразования кожи (МКБ-

10: C44), злокачественное новообразование молочной железы (МКБ-10: C50), злокачественные новообразования предстательной железы (МКБ-10: C61), злокачественное новообразование почек (МКБ-10: C64), злокачественное новообразование мочевого пузыря (МКБ-10: C67), злокачественное новообразование щитовидной железы (МКБ-10: C73), гемобласты (МКБ-10: C81–C96). Для сравнения заболеваемости с учетом их динамики по времени, разницы в возрастной структуре населения рассчитывались стандартизованные показатели заболеваемости «прямым методом» с использованием мирового стандарта населения «World». Далее были рассчитаны стандартизованные соотношения заболеваемости (SIR). При  $SIR > 1,0$  риск заболеть в группе экспонированного населения выше, чем у неэкспонированного. Точность SIR характеризовалась величиной 95% доверительного интервала.

В целом за весь анализируемый период (1988–2011 гг.) выявлено статистически значимое превышение заболеваемости всеми локализациями ПМЗН в мужской и женской части когорты. У мужчин за весь анализируемый период статистически значимые значения SIR определялись для рака ободочной и слепой кишки (C18) — 1,64 (1,03÷2,59), рака легкого (C34) — 1,37 (1,02÷1,84), рака кожи (C44) — 1,50 (1,19÷1,89), рака щитовидной железы (C73) — 4,11 (1,40÷12,03) и гемобластозов в целом (C81–C96) — 1,12 (1,12÷3,21). Для злокачественных новообразований желудка, прямой кишки, предстательной железы, почки и мочевого пузыря, которые входили в состав ПМЗН, статистически значимых значений SIR выявлено не было.

У женщин за весь анализируемый период статистически значимые значения SIR определялись для рака кожи (C44) — 1,72 (1,20÷2,46) и рака щитовидной железы (C73) — 2,99 (1,16÷7,73). Для других локализаций злокачественных новообразований в составе ПМЗН статистически значимых значений не выявлено.

Выявленные превышения относительного риска у мужчин по раку ободочной и слепой кишки, раку легкого и гемобластозам, а также по раку кожи, раку щитовидной железы у мужчин и у женщин, очевидно связаны с тем, что заболеваемость именно этими локализациями злокачественных опухолей среди ликвидаторов, и в частности в группе повышенного радиационного риска А, превышает среднереспубликанские показатели, что было показано в наших предыдущих исследованиях.

*Область применения:* радиационная эпидемиология, общественное здоровье и здравоохранение, онкология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы при планировании медико-реабилитационных мероприятий среди населения, пострадавшего в результате катастрофы на ЧАЭС.

*Предложения по сотрудничеству:* участие в международных проектах по изучению действия малых доз радиации.

### **Multifocal malignant neoplasms in the categories of population most affected by the consequences of the chernobyl NPP accident**

*A. V. Rozhko, E. A. Nadyrov, A. A. Cheshik*

There was conducted the study of the incidence of multifocal malignant neoplasms in the categories of population most affected by the consequences of the Chernobyl Nuclear Power Plant accident. There were included all morbid events during the period 1988–2011. In the group of high risk of radiation (A) there were people who were in the evacuation zone in the early post-accident period. The standardized incidence ratios (SIR) were calculated. When  $SIR > 1.0$  the risk of malignant neoplasms in the group of exposed population was higher than that of the unexposed. The accuracy of SIR was characterized by the value 95% of confidence interval.

In men the statistically significant SIR values were determined for cancer of the colon and blind gut (C18) — 1.64 (1.03÷2.59), lung cancer (C34) — 1.37 (1.02÷1.84), skin cancer (C44) — 1.50 (1.19÷1.89), thyroid cancer (C73) — 4.11 (1.40÷12.03) and hemoblastosis in general (C81–C96) — 1.12 (1.12÷3.21). In women the statistically significant SIR values were determined for skin cancer (C44) — 1.72 (1.20÷2.46) and thyroid cancer (C73) — 2.99 (1.16÷7.73).

*Field of application:* radiation epidemiology, public health and health care, oncology.

*Recommendations for use:* the results of the study can be used for planning of the medical and rehabilitation activities among the population affected by the Chernobyl NPP accident.

*Offers for cooperation:* participation in international projects on the study of the low-dose radiation effects.

**РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ  
И МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ ИМ. Н.Н. АЛЕКСАНДРОВА**

УДК 616.6-006.6-084.3(476)(474.5)

**Эффективная диспансеризация излеченных  
пациентов онкоурологического профиля —  
важный резерв в исходе заболевания  
при развившемся метастазном раке***О.Г. Суконко, С.А. Красный, П.И. Мусеев,  
А.А. Машевский***Рубрика: 76.29.49**

*НИР:* «Резервы снижения онкологической смертности и увеличения средней продолжительности жизни в Беларуси и Литве на модели онкоурологической патологии (рак почки, мочевого пузыря, предстательной железы)».

*Сроки выполнения НИР:* I кв. 2011 г. — IV кв. 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. С.А. Красный.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Развитие и совершенствование методов выявления, диагностики и лечения рака почки, мочевого пузыря, предстательной железы привело к существенному увеличению продолжительности жизни данной категории пациентов. Однако наряду с этим возросла актуальность проблемы развития вторых (метастазных) злокачественных опухолей после окончания специального противоопухолевого лечения первичного очага. Нередко эта проблема усугубляется еще и тем, что, как правило, акцент при диспансеризации онкологических пациентов после лечения делается на выявлении рецидива опухоли и/или метастазов, в связи с чем недооценивается возможность развития второй опухоли.

Материалом для исследования послужили данные Белорусского канцер-регистра за 2006–2011 гг. Метастазными опухолями считали лишь те опухоли, которые определялись спустя 6 мес. после выявления первичной опухоли в почке, мочевом пузыре, предстательной железе в период 2006–2011 гг. При раке почки, мочевого пузыря, предстательной железы вторые опухоли после радикального лечения наиболее часто (до 75%) выявляются на 2–3-м годах наблюдения. Второй опухолью наиболее часто поражаются вторая почка, легкое, толстая кишка, кожа, желудок, молочная железа, тело матки.

Проведен анализ эффективности диспансеризации 416 пациентов после лечения рака почки (121), мочевого пузыря (130), предстательной железы (165).

*Цель* — установить влияние условий выявления метастазного новообразования при первой опухоли в почке, мочевом пузыре, предстательной железе (диспансерное наблюдение, или самостоятельное обращение за медицинской помощью) на исход заболевания.

Среди 121 пролеченного пациента с первой опухолью в почке метастазный рак в ходе диспансерного наблюдения был выявлен у 49 (40,5%). Из этой группы пациентов к настоящему времени живы 44 (89,8%), умер-

ли 5 (10,1%). При самостоятельном обращении метастазный рак был установлен у 72 человек (59,5%). Из этой когорты к настоящему времени живы 35 (48,6%), умерли 37 (51,4%).

Из 130 пациентов с излеченной первой опухолью в мочевом пузыре метастазный рак в ходе диспансерного наблюдения был выявлен у 52 (40%). Из этой группы лиц, к настоящему времени живы 40 (76,9%), умерли 12 (23,1%). При самостоятельном обращении метастазный рак был установлен у 78 пациентов (60%). Из этой когорты к настоящему времени живы 41 (52,6%), умерли 37 (47,4%).

Влияние условий метастазной опухоли (диспансеризация или самостоятельное обращение) при первой опухоли в предстательной железе на исход заболевания изучено у 165 пациентов. Метастазный рак в процессе диспансерного наблюдения был выявлен у 62 (38,6%). Из этой группы пациентов к настоящему времени живы 38 (61,3%), умерли 24 (38,7%). При самостоятельном обращении метастазный рак был установлен у 103 человек (62,4%). Из них к настоящему времени живы 44 (42,7%), умерли 59 (57,3%).

Проведен также анализ влияния условий выявления метастазной опухоли при первом новообразовании в предстательной железе на распространенность процесса и объем лечения при второй опухоли.

При второй опухоли в легком из 37 человек диагноз установлен при диспансерном наблюдении у 18 (I–III стадия заболевания — у 16; IV стадия — у 2); при самостоятельном обращении — у 19 (I–III стадия — у 13; IV стадия — у 6). Среди пациентов, у которых метастазный рак был выявлен при диспансерном наблюдении, радикальное лечение проведено 9; симптоматическое, или паллиативное — 9. Из 19 пациентов, у которых метастазный рак был выявлен при самостоятельном обращении, радикальное лечение проведено лишь 3; симптоматическое, или паллиативное — 16.

При второй опухоли в толстой кишке (37 человек) диагноз установлен при диспансерном наблюдении у 11 (I–III стадия — у 10; IV стадия — у 1) и при самостоятельном обращении — у 26 (I–III стадия — у 21; IV стадия — у 5). Среди пациентов, у которых метастазный рак был выявлен при диспансерном наблюдении, радикальное лечение проведено 10; симптоматическое, или паллиативное — одному. В случае метастазного рака при самостоятельном обращении радикальное лечение проведено 11 из 26 пациентов; симптоматическое, или паллиативное — 15.

При второй опухоли в желудке (20 человек) диагноз метастазного рака установлен при диспансерном наблюдении у 6 пациентов (I–III стадии — у 5; IV стадия — у 1), при самостоятельном обращении — у 14 (I–III стадия — у 7; IV стадия — у 7). В случае выявления метастазного рака при диспансерном наблюдении радикальное лечение проведено 2; симптоматическое, или паллиативное — 4. Из 14 пациентов, у которых метастазный рак был вы-

явлен при самостоятельном обращении, радикальное лечение проведено 5; симптоматическое, или паллиативное — 9.

Для практического здравоохранения утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению № 189-1212 «Комплекс медико-организационных мероприятий по выявлению резервов снижения смертности при раке почки, мочевого пузыря, предстательной железы».

Основные конструктивные показатели: условия выявления вторых опухолей напрямую связаны с исходом заболевания. Диагностирование метакронной опухоли при диспансерном наблюдении дает возможность излечения в 60–80% случаев.

*Область применения:* онкология, урология.

*Рекомендации по использованию:* целенаправленное диспансерное наблюдение за излеченными пациентами является реальной возможностью снижения смертности от злокачественных новообразований.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Effective surveillance of cured urological cancer patients is an important reserve of the disease outcome in metachronous cancer**

*O.G. Sukonko, S.A. Krasny, P.I. Moiseev, A.A. Mashevsky*

There was studied the incidence of metachronous primary-multiple tumors with the first tumor in kidney, urinary bladder and prostate over the period of 2006–2011. Metachronous tumors can develop in all organs and tissues; they are more common on the second or third year after the primary lesion, which was cured. The second tumor most commonly affects the second kidney, colon, skin, stomach, breast, corpus uteri. The conditions of detection of this tumor are directly associated with the disease outcome. Diagnosing a metachronous tumor in high-quality follow-up lets to cure the patient in 60–80% of cases.

УДК 616-006.6-084.3:616-006-021.633-07

### **Алгоритмы диспансеризации онкологических пациентов, относящихся к группам высокого риска развития метакронных злокачественных новообразований, с целью своевременной диагностики вторых опухолей**

*А.А. Машевский, И.В. Веялкин, Н.А. Артемова,  
Т.Ю. Аверкина, О.И. Зубец, Т.В. Черная*

**Рубрики:** 76.33.43; 76.29.49

*НИИР:* «Разработать и внедрить алгоритмы диспансеризации онкологических пациентов, относящихся к группам высокого риска развития метакронных злокачественных новообразований, с целью своевременной диагностики вторых опухолей».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.А. Машевский.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — по первичной локализации злокачественной опухоли в мочеполовой системе, желудочно-кишечном тракте, молочной железе и легком изучить особенности развития метакронных опухолей в зависимости от схемы лечения первой опухоли.

В работе были обобщены и проанализированы данные Белорусского канцер-регистра за период с 1990 по 2011 гг. о пациентах со злокачественными новообразованиями органов желудочно-кишечного тракта (пищевод, желудок, ободочная кишка, прямая кишка) и мочеполовой системы (почка, мочевого пузыря, предстательная железа, шейка матки, тело матки, яичники), молочной железы и легкого с учетом специального лечения. На основании этих данных был сформирован субрегистр пациентов с первично-множественными злокачественными опухолями, которым было проведено в полном объеме специальное лечение по радикальной программе, с целью анализа вероятности возникновения среди них первично-множественных метакронных опухолей в зависимости от сочетаний их локализаций и особенностей лечения первой опухоли. Критерием синхронности опухолей в данном исследовании выступал латентный период меньше одного года между временем первого и второго диагноза.

Результатом исследования явилась разработка 4 инструкций по применению: «Диспансеризация пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта, относящихся к группам высокого риска развития метакронных опухолей», «Определение риска развития полинеоплазий при различных методах лечения первичного немелкоклеточного рака легкого у мужчин и организационный компонент (алгоритм) их выявления», «Наблюдение за пациентами со злокачественными новообразованиями молочной железы, относящимися к группам высокого риска развития метакронных опухолей», «Наблюдение за пациентами со злокачественными новообразованиями мочеполовой системы, относящимися к группам высокого риска развития метакронных опухолей».

В основу созданных инструкций положены статистические сведения о структуре метакронных первично-множественных злокачественных опухолей и сроках их развития после специального лечения по поводу первой опухоли. Также получены данные о процентном соотношении и процентном их распределении по срокам возникновения с момента выявления первой опухоли. На основе популяционных рисков заболеваемости злокачественными новообразованиями были рассчитаны ожидаемые сроки появления вторичных злокачественных опухолей и их соотношения с наблюдаемым числом, стандартизованные по возрасту и календарному времени для метакронных первично-множественных злокачественных опухолей. Оценка вероятности развития нескольких опухолей дает новые сведения для детального анализа при поиске новых канцерогенных факторов или выборе оптимальной схемы лечения первой опухоли, направленной на минимизацию риска развития последующих вторичных новообразований.

Внедрение разработанных инструкций по применению как в процессе первичной и уточняющей диагностики злокачественных новообразований, так и в ходе наблюдения за излеченными от злокачественного новообразования обеспечит возможность своевременной диагностики вторых злокачественных опухолей, позволит выбрать оптимальную тактику лечения этой категории пациентов, повысит эффективность и снизит стоимость проводимого лечения. Это в свою очередь является реальной возможностью снижения смертности от злокачественных новообразований.

Учитывая изменения темпов заболеваемости населения Беларуси злокачественными новообразованиями отдельных локализаций, целесообразно продолжение в последующие годы мониторинга первично-множественных новообразований и при необходимости внесение изменений и дополнений к разработанной инструкции. Не имеет аналогов на территории постсоветского пространства.

*Область применения:* онкология.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Development and implementation of methodological recommendations for metachronous multiple primary tumors in high risk patients for their early detection**

*A.A. Mashevsky, I.V. Veyalkin, N.A. Artemova,  
T.Yu. Averkina, O.I. Zubets, T.V. Chernaya*

There were studied multiple primary tumors in patients with breast, lung, genitourinary system, gastrointestinal tract metachronous cancers after radical special treatment (radiation therapy, chemotherapy, surgery). As a result there were introduced four methodological recommendations for oncologists in patients with multiple primary tumors. The methodological recommendations also reflect the methods of calculating the relative risk of second tumors that can be used for further research. This study does not have any analogs in the post-Soviet countries.

*Field of application:* oncology.

*Recommendations for use:* in oncological centers and institutions.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616-006.6:312.26/.28]-082(476)

#### **Анализ эффективности оказания медицинской помощи пациентам с онкологической патологией на основе оценки их выживаемости и утраченного жизненного потенциала**

*Н.Н. Антоненкова, Г.В. Якимович, И.С. Прудывус,  
Л.М. Курьян, И.Д. Черных*

**Рубрики:** 76.29.49; 76.01.73

*НИР:* «Разработать и внедрить методологию анализа эффективности оказания медицинской помощи онкологическим пациентам на основе оценки их выживаемости и социальных потерь от онкологических заболеваний».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2009 г. — декабрь

2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук Н.Н. Антоненкова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка и внедрение методологии анализа выживаемости пациентов с онкологической патологией и социальных потерь от онкологических заболеваний для оценки эффективности деятельности онкологической службы в Республике Беларусь и решения демографических проблем в области онкологии.

Разработана методология анализа выживаемости пациентов со злокачественными новообразованиями (ЗН) и утраченного жизненного потенциала в связи со смертностью от них для оценки эффективности оказания специализированной помощи.

В Беларуси продолжается рост онкологической заболеваемости. По данным канцер-регистра, с 2008 г. ежегодно регистрируется свыше 40 тыс. пациентов с впервые установленным диагнозом ЗН; в 2010 г. зарегистрировано 42 234 таких пациентов, что составляет 0,5% населения страны.

В 2010 г. в Беларуси от разных причин умерли 137 132 человека, из них 13,3% — от новообразований. Из всех случаев смерти каждый седьмой умер от ЗН.

Проведение в стране противораковых мероприятий, направленных на улучшение состояния онкологической помощи населению, позволило добиться снижения показателей смертности по многим нозологическим формам рака: уменьшилась смертность у мужчин от рака желудка, прямой кишки, мочевого пузыря, гортани, легкого; у женщин — от рака желудка, яичников, молочной железы. Показатели скорректированной 5-летней выживаемости пациентов с онкологическими заболеваниями (исключая базалиому кожи) повысились в 2011 г. с 35,6% у пациентов с диагнозом, установленным в 2001 г., до 41,2% — в 2006 г. Возросла выживаемость пациентов со злокачественными новообразованиями предстательной железы, мочевого пузыря, почки, молочной железы, яичников, желудка, прямой кишки, легкого.

Рост 5-летней выживаемости отмечен во всех регионах республики. Лучшие результаты получены в Гомельской, Минской, Витебской областях и г. Минске. Группу регионов со средними результатами формируют Брестская и Могилевская области. Несколько более низкие результаты отмечены в Гродненской области. Различия показателей являются статистически значимыми ( $p$  лог-ранг  $<0,0001$ ).

Вместе с тем проблема высокой смертности от ЗН продолжает оставаться актуальной; из всех умерших в 2010 г. 26,9% находились в трудоспособном возрасте. Онкологические заболевания являются одной из важнейших причин, влияющих на величину невосполнимого жизненного потенциала общества, особенно среди трудоспособного населения. В 2010 г. количество лет потерянной потенциальной жизни у мужчин трудоспособного возраста (15–59 лет) в связи со смертью от ЗН составило 26535 человеко-лет жизни, у женщин в трудоспособном возрасте (15–54 года) — 11600. Мужчины чаще умирали в возрасте 45–54 года, женщины — 40–49

лет. В структуре общих потерь человеко-лет жизни, обусловленных смертностью от ЗН мужского населения в возрасте 15–59 лет, первое место занимают опухоли легкого, которые составляют 22,4% от всех потерь, или 5947,5 потерянных человеко-лет жизни (ПЧЛЖ), на втором месте — рак желудка (13,5% — 3572,5 ПЧЛЖ), на третьем — рак почки (4,0% — 1062,5 ПЧЛЖ); у женщин в возрасте 15–54 года первое ранговое место занимают опухоли молочной железы (19,7% — 2287,5 ПЧЛЖ), на втором — рак шейки матки (13,3% — 1540 ПЧЛЖ), на третьем — рак желудка (10,5% — 1215,0 ПЧЛЖ).

Показатель ПЧЛЖ от ЗН у городских жителей трудоспособного возраста составил: мужчины — 18477,5; женщины — 8630,0, у сельских жителей — 8057 и 2970 соответственно. В селе у мужчин показатель почти в 3 раза выше, чем у женщин, что связано с более высокой смертностью от ЗН среди лиц мужского пола.

На основании исследования выявлены некоторые гендерные различия, а именно: выживаемость мужчин и женщин имеет существенные различия по многим нозологическим формам рака. Такая же тенденция прослеживается среди городских и сельских жителей: выживаемость пациентов, проживающих в сельской местности, ниже чем у городских жителей. Различие в выживаемости составляет примерно 10% начиная с 4-го года наблюдения.

Различия распределения пациентов по стадиям в зависимости от места проживания позволяют лишь частично объяснить это явление. Вероятнее всего, немаловажная роль здесь принадлежит социальным, экономическим условиям жизни и другим факторам.

Внедрение современных методов диагностики, направленных на раннее выявление ЗН, своевременное и адекватное лечение позволили добиться улучшения основных показателей работы онкологической службы в стране:

- снизилась смертность у мужчин от рака желудка, прямой кишки, мочевого пузыря, гортани, легкого; у женщин – от рака желудка, яичников, молочной железы;

- повысилась кумулятивная скорректированная наблюдаемая 5-летняя выживаемость пациентов с онкологическими заболеваниями предстательной железы, мочевого пузыря, почки, молочной железы, яичников, желудка, прямой кишки, легкого;

- снизились показатели потерянных населением человеко-лет жизни в связи со смертью от ЗН: у мужского населения на 13,2%, у женского — на 16,8%;

Полученные результаты работы в значительной степени подтверждают положительные тенденции в повышении эффективности оказания специализированной помощи населению Беларуси.

*Основные конструктивные показатели.* Разработанная методология позволяет оценить выживаемость пациентов с онкологической патологией и утраченный ими жизненный потенциал с учетом потерянных человеко-лет жизни в связи со смертностью от онкологических заболеваний для разных возрастных групп и континентов на всех территориальных уровнях в Бе-

ларуси.

Преимущество методологии состоит в возможности проведения анализа эффективности оказания специализированной помощи для разных континентов и возрастных групп на всех территориальных уровнях Беларуси; сопоставления результатов клинических НИР и результатов их практического применения (частота применения, выживаемость, осложнения и др.); работы по совершенствованию методов лечения, организации своевременной диагностики и профилактических мероприятий, а также оценки достигнутых результатов в сравнении с другими организациями здравоохранения, канцер-регистрами и странами.

*Область применения:* онкология.

*Рекомендации по использованию:* для практического здравоохранения разработана и утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению № 112-0812 «Методика расчета потерянных лет потенциальной жизни в связи со смертностью от злокачественных новообразований». В 2013 г. инструкция по применению внедрена в РНПЦ МТ и в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Analysis of medical care efficacy in cancer patients, based on evaluation of their survival and lost life potential**

*N.N. Antonenkova, G.V. Yakimovich, I.S. Prudvyus,  
L.M. Kuryan, I.D. Chernykh*

There was developed the methodology for analysis of medical care efficacy in cancer patients, based on evaluation of their survival and lost life potential.

The methodology lets to analyze the efficacy of care in various patient populations and age groups in Belarus, to compare the results of clinical R&Ds, and to make a comparative evaluation of the achieved results.

The Guidelines «Calculation of the Lost Years of Potential Life due to Cancer Mortality» (№ 112-0812 of September 28, 2012) were developed and approved by the Ministry of Health of the Republic of Belarus.

*Field of application:* oncology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 618.19-006.6 +616.419]-085.28(476)

#### **Лечение операбельных пациенток, страдающих раком молочной железы, с микрометастазами в костном мозге**

*С.П. Козловская, Н.Н. Антоненкова, Э.А. Жаврид,  
Р.М. Смолякова, Ю.В. Карпейчик, М.А. Бармотько*

**Рубрики: 76.29.49; 34.15.51**

*НИР:* «Разработать метод адъювантной химиотерапии пациенток с операбельным раком молочной железы промежуточной и высокой групп риска с микрометастазами в костном мозге».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2008 г. — декабрь

2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Э.А. Жаврид.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — определить возможность эрадикации опухолевых клеток в костном мозге у пациенток, страдающих раком молочной железы, с микрометастазами в костном мозге.

Проанализированы результаты лечения 290 пациенток с резектабельным раком молочной железы промежуточной и высокой групп риска возврата болезни. До начала и в ходе адъювантного лечения его определяли наличие раковых клеток в костном мозге, оценивая уровни экспрессии генов цитокератина 19 и маммоглобина методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Всем пациенткам после радикального хирургического лечения проводили 4 курса стандартной полихимиотерапии по одной из схем: AC, CAF, EC или CEF. В 91 (31,4%) случае были обнаружены опухолевые клетки в костном мозге. Если после 4 курсов стандартной полихимиотерапии раковые клетки в костном мозге продолжали определяться, то проводили дополнительно 4 курса химиотерапии таксанами. Медиана наблюдения за пациентками составила 24,4 мес.

В результате исследования установлено:

1. Среди операбельных пациенток, страдающих раком молочной железы и относящихся к промежуточной и высокой группам риска, опухолевые клетки в костном мозге определяются в 31,4% случаев.

2. Наличие раковых клеток в костном мозге является неблагоприятным прогностическим признаком. 3-летняя безрецидивная выживаемость пациенток с непораженным костным мозгом составляет 88,7%, с пораженным — 69,3% ( $p < 0,01$ ).

3. Разработанная схема интенсивной адъювантной химиотерапии позволяет нивелировать этот неблагоприятный прогностический индекс. Трехлетняя безрецидивная выживаемость пациенток с исходно пораженным костным мозгом, у которых в результате адъювантной химиотерапии достигнута его санация, практически такая же, как и у женщин с исходно непораженным костным мозгом: 88,7 и 81,6% соответственно ( $p = 0,29$ ).

4. Стандартная адъювантная химиотерапия у пациенток с опухолевыми клетками в костном мозге позволяет достигнуть их эрадикации в 31,86% случаев.

5. Разработанный метод адъювантной интенсивной химиотерапии у пациенток с опухолевыми клетками в костном мозге позволяет достигнуть их эрадикации в 85,42% случаев.

Таким образом, исследование позволяет выделить группу пациенток с высоким риском локального рецидива и отдаленного метастазирования, а также дифференцированно подходить к выбору патогенетически обоснованной адъювантной терапии в послеоперационном периоде.

Для практического здравоохранения разработана и утверждена инструкция по применению № 075-0610 «Метод определения микрометастазов рака молочной железы в костном мозге с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени» (утв.

Минздравом РБ 27.09.2010), разработана инструкция по применению «Метод адъювантной цитостатической терапии при раке молочной железы с микрометастазами в костном мозге».

*Вид патентной защиты:* поданы 2 заявки на изобретение.

*Область применения:* онкология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в онкологических учреждениях, имеющих оборудование для выполнения исследований методом полимеразной цепной реакции.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Treatment of operable breast cancer patients with micrometastases in bone marrow**

*S.P. Kozlouskaya, N.N. Antonenkova, E.A. Zhavrid, R.M. Smolyakova, Yu.V. Karpeychik, M.A. Barmotko*

The paper presents the analysis of treatment outcomes in 290 resectable breast cancer patients with moderate and high risk of relapse. The state of their bone marrow was evaluated with the following biological markers: cytokeratin-19 and mammo globin. It was demonstrated that evaluation of independent prognostic factors of breast cancer in operable patients with bone marrow micrometastases let to improve the recurrence-free survival by intensifying the regimens of standard adjuvant paclitaxel multidrug chemotherapy. This study helps to select the patients with high risk of local recurrence and distant metastasizing, as well as to make a differential approach to the choice of pathogenetically grounded adjuvant therapy in the postoperative period.

*Field of application:* oncology.

УДК 616.51/.53-006.6.04-036.82/.85

#### **Результаты применения магнитолазерной терапии и локальной гипоксии в рамках ранней медицинской реабилитации пациентов со злокачественными опухолями органов головы и шеи**

*Л.Б. Пархоменко, Н.И. Крутилина, А.Г. Жуковец, Р.М. Смолякова*

**Рубрики: 76.29.49; 76.29.60; 76.29.62**

*НИИ:* «Разработать методику ранней медицинской реабилитации пациентов со злокачественными новообразованиями органов головы и шеи, получающих химиолучевое и комбинированное лечение».

*Сроки выполнения НИИ:* 2010–2012 гг.

*Научные руководители:* канд. мед. наук А.Г. Жуковец, д-р мед. наук, проф. Н.И. Крутилина.

*Организация-соисполнитель:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — снизить выраженность и частоту ранних посттерапевтических реакций и осложнений у пациентов со злокачественными новообразованиями органов головы и шеи путем разработки методики ранней меди-

цинской реабилитации с применением медикаментозных средств и физических методов воздействия.

В исследование включено 180 пациентов, которым проводилось химиолучевое и комбинированное лечение по поводу опухолей органов головы и шеи T1-4a N0-2M0. Эффективность профилактики и лечения ранних лучевых реакций и осложнений изучалась в четырех группах пациентов. В группе сравнения в течение всего курса лучевой терапии осуществлялась санация ротовой полости антисептическими растворами 8–10 раз в день (отвар шалфея, ромашки и др.). Во второй группе дополнительно назначалась магнитолазерная терапия (аппарат РИКТА). Воздействие осуществляли на облучаемые ткани (слизистая оболочка полости рта и ротоглотки, кожные покровы) через 60 мин после сеанса лучевой терапии. Длительность процедуры 5–7 мин. Курс лечения — 15 процедур через день. В третьей группе проводилась местная гипоксическая терапия путем локального применения альфа-адреноблокатора (спрей ксилометазолина гидрохлорида 0,1%). За 5–10 мин до проведения сеанса лучевой терапии осуществляли орошение визуально неизменной слизистой оболочки полости рта. В четвертой группе осуществлялась комплексная терапия, включающая местную гипоксическую терапию и магнитолазерную терапию. Выраженность ранних лучевых реакций оценивалась по шкале EORTC/RTOG.

Ранняя медицинская реабилитация с включением разработанных методов (местная гипоксическая, магнитолазерная терапия и их комбинация) позволила полностью избежать ранних лучевых реакций и осложнений III и IV степени со стороны слизистой оболочки и кожи (в группе сравнения ранние лучевые реакции слизистой оболочки и кожи наблюдались в 50 и 37,5% соответственно), уменьшить частоту случаев нарастания болей к завершению курса лучевой терапии со 100 до 13% и нарушения функции глотания со 100 до 58%.

Выявлена корреляционная зависимость между степенью повреждения слизистых оболочек, кожи и снижением провоспалительных цитокинов ( $R = -0,35$ ,  $p < 0,05$ ): стойкое падение концентраций провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 и IL-8 при комплексном воздействии соответствовало наименьшей степени поражения (0 и I степени) слизистых оболочек и кожи. В группе сравнения наблюдалось увеличение концентрации провоспалительных цитокинов при более выраженной степени повреждения слизистых оболочек и кожи (II и III степень). Анализ полученных данных выявил корреляционную взаимосвязь между степенью поражения слизистых оболочек, кожи и увеличением содержания противовоспалительных цитокинов ( $R = 0,49$ ,  $p < 0,05$ , по Спирмену): выраженное повышение уровня противовоспалительных цитокинов IL-2, IL-4, IL-10 и IL-13 при комплексном воздействии соответствовало меньшей степени повреждения (0 и I степени) слизистых оболочек и кожи. При этом в группе сравнения наблюдалось стойкое снижение концентрации противовоспалительных цитокинов при II и III степени повреждения слизистых оболочек и кожи.

Полученные нами данные о динамике изменения уровня интерлейкинов в сыворотке крови в процессе лечения свидетельствуют об иммунокорректирующем эффекте комплексного воздействия, который достигается за счет увеличения содержания иммуномедиаторов и поддержания баланса между про- и противовоспалительными цитокинами.

*Область применения:* онкология, медицинская радиология, реабилитация.

*Рекомендации по использованию:* метод внедрен в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова и может применяться в онкологических учреждениях здравоохранения, имеющих необходимое оборудование. Разработана инструкция по применению.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Outcomes of magnetic laser therapy and local hypoxia in early medical rehabilitation of patients with malignant tumors of head and neck**

*L.B. Parkhomenko, N.N. Krutilina, A.G. Zhukovets, R.M. Smolyakova*

Early medical rehabilitation, including the developed techniques (hypoxic therapy, magnetic laser therapy and their combination) let to completely avoid acute radiation effects and grade III and IV morbidities of mucosa and skin (in the control group acute radiation effects of mucosa and skin were found in 50 and 37.5% of the cases respectively), to reduce the rate of pain aggravation cases by the end of radiotherapy course from 100% to 13%, to reduce the disorders in the swallowing function from 100 to 58%. The evaluation of pro- and anti-inflammatory cytokines concentration in the peripheral blood of the patients undergoing physical and medicament modalities revealed their immunocorrective effect.

*Field of application:* oncology, medical radiology, rehabilitation.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.311/.32-006.6.04-085.849

### **Применение фотодинамической (флуоресцентной) диагностики и терапии злокачественных опухолей слизистой оболочки полости рта и ротоглотки**

*А.Г. Жуковец, Л.С. Яськевич, О.И. Нейман, В.Н. Чалов, И.В. Белоцерковский, Т.В. Францкевич*

**Рубрика: 76.29.49**

*НИИР:* «Разработать методики фотодинамической (флуоресцентной) диагностики и терапии злокачественных опухолей слизистой оболочки полости рта и ротоглотки».

*Сроки выполнения НИИР:* 2009–2011 гг.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук А.Г. Жуковец.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать методики, позволяющие осуществлять раннюю диагностику и органосохраняющее лечение рака и предраковых процессов слизистой оболочки орорфарингеальной зоны.

В исследование включено 105 пациентов, страдающих раком и предраковыми заболеваниями слизистой оболочки полости рта и ротоглотки. Фотодинамическая (флуоресцентная) диагностика в виде лазер-индуцированной флуоресцентной спектроскопии (ЛИФС) проведена у 70 пациентов. Раствор фотолон вводят внутривенно в дозе 1 мг/кг массы тела в 200 мл 0,9% раствора натрия хлорида в течение 30 мин. Диагностику осуществляли через 3 ч после введения фотолон с использованием лазерного электронно-спектрального анализатора типа «ЛЭСА 6», при этом средняя мощность лазерного излучения возбуждения на выходе из световода не превышала 10 мВт, а экспозиционная доза излучения за время регистрации — 1 Дж/см<sup>2</sup>. Исследование проводили под прямым углом к объекту и при легком касании исследуемой ткани торцом оптико-волоконного световода. Последовательно регистрировали сигнал от здоровой (на противоположной очагу поражения стороне) и патологически измененной слизистой оболочки не менее чем в 10 различных точках. Измерения производили по радиусу патологического очага. Для оценки специфичности и чувствительности использовали критерий интенсивности сигнала в максимуме флуоресценции на длине волны 661 нм.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) осуществлена у 35 пациентов, из них у 17 имел место рак слизистой оболочки Tis-T1N0M0, у 18 — предраковые заболевания (лейко-, эритроплакия, папилломатоз). Фотолон вводили в дозе 2 мг/кг массы тела пациента. Рассчитанную дозу растворяли в 200 мл 0,9% раствора натрия хлорида и вводили в вену, капельно, в течение 30 мин. Сеанс ФДТ проводили с использованием полупроводникового лазера УПЛ-ФДТ с длиной волны излучения 660±5 нм. Лазерное воздействие начинали через 3–4 ч после введения фотолон. Для подвода излучения к патологическому очагу применяли оптоволоконный катетер для поверхностного дистанционного облучения с микролинзой. Катетер располагали перпендикулярно к поверхности опухоли. Необходимый диаметр светового пятна устанавливали, изменяя расстояние между торцом катетера и поверхностью опухоли. При необходимости облучали всю поверхность несколькими полями. Поля в этом случае располагали с перекрытием, не оставляя необлученных участков в промежутках между ними. Плотность мощности ограничивали 200–300 Дж/см<sup>2</sup>, она не превышала 350 мВт/см<sup>2</sup>. Время облучения одного поля составляло 5 мин для предраковых процессов и 10–15 мин для злокачественных опухолей. После окончания сеанса проводили флуоресцентный контроль качества лечения. Для этого регистрировали сигнал флуоресценции в центре, на периферии облученной области и на участке здоровой слизистой оболочки. При корректно облученных зонах интенсивность флуоресценции была ниже в 2,5–3 раза, чем в интактных областях. В случае недостаточного фотовыгорания красителя проводили дополнительное облучение в дозе 0,3–0,5 от первоначально использованной.

При проведении ЛИФС у пациентов со злокаче-

ственными опухолями специфичность диагностики составила 96,2%, чувствительность — 87,2%. Аналогичные показатели для предраковых заболеваний составили 66,5 и 73,5% соответственно. Таким образом, применение ЛИФС позволяет осуществлять диагностику рака слизистой оболочки полости рта и ротоглотки, сократить число необоснованных биопсий без ущерба для раннего выявления рака, повысить выявляемость мета- и синхронных опухолей. Метод может быть использован в качестве компонента регулярного обследования групп лиц с предраковыми заболеваниями.

При проведении ФДТ полная регрессия опухоли была достигнута в 14 (82,4%), частичная — в 3 (17,6%) случаях. Частичная регрессия имела место у пациентов с рецидивным раком слизистой оболочки тела языка. Однолетняя безрецидивная выживаемость после ФДТ составила 91,8±7,8%, двухлетняя — 80,5±13,1%. Полная регрессия предраковых поражений слизистой оболочки получена в 100% случаев. Все пациенты с предраковыми заболеваниями пережили 1,5 года наблюдения без рецидива.

Разработанный метод ФДТ является эффективным органосохраняющим методом лечения пациентов с первичным раком слизистой оболочки Tis-T1N0M0 и предраковыми заболеваниями и позволяет получить хороший косметический и функциональный исход лечения. ФДТ позволяет сократить сроки пребывания пациентов в стационаре не менее чем на 1 неделю в сравнении с хирургическим методом, и сроки лечения не менее чем на 5 недель в сравнении с лучевой терапией. Метод может применяться амбулаторно. Недостатком метода является ее низкая эффективность при лечении рецидивных опухолей.

*Область применения:* онкология.

*Рекомендации по использованию:* методики могут применяться в онкологических учреждениях здравоохранения, имеющих необходимое оборудование. Разработана инструкция по применению.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь по внедрению.

#### **The use of photodynamic (fluorescent) diagnostics and therapy for malignant tumors of oral and oropharyngeal mucosa**

*A.G. Zhukovets, L.S. Yaskevich, O.I. Neyman, V.N. Chalov, W.I. Belotserkovsky, T.V. Frantskevich*

Photodynamic (fluorescent) diagnostics with Photolon as laser-induced fluorescent spectroscopy is an efficient noninvasive technique for differential diagnostics of malignant tumors and precancer conditions of oral and oropharyngeal mucosa. For malignant tumors the diagnostic specificity was 96.2%, sensitivity — 87.2%; for precancer diseases: 66.5 and 73.5% respectively.

Photodynamic therapy with Photolon for the treatment of oral and oropharyngeal mucosa cancer Tis-T1N0M0 lets to achieve a complete tumor response in 82.4% of cases and may be considered as an organ-sparing modality for the treatment of superficial primary cancer and precancer

conditions. One-year recurrence-free survival of patients after photodynamic therapy was  $91.8 \pm 7.8\%$ , two-year —  $80.5 \pm 13.1\%$ . A complete response of precancer lesions of oral mucosa was achieved in 100% of cases.

*Field of application:* oncology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616-006.441-085.28/832

### Метод термохимиотерапии рефрактерных и рецидивных лимфом Ходжкина

*Н.В. Сачивко, Э.А. Жаврид, Ю.П. Истомин, Е.А. Александрова, П.В. Почешинский, А.Н. Мазуренко, Н.А. Петровская*

**Рубрика:** 76.29.49

*НИИР:* «Разработать и внедрить метод лечения пациентов рефрактерными и рецидивными злокачественными лимфомами с применением гипертермии».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2009 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Э.А. Жаврид.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Лимфомы, первично химиорезистентные или с развившейся в ходе лечения устойчивостью к цитостатическим лекарственным средствам, имеют неблагоприятный прогноз. Для их лечения требуется применение нестандартных интенсивных программ лечения, так называемой «терапии спасения». В таком лечении нуждается не менее трети пациентов с лимфомой Ходжкина и примерно две трети с неходжкинскими лимфомами.

Режимы 2 и 3-й линии химиотерапии позволяют добиваться ремиссии в 30–50% случаев, но не оказывают существенного влияния на выживаемость. Как один из возможных путей преодоления химиорезистентности в настоящее время рассматривается гипертермия.

*Цель* — разработать метод лечения пациентов с рефрактерными и рецидивными злокачественными лимфомами путем применения термохимиотерапии.

*Материал исследования:* клетки лимфомы человека RAJI, 300 крыс с перевиваемой лимфосаркомой Плисса, 40 пациентов с химиорезистентными лимфомами.

Выполненное на первом этапе экспериментальное исследование *in vitro* на клетках лимфомы человека RAJI и *in vivo* на крысах с перевиваемой лимфосаркомой Плисса позволило разработать режим термохимиотерапии, включающий комбинацию гемцитабина и оксалиплатина (GEMOX). Установлено следующее: 1) само температурное воздействие в пределах 40–42°C вызывает повреждение опухолевых клеток; 2) цитостатическая активность многих противоопухолевых средств, в т. ч. гемцитабина и оксалиплатина, входящих в комбинацию GEMOX, повышается; 3) одновременное применение этих двух лекарственных средств сопровождается синергическим эффектом, а наиболее выраженное цитостатическое действие имеет место при введении гемцитабина за 4 ч до применения оксалиплатина на фоне гипертермического воздействия.

Сравнение результатов лечения рандомизированно распределенных групп пациентов, получавших стандартный режим GEMOX и этот же режим в условиях общей гипертермии, показало, что применение термохимиотерапии оправдано только у лиц с лимфомой Ходжкина. Частота объективного эффекта в группе термохимиотерапии по сравнению с группой сравнения оказалась в 2,25 раза выше и составила 75,0 против 33,3% ( $p < 0,05$ ). Медиана выживаемости без прогрессирования увеличилась с 6,7 до 10,4 мес. Применение общей гипертермии привело также к увеличению общей выживаемости пациентов. При сроках наблюдения от 6 до 54 мес. в группе термохимиотерапии двухлетний рубеж пережили 71%, медиана при этом не достигнута. В группе сравнения эти показатели составили 40% и 17 мес.

Таким образом, доказана возможность преодоления химиорезистентности опухолевых клеток у пациентов с лимфомой Ходжкина с помощью общей управляемой гипертермии.

Для практического здравоохранения подготовлена инструкция по применению «Метод термохимиотерапии рецидивных и рефрактерных лимфом Ходжкина».

*Вид патентной защиты:* подана заявка на изобретение.

*Область применения:* онкология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в онкологических учреждениях здравоохранения, имеющих установки для общей управляемой гипертермии.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### Thermochemotherapy for refractory and recurrent Hodgkin's lymphomas

*N.V. Sachivko, E.A. Zhavrid, Yu.P. Istomin, E.A. Alexandrova, P.V. Pocheshinsky, A.N. Mazurenko, N.A. Petrovskaya*

*Material of the study:* human lymphoma RAJI cells, 300 rats with implanted Pliss' lymphosarcoma, 40 patients with chemoresistant lymphomas.

The comparison of treatment outcomes in the groups of patients receiving the standard GEMOX regimen and the same regimen in whole-body hyperthermia demonstrated that thermochemotherapy was expedient only in Hodgkin's lymphoma patients. The objective response rate in the thermochemotherapy group was 2.25-time higher than in the control one: 75% versus 33.3% ( $p < 0.05$ ). The average recurrence-free survival increased from 6.7 months to 10.4 months. The introduction of whole-body hyperthermia also improved the patients' overall survival. In the follow-up period of 6 to 54 months, 71% of patients in the thermochemotherapy group survived at 2 years, the average survival was not reached. These rates were 40% and 17 months in the control group.

It was proved that it's possible to overcome chemoresistance of tumor cells in Hodgkin's Lymphoma patients by means of the controlled whole-body

hyperthermia.

The Guidelines «Thermochemotherapy for Refractory and Recurrent Hodgkin's lymphomas» were developed for practical health care.

*Field of application:* oncology.

*Recommendations for use:* in cancer institutions.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.62-006.6-089-085.28

**Метод лечения пациентов, страдающих мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря с неблагоприятным прогнозом, с использованием адъювантной химиотерапии после радикальной цистэктомии**

*О.Г. Суконко, А.Г. Жегалик, С.Л. Поляков, С.А. Красный, А.И. Ролевич, В.Ю. Василевич, А.А. Минич, А.С. Мавричев*

**Рубрики: 76.29.43; 76.29.49**

*НИР:* «Разработать и внедрить новые высокоэффективные методы диагностики и лечения онкоурологических заболеваний».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2008 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. О.Г. Суконко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Отдаленные результаты лечения пациентов, страдающих мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря с экстравезикальным распространением опухоли или метастазами в регионарных лимфоузлах, неудовлетворительны.

*Цель* — создание нового метода комплексного лечения этой категории пациентов с использованием адъювантной полихимиотерапии (АХТ). Метод заключается в проведении двух курсов полихимиотерапии по схеме гемцитабин-цисплатин после радикальной цистэктомии.

Метод оценен в проспективном рандомизированном исследовании по сравнению со стандартным лечением (наблюдение до прогрессирования рака). Всего в 2008–2012 гг. в исследование включено 83 радикально оперированных пациента с инвазивным переходноклеточным РМП (T2a-T4aN0-2M0). В исследуемую группу включено 42 пациента, в группу сравнения — 41. Группы были сопоставимы по возрасту, половому признаку, степени распространенности опухолевого процесса, степени дифференцировки опухоли и методу отведения мочи.

Установлено, что токсичность АХТ была умеренной. Осложнения III степени наблюдались только у 19,4% пациентов. Наиболее частыми осложнениями III степени были тромбоцитопения и тошнота/рвота. Однако два курса АХТ начато только у 57,1% пациентов, а полный курс химиотерапии проведен только у 35,7%. Модификация дозы из-за осложнений потребовалась у 32,3% пациентов. Основными причинами отказа от АХТ явились отсутствие комплаентности (44,4% слу-

чаев) и осложнения предыдущего лечения (38,9%).

Длительность наблюдения за пациентами в исследовании колебалась от 1 до 46 мес., медиана наблюдения составила 26,3 мес. При анализе отдаленных результатов лечения в зависимости от рандомизации (анализ «intent to treat») статистически значимых различий в отношении общей, скорректированной выживаемости и выживаемости до прогрессирования не получено ( $p = 0,92$ ;  $p = 0,65$  и  $p = 0,88$  соответственно).

Анализ результатов лечения в подгруппах выявил выраженные различия эффективности АХТ в зависимости от состояния регионарных лимфоузлов. В подгруппе пациентов без регионарных метастазов отмечено существенное улучшение показателей выживаемости при проведении АХТ. Так, в группе АХТ трехлетние показатели общей, скорректированной (раково-специфической) и безрецидивной выживаемости по сравнению с группой сравнения составили соответственно  $69,5 \pm 11,5$  и  $31,8 \pm 14,2\%$  ( $p = 0,07$ ),  $78,8 \pm 10,9$  и  $42,4 \pm 16,7\%$  ( $p = 0,06$ ),  $65,7 \pm 12,6$  и  $46,0 \pm 15,7\%$  ( $p = 0,16$ ). Напротив, в подгруппе пациентов с регионарными метастазами существенного улучшения показателей выживаемости при проведении АХТ не отмечено.

*Вид патентной защиты:* приоритетная справка № а 20121829.

*Область применения:* онкология, урология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в онкологических учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

**Treatment of high risk muscle-invasive bladder cancer with adjuvant chemotherapy after radical cystectomy**

*O.G. Sukonko, A.G. Zhegalik, S.A. Krasny, S.L. Polyakov, A.I. Rolevich, V.J. Vasilevich, A.A. Minich, A.S. Mavrichev*

Between 2008 and 2012 83 patients with urothelial muscle-invasive bladder cancer after radical cystectomy with pT3-4 and/or pN+ received 2 cycles of gemcitabine-cisplatin chemotherapy ( $n = 42$ ) or no therapy until progression ( $n = 41$ ). In the treatment group only 35.7% of patients received both cycles of chemotherapy. Chemotherapy was not possible in noncompliance (44.4%) and cystectomy complications (38.9%). Grade 3 complications of chemotherapy were seen in 19.4% of patients. The average follow-up was 26 months. There were no statistically significant differences in overall (OS), cancer-specific (CSS) and progression-free survival (PFS) between treatment groups ( $p = 0.92$ ;  $p = 0.65$  and  $p = 0.88$ , respectively). Subgroup analysis revealed the marked differences in adjuvant chemotherapy efficacy, depending on the regional lymph nodes status. In the subgroup of patients without regional metastases there was a significant improvement in survival in chemotherapy group over the control one with 3-year OS CSS and PFS  $69.5 \pm 11.5\%$  and  $31.8 \pm 14.2\%$ , ( $p = 0.07$ ),  $78.8 \pm 10.9\%$  and  $42.4 \pm 16.7\%$  ( $p = 0.06$ ),  $65.7 \pm 12.6\%$  and  $46.0 \pm 15.7\%$  ( $p = 0.16$ ), respectively.

*Field of application:* oncology, urology.  
*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.62-006.6-089(476)

**Метод лечения пациентов, страдающих раком мочевого пузыря без мышечной инвазии с неблагоприятным прогнозом с использованием повторной трансуретральной резекции**

*A.I. Rolevich, O.G. Sukonko, S.A. Krasny, S.L. Polyakov*

**Рубрики: 76.29.43; 76.29.49**

*НИИР:* «Разработать и внедрить новые высокоэффективные методы диагностики и лечения онкоурологических заболеваний».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2008 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. О.Г. Суконко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Результаты диагностики и лечения рака мочевого пузыря (МП) без мышечной инвазии (РМПБМИ) с использованием трансуретральной резекции (ТУР) не вполне удовлетворительны из-за высокой частоты остаточной опухоли после ТУР и существенной доли ошибочного стадирования.

*Цель* — создание метода лечения пациентов с РМПБМИ, имеющих неблагоприятный прогноз, с использованием повторной ТУР.

Метод заключается в дифференцированном применении по определенным показаниям (отсутствие адекватной информации о глубине инвазии опухоли и радикальности ТУР, расхождение клинических данных о распространенности опухоли с патоморфологическими, сомнение в радикальности ТУР, отсутствие мышечного слоя в гистологическом препарате после ТУР, низко- и умеренно дифференцированные немусечно-инвазивные опухоли) повторной ТУР в течение 4–8 недель после первичной. В ходе ТУР выполняется тщательная цистоскопия и биопсия ТУР всех подозрительных зон МП. При подозрении мышечно-инвазивной опухоли производится глубокая биопсия зоны предыдущей ТУР с обязательным включением мышечного слоя.

Проведено проспективное исследование, посвященное оценке эффективности разработанного метода у пациентов с РМПБМИ. Всего в 2008–2012 гг. в исследование включено 111 пациентов, из них у 81 были доступными все прогностические характеристики опухоли, оцененные при первичной ТУР. Всего в результате повторной ТУР выявлено 29 (26,1%) остаточных злокачественных опухолей, в т. ч. 4 (3,6%) мышечно-инвазивные и 3 (2,7%) низкодифференцированные. При стратификации данных в зависимости от цистоскопической картины и степени дифференцировки показано, что при отсутствии видимой опухоли и G1 только у 1 пациента из 29 (3,5%) выявлена остаточная опухоль. Однако, при отсутствии видимой опухоли и G2-G3 рак был обнаружен у 9 из 32 (28,1%) пациен-

тов ( $p = 0,0005$ ). Таким образом, с целью селекции лиц со степенью дифференцировки G1 для повторной ТУР возможно использование цистоскопии. При отсутствии цистоскопических данных о наличии опухоли повторной ТУР можно избежать.

*Область применения:* онкология, урология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в онкологических учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

**Role of the second transurethral resection in patients with high risk of non-muscle invasive bladder cancer**

*A.I. Rolevich, O.G. Sukonko, S.A. Krasny, S.L. Polyakov*

The purpose of the study was to develop the effective treatment algorithm with the second transurethral resection of the bladder (re-TURB). From 111 patients included into the study we analyzed the data of 81 (73%) patients with available prognostic characteristics of the initial tumor. Basic prognostic factors of initial tumor (stage, grade, tumor size, multifocality, growth pattern, recurrence rate, EORTC risk group) and cystoscopic findings on re-TURB were compared with the pathology results after re-TURB.

Residual tumor was found in 20 (25%) cases. After re-TURB Among all analyzed factors only cystoscopic findings on re-TURB ( $p = 0.004$ ) and tumor grade ( $p = 0.04$ ) were significant. After stratification of cases according to the grade and cystoscopic findings noninvasive residual tumor was found in 1 of 29 (4%) patients with initial low grade cancer and no visible tumor on re-TURB comparing to 9 of 33 (27%) patients with high grade and no visible tumor. If visible tumors were found on re-TURB residual cancer was confirmed in 10 of 19 (53%) patients.

*Field of application:* oncology, urology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.61-006.6-(476)

**Метод лечения локализованных периферических опухолей почки с использованием радиочастотной абляции**

*V.B. Akinfeyev, V.S. Dudarev, S.L. Polyakov, A.V. Karman, V.F. Orekhov, A.S. Mavrichев*

**Рубрики: 76.29.43; 76.29.49**

*НИИР:* «Разработать и внедрить новые высокоэффективные методы диагностики и лечения онкоурологических заболеваний».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2008 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. О.Г. Суконко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Разработан метод лечения локализованных периферических опухолей почки с использованием радиочастотной абляции (РЧА). Выполняется пункция опухо-

ли специальной иглой-электродом под контролем УЗИ, КТ или лапароскопии и сеанс РЧА с последующим КТ-контролем результатов лечения.

Эффективность метода изучена в проспективном исследовании. В исследование включено 32 опухоли (31 пациент). Лапароскопический контроль использован у 16 пациентов, УЗИ-контроль — у 10 и КТ-контроль — у 6. Во всех случаях сеанс РЧА был успешным. Только у одной пациентки через 3 мес. после РЧА развился рецидив опухоли. Трехлетняя безрецидивная выживаемость составила  $96,3 \pm 3,6\%$ . Всего отмечено 3 (9,4%) осложнения, не требующих инвазивных манипуляций.

Разработанный метод РЧА является эффективным малоинвазивным методом лечения локализованных периферических опухолей менее 4 см. Разработанный метод сопровождается приемлемым количеством осложнений.

*Область применения:* онкология, урология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в онкологических учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Treatment of localized peripheral renal tumors with radiofrequency ablation**

*V.V. Akinfeev, V.S. Dudarev, S.L. Polyakov, A.V. Karman, V.F. Orekhov, A.S. Mavrichiev*

There was developed the method of treatment of localized peripheral renal tumors with radiofrequency ablation (RFA) associated with US, CT or laparoscopy. Treatment efficacy was assessed in prospective study which included 32 tumors in 31 patients. Laparoscopic control was used in 16 patients, US-control in 10 and CT-control — in 6. In all cases the immediate results of RFA were good. During the follow-up period only one patient experienced the recurrence in 3 months after RFA. 3-year recurrence-free survival was  $96.3 \pm 3.6\%$ . There were registered 3 (9.4%) minor complications.

*Field of application:* oncology, urology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.62-006.6-071.085(476)

#### **Метод комплексного лечения пациентов, страдающих раком мочевого пузыря без мышечной инвазии, с использованием комбинации фотодинамической диагностики, трансуретральной резекции и однократной ранней инстилляцией доксорубицина**

*А.И. Ролевич, О.Г. Суконко, С.А. Красный, С.Л. Поляков*

**Рубрики:** 76.29.43; 76.29.49

*НИИР:* «Разработать и внедрить новые высокоэффективные методы диагностики и лечения онкоурологических заболеваний».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2008 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. О.Г. Суконко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Отдаленные результаты лечения пациентов, страдающих раком мочевого пузыря без мышечной инвазии (РМПБМИ), неудовлетворительны ввиду высокой частоты местных рецидивов заболевания.

*Цель* — создание нового метода комплексного лечения этой категории пациентов с использованием фотодинамической диагностики (ФДД) и однократной ранней инстилляцией химиопрепарата после трансуретральной резекции (ТУР) мочевого пузыря (МП), позволяющего снизить количество рецидивов рака.

Объектом исследования послужили 507 пациентов с РМПБМИ, которые случайно распределялись в 4 группы: совместное применение ФДД, ТУР и однократной инстилляцией доксорубицина (ФДД+Д, группа 1), ТУР в белом свете (БС) и однократная инстилляцией доксорубицина (БС+Д, группа 2), совместное применение ФДД и ТУР (ФДД+0, группа 3) и только ТУР в белом свете (БС+0, группа 4). Оценка результатов лечения проводилась у 348 пациентов (68,6% от всех рандомизированных), поскольку у остальных результаты было невозможно оценить из-за отсутствия опухоли в мочевом пузыре ( $n = 40$ ; 7,9%), нерадикальной ТУР ( $n = 45$ ; 8,9%), выявлении мышечно-инвазивной опухоли ( $n = 41$ ; 8,1%) и отсутствии данных о наблюдении ( $n = 33$ ; 6,5%).

При медиане наблюдения 30 мес. (от 3 до 51 мес.) диагностировано 73 рецидива. При анализе отдаленных результатов установлено, что выполнение ТУР в комбинации с ФДД приводило к статистически значимому повышению 3-летней безрецидивной выживаемости с  $69,4 \pm 3,8$  до  $80,7 \pm 4,2\%$  по сравнению с ТУР в белом свете ( $p = 0,02$ ). Однократная ранняя инстилляцией доксорубицина приводила к четкому тренду к улучшению безрецидивной выживаемости. Так, безрецидивная выживаемость у пациентов с однократной инстилляцией и без нее составила соответственно  $77,3 \pm 3,7$  и  $72,3 \pm 4,0\%$  ( $p = 0,17$ ).

При анализе безрецидивной выживаемости наилучшие результаты наблюдались в группе ФДД+Д (3-летняя безрецидивная выживаемость  $84,2 \pm 5,1\%$ ) и наихудшие — в группе БС+0 (3-летняя безрецидивная выживаемость  $67,0 \pm 5,6\%$ ). Безрецидивная выживаемость в группах ФДД+0 и БС+Д занимала промежуточное положение (3-летняя безрецидивная выживаемость  $77,4 \pm 6,6$  и  $71,7 \pm 5,2\%$  соответственно). Отмечалась четкая тенденция к статистической значимости различий в выживаемости ( $p = 0,06$ ). Таким образом, при взаимодействии изучаемых лечебных мероприятий наблюдался суммационный эффект, что говорит о необходимости использования и ФДД и однократной инстилляцией доксорубицина у пациентов, страдающих РМПБМИ.

*Вид патентной защиты:* приоритетная справка № а 20121828.

*Область применения:* онкология, урология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в онкологических учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

**Combination of photodynamic diagnosis-assisted transurethral resection of the bladder and single postoperative intravesical chemotherapy instillation in patients with nonmuscle-invasive bladder cancer**

*A.I. Rolevich, O.G. Sukonko, S.A. Krasny, S.L. Polyakov*

A prospective randomized trial with factorial design was performed to assess the effect of interaction of photodynamic diagnosis (PDD)-assisted transurethral resection of the bladder (TURB) and single early intravesical chemotherapy instillation on the recurrence rate in nonmuscle-invasive bladder cancer (NMIBC) patients. The patients with clinical NMIBC were randomly assigned to one of 4 treatment arms: in arm A PDD+TURB+single intravesical instillation of 50 mg of doxorubicin within 6 hours after operation was used, in arm B - TURB with single instillation, in arm C —

PDD+TURB and in arm D — TURB+single instillation. 507 patients with the average age of 69 years were included into the study. Among these patients 348 (69%) were evaluable. After average follow-up of 30 month 9, 15, 22 and 27 recurrences were diagnosed in the arms A, B, C, D, respectively, that is  $84.2\pm 5.1\%$ ;  $77.4\pm 6.6\%$ ;  $71.7\pm 5.2\%$  and  $67.0\pm 5.6\%$  3-year recurrence-free survival. PDD±single instillation provided statistically significant decrease of recurrence risk comparing to TURB±single instillation with HR = 0.56 (95%CI 0.34–0.91, p = 0.019). Single instillation after TURB±PDD was not statistically significantly better than TURB±PDD (HR = 0.72, 95%CI 0.46–1.15; p = 0.17).

*Field of application:* oncology, urology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

УДК 616.155.194:616-008.851

### Особенности кислородного обмена эритроцитов и их редуцирующей активности в норме и при анемиях

*Ж.В. Пешняк, З.И. Кравчук, Л.А. Смирнова,  
Н.В. Гончарова, О.Н. Бондарук, Ю.В. Устинович,  
Е.М. Тумар, М.С. Рудь, С.И. Алещик, Е.Ю. Черныш,  
Л.П. Пархач, Э.П. Титовец*

**Рубрика: 76.29.33**

*НИР:* «Изучение кислородного обмена эритроцитов и их редуцирующей активности в норме и при анемиях».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научные руководители:* д-р биол. наук, проф. Э.П. Титовец, канд. хим. наук З.И. Кравчук.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — получение с применением оригинальной технологии и на основе нового фундаментального знания о механизме кислородного обмена эритроцитов информации о взаимосвязи кислородного обмена эритроцитов и активности их редуцирующих систем в норме и при анемиях различного генеза, а также о возможностях фармакологической регуляции кислородного обмена эритроцитов и оптимизации лечения.

Разработана компьютерная модель кислородного обмена эритроцитов с окружающей тканью. При этом транспорт кислорода происходит преимущественно по аквапориновому механизму.

Разработаны технологии изучения активности редуцирующих систем эритроцитов и их кислородного обмена с использованием дифференциальной спектрофотометрии и кинетической полярографии кислорода. В результате проведенных исследований выявлено снижение активности редокс-систем эритроцитов при лейкозах. Одновременно изучена активность ключевых оксидоредуктаз эритроцитов и ферментов метаболизма промежуточных форм восстановления кислорода: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы, а также уровень перекисного окисления липидов в норме и при анемиях на фоне лимфо- и миелопролиферативных заболеваний. Выявлено снижение эффективности антиоксидантной защиты и скорости энергетического обмена в эритроцитах (за счет снижения активности лактатдегидрогеназы (терминального фермента анаэробного гликолиза).

При применении дексаметазона и преднизолона отмечено повышение интегральной редуцирующей активности эритроцитов в норме и при лейкозах. На основании исследований предложен новый механизм действия кортикостероидов на газообмен эритроцитов: кортикостероиды повышают экспрессию в эритроцитарной мембране аквапорина-1. Данный

факт подтвержден методом проточной цитофлуориметрии, выявляющей повышение содержания эритроцитов с высокой экспрессией антигена Колтона (эптопа аквапорина-1) у пациентов с анемическим синдромом при хроническом лимфолейкозе после терапии с применением кортикостероидов.

Показан также корригирующий эффект аскорбиновой кислоты и цианокобаламина на регуляцию активности ключевых оксидоредуктаз эритроцитов и ферментов метаболизма промежуточных форм восстановления кислорода, способствующий нормальному протеканию биохимических процессов в эритроцитах. Установлено также, что аскорбиновая кислота и цианокобаламин повышают скорость транспорта кислорода через эритроцитарную мембрану.

*Вид патентной защиты:* патент № 14224 от 24.12.2010 «Способ исследования кислородного обмена эритроцитов», автор д-р биол. наук, проф. Э.П. Титовец; патентовладелец — ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии», срок действия патента — до 24.12.2030.

*Область применения:* неврология, гематология, трансфузиология, клиническая лабораторная диагностика и другие области медицины.

*Рекомендации по использованию:* полученные данные могут быть использованы для оценки влияния фармакологических средств на структурно-функциональное состояние эритроцитов.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по данной проблеме.

### Features of the oxygen exchange of erythrocytes and their reducing activity normally and in anemia

*J.V. Peshnyak, Z.I. Kravchuk, L.A. Smirnova,  
N.V. Goncharova, O.N. Bondaruk, Yu.V. Ustinovich,  
A.M. Tumar, M.S. Rudz, S.I. Aleshchik, E.Yu. Chernysh,  
L.P. Parhach, E.P. Titovets*

The computer model of the oxygen exchange between erythrocytes and surrounding tissue was developed. The differential spectrophotometry and kinetic oxygen polarography were used to develop the technologies for research on oxygen exchange and reducing activity of red blood cells. It was observed that patients with anemia at lympho- and myeloproliferative diseases showed the reduction in the antioxidant defense efficiency and in the rate of energy metabolism in red blood cells. A new mechanism of the effect of corticosteroids on gas exchange of red blood cells was formulated.

The point is that corticosteroids increase the expression of aquaporin-1 in the erythrocyte membrane. The ability of ascorbic acid and cyanocobalamin to increase the rate of transport of oxygen through erythrocyte membrane was determined. There was shown the corrective effect of ascorbic acid and cyanocobalamin on the regulation of the activity of key oxidoreductases.

*Field of application:* neurology, hematology, transfusionology, clinical laboratory diagnostics and other areas of medicine.

*Recommendations for use:* the obtained data can be used to assessment the influence of drugs on erythrocytes.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.832.522-097-085:616.832-018

**Показатели клеточного иммунитета у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом до и после терапии аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками**

*С.М. Космачева, С.И. Игнатенко, Н.В. Гончарова,  
Ю.Н. Рушкевич, С.А. Лихачев, Г.В. Заброец,  
М.П. Потапнев*

**Рубрики: 76.29.46; 76.29.51**

*НИР:* «Нарастить трансплантаты аутологичных мезенхимальных стволовых клеток для клеточной терапии БАС».

*Сроки выполнения НИР:* апрель 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. М.П. Потапнев.

*Источник финансирования:* бюджет Беларуси и РФ.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) — нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы, которое вызывает гибель верхних и нижних двигательных нейронов, отличается неуклонным прогрессированием и приводит к летальному исходу. Причина возникновения БАС до конца не изучена, однако основная группа исследователей придерживается теории полиэтиологичности данного заболевания. Некоторые авторы указывают на инфекционную и аутоиммунную природу БАС. В основе патогенеза гибели мотонейронов может лежать дефицит нейротрофических факторов, глутаматная эксайтотоксичность, оксидативный стресс, нарушение клеточного гомеостаза кальция, дезорганизация нейрофиламентов и дисфункция митохондрий. Иммуный статус пациентов с БАС не изучен. В литературе встречаются только единичные случаи выявления некоторых факторов иммунитета при БАС.

*Цель* — определение показателей клеточного иммунитета у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом и его изменение в процессе терапии мезенхимальными стволовыми клетками (МСК).

Иммуный статус исследовали у 10 пациентов, получавших внутривенную терапию наращенными *in vitro* аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками в количестве  $0,5 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$ /кг веса и эндолумбальную инфузию нейроиндуцированных МСК в количестве  $6,8 \times 10^6 \pm 0,4 \times 10^6$ . Фенотип субпопуляций лимфоцитов периферической крови оценивали до введения и в отдаленные сроки после инфузии МСК. Медиана возраста пациентов составила 55 (40–64) лет. У всех пациентов наблюдалась генерализация процесса.

Исходное состояние пациентов оценивалось в среднем как 41 балл по функциональной шкале ALFSRS и 80 баллов по шкале Карновского. Для определения состава популяции и степени активации мононуклеаров периферической крови использовали проточную цитометрию и следующие комбинации поверхностных моноклональных антител: CD4/CD8/CD3, CD4/CD25, CD3/CD38, CD4/CD40L, CD19/CD40, CD3/CD16+56, CD3/HLA-DR, CD3/CD45RO, CD3/CD45RA, CD3/CD57, CD3/CD95. В качестве контрольных показателей иммунного статуса использовали значения, полученные при обследовании здоровых доноров крови ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (10 человек).

В иммунограмме пациентов с БАС был выявлен ряд нарушений содержания клеток гуморального и клеточного звеньев иммунитета (табл. 1).

Таблица 1

Иммуный статус пациентов с БАС до проведения клеточной терапии МСК

Маркеры клеток	Количество клеток (%), экспрессирующих маркеры	
	Здоровые доноры X±m	Лица с БАС X±m
CD3+	72,8±1,9	67,7±2,34
CD19+	9,66±1,0	6,9±0,57*
CD3+/CD4+	46,3±1,3	38,6±2,3**
CD3+/CD8+	24,9±1,2	27,7±2,2
CD3-/CD57+	6,5±1,3	12,2±1,4**
CD3-/CD16+CD56+	12,2±1,3	15,8±2,1
CD3+/HLA-DR+	11,5±2,8	14,4±3,1
CD3+/CD38+	22,4±2,4	21,2±2,5
CD4+/CD25+	7,9±1,1	6,5±2,3
CD4+/CD25hi	4,6±0,4	6,2±1,7
CD3+/CD57+	5,15±0,7	19,6±3,3***
CD3+/CD16+CD56+	9,8±1,5	17,3±2,9*
CD3+/CD95+	49,3±4,2	40,8±3,5
CD3-/CD95+	48,4±3,9	12,1±3,5***
CD4/CD8	1,9±0,1	1,46±0,2*

*Примечание:* \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001.

Установлено достоверное снижение (по критерию t-Стьюдента) количества В-лимфоцитов (CD19+) и редукция иммунорегуляторного индекса за счет уменьшения содержания Т-лимфоцитов хелперов (CD3+/CD4+). Кроме того, у пациентов с БАС зарегистрировано увеличение содержания естественных киллерных клеток (CD3-/CD57+) и киллеров с фенотипом Т-лимфоцитов (CD3+/CD57+, CD3+/CD16+CD56+). Содержание клеток, готовых к апоптозу (CD3-/CD95+), было снижено у пациентов с БАС по сравнению с группой сравнения здоровых лиц.

Анализ иммунограмм, выполненных 5 пациентам в отдаленные сроки (через 5-8 мес.) после трансплантации МСК, показал статистически значимое изменение (тенденция к нормализации) некоторых показателей иммунного статуса относительно исходных значений у данной группы пациентов до клеточной терапии (табл. 2; t-критерий Уилкоксона).

Таблица 2

Иммунный статус пациентов с БАС в отдаленные сроки после введения МСК

Маркеры клеток	Количество клеток (%), экспрессирующих маркеры	
	до введения МСК X±m	после введения МСК X±m
CD3+	64,8±2,8	58,2±4,3
CD19+	7,4±0,5	8,0±1,41
CD3+/CD4+	37,8±3,5	34,2±2,9
CD3+/CD8+	25,4±2,8	22,4±3,1**
CD3-/CD57+	13,6±2,2	9,6±2,2
CD3-/CD16+CD56+	19,6±2,3	19,8±3,8
CD3+/HLA-DR+	12,3±3,1	16,4±5,9
CD3+/CD38+	25,4±2,2	19,4±2,6
CD4+/CD25+	8,9±4,3	3,8±0,4
CD4+/CD25hi	8,2±3,1	3,1±0,7
CD3+/CD57+	17,0±1,8	13,2±3,4*
CD3+/CD16+CD56+	14,0±3,9	12,8±3,2
CD3+/CD95+	42,4±0,2	32,6±5,9
CD3-/CD95+	17,6±5,4	8,6±2,3
CD4/CD8	1,5±0,3	1,6±0,3

Примечание: \*p<0,05; \*\*p<0,01.

Установлено снижение количества цитотоксических лимфоцитов CD3+/CD8+ и клеток киллеров с фенотипом Т-лимфоцитов (CD3+/CD57+). Кроме того, отмечалась тенденция к уменьшению содержания киллеров CD3-/CD57+, CD3+/CD16+CD56+, активированных Т-лимфоцитов (CD4+/CD25+) и клеток, несущих маркер готовности к апоптозу (CD3+/CD95+, CD3-/CD95+).

Таким образом, в периферической крови пациентов с БАС присутствуют признаки системного воспалительного процесса. Высокий уровень ЕК, ЕКТ и снижение количества В-клеток может быть подтверждением иммунологической реакции на эндогенные белки или вирусы. Инфузия аутологичных МСК оказывала слабый иммуномодулирующий эффект и не вызывала выраженной иммуносупрессии.

*Область применения:* клеточная биология, трансплантология, регенеративная медицина.

*Рекомендации по использованию:* для разработки новых протоколов лечения с использованием мезенхимальных стволовых клеток.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по разработке протоколов культивирования и наращивания мезенхимальных стволовых клеток для терапевтических целей.

#### Analysis of lymphocyte subpopulations in peripheral blood of patients with lateral amyotrophic sclerosis treated with autologous mesenchymal stem cells

S.M. Kosmacheva, S.I. Ignatenko, N.V. Goncharova, Y.N. Rushkevich, S.A. Lihachev, G.V. Zabrodets, M.P. Potapnev

Ten patients with lateral amyotrophic sclerosis (LAS) were treated with expanded *in vitro* autologous mesenchy-

mal stem cells (autoMSCs). There were found the reduced amount of B cells and CD3+CD4+ T cells, the increased amount of CD3-CD57+ NK cells, CD3+CD16+CD56+ NKT cells in peripheral blood of patients before application of cellular therapy. Intravenous + endolumbal injections of autoMSCs resulted in beneficial clinical effect, which was associated with the reduced amount of CD3+CD8+ and CD3+CD57+cytotoxic T cells in five patients, who underwent immunophenotyping in 5–8 months after autoMSCs injection. We made the conclusion that MSC-based cellular therapy may improve immunological abnormalities in patients, suffering from ALS for a long time.

*Field of application:* immunology, neurology, regenerative medicine.

*Recommendation for use:* monitoring of clinical effects of cellular therapy.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.8-091.934:612.398.145.3

#### Конструирование, экспрессия и получение рекомбинантного МОГ1-125 человека для количественного определения МОГ-специфических аутоантител

Г.В. Кожух, А.П. Власов, С.П. Марцев, М.М. Зафранская, А.В. Борисов, Е.Б. Рудаковская

Рубрики: 76.03.31; 76.03.55; 34.15.27

*НИИР:* «Получение препаративных количеств апиrogenных терапевтических препаратов рекомбинантного N-МОГ и разработка иммуноферментного метода оценки уровня МОГ-специфических аутоантител».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. – декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. биол. наук А.П. Власов.

*Организация-соисполнитель:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка метода получения препаративных количеств апиrogenного рекомбинантного внеклеточного фрагмента миелин-олигодендроцитарного гликопротеина человека, служащего в качестве миелинового антигена для целей иммуноферментного метода детекции МОГ-специфических аутоантител в сыворотках крови пациентов с рассеянным склерозом (РС), а также в качестве супрессора иммунного ответа при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Миелин-олигодендроцитарный гликопротеин (МОГ) — специфический антиген миелина центральной нервной системы, принадлежащий к суперсемейству иммуноглобулинов. Высокая энцефалитогенная активность МОГ указывает на его ведущую роль в качестве аутоантигена при демиелинизирующих заболеваниях, например, рассеянном склерозе. Точная патологическая роль аутоантител к МОГ при развитии РС, а также корреляция между их экспрессией и тяжестью развития РС до сих пор не установлена.

В качестве одного из современных подходов в патогенетической терапии РС и других аутоиммунных за-

болеваний рассматривается клеточно-индуцированная толерантность, опосредуемая мезенхимальными стволовыми клетками, которые обладают способностью супрессировать иммунный ответ и участвовать в репарации поврежденных тканей. В этой связи показаны достоверные различия в способности МСК супрессировать миелин-индуцированную пролиферацию патогенетически значимых CD3CD45R0+ Т-клеток памяти у пациентов с РС.

Одним из эффективных путей получения МОГ, его внеклеточного N-концевого домена (1-125 а.к.) является создание бактериальной системы экспрессии методами молекулярной биологии. Данный подход позволяет получить значимые количества полипептида в целях изучения процессов, участвующих в патогенезе рассеянного склероза.

Основой для создания плазмиды, кодирующей рекомбинантный МОГ<sub>1-125</sub>, послужил вектор pET-22b (Novagen, Германия). Ген, кодирующий МОГ<sub>1-125</sub> человека, амплифицировали, используя в качестве матрицы кДНК полноразмерного МОГ человека, клонированную в родительский вектор pCMV6-XL5 (OriGene Technologies, США). Амплификация проводилась по стандартному протоколу, включающему 30 циклов полимеразной цепной реакции. Амплифицированный участок ограничивался прямым праймером, содержащим сайт рестрикции *NdeI*, и обратным праймером с сайтом *XhoI*. По данным сайтам в дальнейшем осуществлялось встраивание фрагмента в экспрессионный вектор pET-22b.

Генно-инженерные операции по получению экспрессирующей плазмиды включали амплификацию гена, его перенос в клонирующий вектор pJET1/blunt (Fermentas, Литва), клонирование в экспрессирующий вектор pET-22b по сайтам рестрикции *NdeI* и *XhoI*. Верификацию клонированного фрагмента, кодирующего МОГ<sub>1-125</sub>, осуществляли рестрикционным анализом и прямым секвенированием по Сэнгеру. Полученная генная конструкция при трансляции дает согласно данным гель-проникающей хроматографии и масс-спектрометрии MALDI-TOF полипептид с молекулярной массой ~15,5 кДа, что соответствует МОГ<sub>1-125</sub> человека с дополнительным метионином на N-терминальном конце и гексагистидиновым пептидом на C-терминальном конце.

Экспрессию рекомбинантного МОГ осуществляли в бактериальных клетках *E. coli* штамма BL-21 (DE 3), индуцированных 1 мМ изопропил-β-D-тиогалактопиранозидом (ИПТГ). Уровень экспрессии в типичном случае составлял более 70 мг белка на 1 л культуральной среды. Целевой белок локализован преимущественно в тельцах включения, где составляет 50-70% суммарного белка.

Разработан эффективный метод ренатурации (рефолдинга) и хроматографической очистки белка на твердой фазе с использованием эффективной металл-хелатной аффинной хроматографии на Ni-NTA Sepharose (Qiagen, США) сорбенте, образующем координационные комплексы Ni с гексагистидиновым «тэгом» рекомбинантного МОГ<sub>1-125</sub>.

МОГ<sub>1-125</sub> в процессе выделения солибилизовали в 6М гуанидин гидрохлориде и наносили на металл-хелатную колонку. Целевой белок специфично связывался с матриксом Ni-NTA Sepharose. После промывки и смены денатуранта на 8 М мочевины белок непосредственно на колонке рефолдировался путем создания понижающего линейного градиента мочевины и далее элюировался в нативных условиях буфером, содержащим 0,2 М имидазол. В результате получен высокоочищенный препарат МОГ<sub>1-125</sub> в компактной нативной конформации с чистотой не менее 95%.

В целях дальнейших исследований, направленных на изучение процессов, участвующих в патогенезе рассеянного склероза, а также использования мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в качестве клеточного трансплантата для пациентов с РС после стимуляции трансплантата рекомбинантным миелиновым аутоантигеном МОГ<sub>1-125</sub>, препараты МОГ были очищены от бактериальных эндотоксинов посредством хроматографических методов – анионообменной и обращенно-фазовой хроматографии. Для дискриминации эндотоксинов и белка использовался сильный анионообменник Q Sepharose Fast Flow (GE Healthcare Life Sciences, США). Препарат МОГ<sub>1-125</sub> наносился на ионообменную колонку в Na-ацетатном буфере pH 4,5, в котором белок (pI > 6) заряжен положительно, а липополисахарид (pI < 3) – отрицательно. Отрицательно-заряженные липополисахариды адсорбировались на сорбенте, в то время как положительно-заряженный МОГ<sub>1-125</sub> свободно проходил через колонку. При использовании обращенно-фазовой хроматографии препараты МОГ<sub>1-125</sub> наносились на колонку типа C8-HPLC Octyl Si 100 Polyol (Serva, Швеция) в подвижной фазе, содержащей 20% ацетонитрила. При этих условиях нанесения МОГ<sub>1-125</sub> был не способен удерживаться неподвижной фазой колонки C8 и элюировался. Эндотоксины, напротив, удерживались неподвижной фазой и элюировались лишь при повышении концентрации ацетонитрила до 70%. Последовательно используемые анионообменная и обращенно-фазовая хроматография позволили достичь уровня эндотоксинов в препаратах МОГ<sub>1-125</sub> ниже 2 EU/мг, что позволяет применить данный препарат в терапевтических протоколах лечения РС, основанных на трансплантации активированных МСК.

Одним из возможных путей вовлечения МОГ в процессы демиелинизации при РС является прямая индукция данных патологических процессов МОГ-специфичными аутоантителами. Разработка иммуноферментного анализа МОГ-специфичных аутоантител в сыворотках крови и установление корреляции между их экспрессией и тяжестью развития РС позволит прояснить роль МОГ в патологии РС.

Необходимым условием для количественной оценки антител при иммуно-ферментном анализе являются стандарты-калибраторы, позволяющие откалибровать уровни измеряемых сигналов.

В качестве стандартов-калибраторов, необходимых для оценки уровня МОГ-специфичных аутоантител в сыворотках, предпочтительно использовать природ-

ные МОГ-специфичные антитела, получаемые непосредственно из сывороток крови человека. Для создания МОГ-специфичных IgG использовалась аффинная хроматография на основе BrCN-активированной сефарозы, где в качестве лиганда выступал рекомбинантный МОГ<sub>1-125</sub>.

Для получения антител, специфичных к МОГ, на первом этапе при помощи сульфат-аммонийной преципитации и гель-фильтрации была получена общая фракция IgG из сывороток крови от 10 пациентов, страдающих рассеянным склерозом. Данная пулированная фракция использовалась в дальнейшем для получения МОГ-специфичных IgG.

Для проведения аффинной хроматографии на колонку, содержащую 2 мл МОГ-BrCN-сефарозы, нанесли общую фракцию IgG, полученную из сыворотки пациентов, страдающих рассеянным склерозом, в PBS. Далее промывали колонку буфером PBS. Фракцию IgG, аффинно связанную с МОГ-сефарозой, элюировали 0,1 М глицин-HCl буфером, содержащим 150 мМ NaCl, pH 2,3. Полученный пул МОГ-специфичных IgG в дальнейшем использовали в качестве стандартов-калибраторов при разработке твердофазного ИФА.

Таким образом, в результате комбинации методов генетической и белковой инженерии получен апиригенный рекомбинантный N-терминальный внеклеточный фрагмент МОГ<sub>1-125</sub> человек, как модулирующий агент для МСК при аутотрансплантации пациентом с РС, а также как основной компонент иммунохимической системы для количественного определения аутоантител к МОГ – возможных маркеров рассеянного склероза. Создается лабораторная иммуноферментная тест-система для определения аутоантител к МОГ.

*Область применения:* белковая инженерия, лабораторная диагностика, иммунология.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования и технологические разработки в области конструирования белков и иммунохимических систем анализа.

#### **Design, expression and purification of human recombinant MOG for determination of anti-MOG antibodies**

*G.V. Kozhukh, A.P. Vlasov, S.P. Martsev,  
M.M. Zafanskaya, A.V. Borisov, E.B. Rudakovskaya*

Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) is a putative autoantigen in multiple sclerosis (MS). The major goal of this study is to develop a quantitative high-throughput ELISA on the basis of recombinant human MOG.

We applied a combination of genetic and protein engineering to obtain highly pure N-terminal extracellular domain of human myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG<sub>1-125</sub>) that will be employed as a solid-phase capture antigen to develop immunoassay method of anti-MOG antibodies in serums of patients with MS.

*Field of application:* protein engineering, laboratory diagnostics, immunology.

*Offers for cooperation:* cooperative research in a field of protein engineering, development of diagnostic immunochemical systems.

УДК 616-006-002.4:57.083.324]-07-053.02

#### **Растворимый рецептор фактора некроза опухолей первого типа в диагностике острой реакции «трансплантат против хозяина» у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток**

*Т.М. Дорошенко, С.Т. Акалович, В.А. Бакерова,  
Е.Н. Автономова, Т.В. Шман, Ю.Е. Марейко,  
А.С. Невмержицкая, Н.В. Минаковская, М.В. Белевцев,  
О.В. Алейникова, Н.Н. Войтенко*

**Рубрики: 76.29.46; 76.35.33**

*НИР:* «Разработать высокочувствительный «сэндвич» — вариант иммуноферментного анализа для определения растворимого рецептора ИЛ-8 CXCR2 человека и изучить его продукцию в комплексе с растворимым рецептором ФНО р55 и другими цитокиновыми маркерами у пациентов с гемобластомами на различных этапах терапии, включая трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток».

*Сроки выполнения НИР:* 2011–2013 гг.

*Научные руководители:* д-р мед. наук Н.Н. Войтенко, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — оценить диагностическую значимость определения растворимого рецептора фактора некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО) первого типа (рФНОР1) в плазме крови пациентов детского возраста после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) при развитии острой реакции «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ).

В настоящее время аллогенная ТГСК является одним из наиболее актуальных и перспективных методов лечения многих гематологических, онкологических и генетических заболеваний. Реакция РТПХ является наиболее частым и тяжелым осложнением аллогенной ТГСК и продолжает оставаться одной из главных причин смертности в посттрансплантационном периоде. На сегодняшний день в клинической трансплантологии нет серологических маркеров, позволяющих не только диагностировать, но и прогнозировать развитие у реципиентов иммунопатологических осложнений. Поэтому разработка новых подходов к ранней диагностике острой РТПХ с целью своевременной и эффективной терапии данного осложнения является актуальной. В ряде зарубежных крупномасштабных исследований предложены панели, состоящие из нескольких серологических маркеров, включая цитокины, их растворимые рецепторы, факторы роста и др.

Исследована плазма крови 21 пациента (первичный диагноз: 9 — ОЛЛ, 4 — ОМЛ, 4 — апластическая анемия, 2 — лимфома, 1 — врожденная нейтропения тяжелой степени, 1 — хроническая гранулематозная болезнь, возраст от 1,8 до 17 лет), госпитализированных в РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии. Анализировали образцы плазмы до начала режима кондиционирования (0 день, К0) и в нескольких контрольных

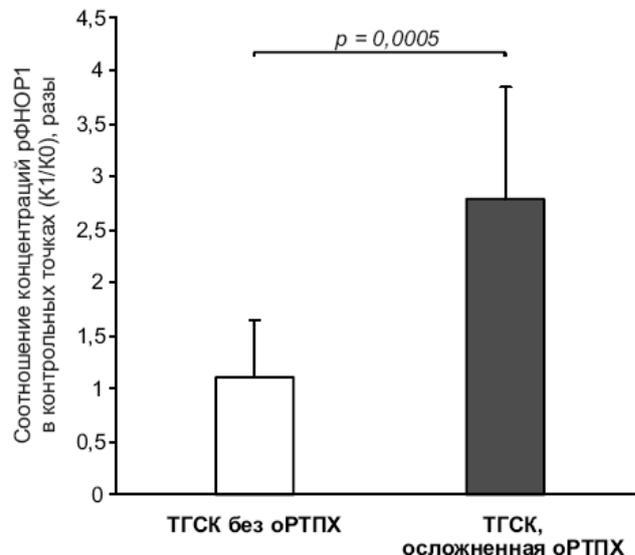
точках после ТГСК (14, 21 или 30 день). Среди пациентов было выделено две группы: без развития оРТПХ («ТГСК без оРТПХ»,  $n = 12$ ) и с развитием оРТПХ 1–3 стадии («ТГСК, осложненная оРТПХ»,  $n = 7$ ). Группа контроля включала 24 здоровых ребенка (возраст от 8 мес. до 16 лет). Концентрацию рФНОР1 определяли с помощью «сэндвич»-ИФА, разработанного ранее в лаборатории биотехнологии антител и цитокинов РНПЦ трансфузиологии и медицинской биотехнологии. Статистический анализ результатов проводили с использованием пакета прикладных программ «Статистика 6.0» с помощью U-теста Манн–Уитни для непараметрических данных.

Хорошо известно, что в развитии и поддержании реакции «трансплантат против хозяина» участвует каскад цитокинов. Провоспалительный цитокин ФНО вовлекается на трех стадиях развития оРТПХ, начиная с повышения уровня экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости и минорных антигенов клетками реципиента и заканчивая индукцией синтеза хемокинов, которые привлекают лейкоциты в ткани мишени РТПХ. Определение ФНО в образцах плазмы является низкоинформативным, в то же время показано, что рФНОР1 в отличие от самого ФНО циркулирует в крови не менее 1 сут и является стабильным маркером системных и локальных реакций, опосредованных ФНО.

Определение уровня рФНОР1 показало, что его концентрация в плазме пациентов группы «ТГСК без оРТПХ» до начала кондиционирования составила  $3,8 \pm 1,4$  нг/мл, что выше ( $p = 0,002$ ) уровня группы сравнения ( $2,5 \pm 0,8$  нг/мл). У пациентов группы «ТГСК, осложненная оРТПХ» содержание рФНОР1 ( $2,9 \pm 1,6$  нг/мл) достоверно не отличалось от группы сравнения.

В ходе лечения при развитии оРТПХ на 9–30 сут после ТГСК было выявлено значительное увеличение концентрации рФНОР1 в плазме в ближайшей к началу оРТПХ контрольной точке забора крови (К1) по сравнению с К0 у каждого пациента. Далее в следующей контрольной точке уровень маркера достоверно падал ( $p = 0,0037$ ). В группе пациентов, у которых не развилась оРТПХ, в ходе терапии ТГСК концентрация рФНОР1 существенно не изменялась. Следует отметить, что данный подход не может быть использован у пациентов с инфекционными осложнениями, у которых уровень рФНОР1 повышается в ответ на инфекцию.

Статистический анализ данных показал, что при развитии оРТПХ содержание рФНОР1 в точке К1 увеличивается более чем в 2 раза по сравнению с точкой К0 (среднее значение в группе — 2,8 раза; диапазон 1,7–4,9;  $p = 0,0005$ ), тогда как в группе пациентов без оРТПХ концентрация рФНОР1 в ближайшей контрольной точке изменяется в пределах 0,5–2,0 раза (среднее значение 1,2 раза;  $p = 0,13$ ) (рис.).



Полученные нами данные согласуются с данными S. Choi et al., которые показали, что повышение концентрации рФНОР1 в 2,5 раза и более на 7 сут терапии коррелирует с высокой частотой развития оРТПХ (Choi S., 2008), а также других авторов, включивших рФНОР1 в состав панелей серологических маркеров оРТПХ (Berger M., 2013; Paczesny N., 2009; Levine J., 2012).

Полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение концентрации рФНОР1 более чем в 2 раза в плазме крови детей при отсутствии инфекционных осложнений указывает на развитие оРТПХ. Определение рФНОР1 можно предложить в качестве дополнительного метода диагностики оРТПХ в раннем периоде после терапии ТГСК. Доступность выполнения метода в стационаре позволяет рекомендовать его к применению в практической медицине.

*Область применения:* трансплантология, онкогематология.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Soluble receptor-1 of tumor necrosis factor in diagnostics of acute “graft-versus-host” disease in children after hematopoietic stem cell transplantation**

*T.M. Doroshenko, S.T. Akalovich, V.A. Bakerova, E.N. Avtonomova, T.V. Shman, Y.E. Mareyko, A.S. Nevmerzhitskaya, N.V. Minakovskaya, M.V. Belevtsev, O.V. Aleinikova, N.N. Voitenok*

It was found that the plasma level of sTNFR1 in patients with acute GVHD was 2 times higher in comparison with the level before conditioning ( $p = 0,0005$ ), while in patients without GVHD the level of sTNFR1 was not changed significantly. Determination of sTNFR1 can be used for clinical management of patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation to confirm the diagnosis of acute GVHD.

*Field of application:* transplantation, onco-hematology.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.155.392-036.12-085

**Стромально обусловленная лекарственная резистентность клеток хронического лимфоцитарного лейкоза при сочетанном действии ингибиторов различных защитных систем клетки**

*А.И. Свирновский, В.В. Пасюков, Н.А. Дрейчук, И.Б. Тарас, Н.А. Федуро, О.В. Сергиевич*

**Рубрика: 76.29.33**

**НИР:** «Разработать систему подавления молекулярных механизмов защиты клеток от индуцированного апоптоза для преодоления лекарственной нечувствительности клеток хронического лимфоцитарного лейкоза, взаимодействующих со стромой костного мозга».

**Сроки выполнения НИР:** 2011–2013 гг.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф. А.И. Свирновский.

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — оценить возможность модификации лекарственной резистентности клеток хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) в условиях их взаимодействия со стромальными клетками костного мозга в присутствии таких различных сочетаний ингибиторов защитных систем клетки, как ингибиторы белков множественной лекарственной резистентности, системы метаболизма глутатиона и репарации ДНК.

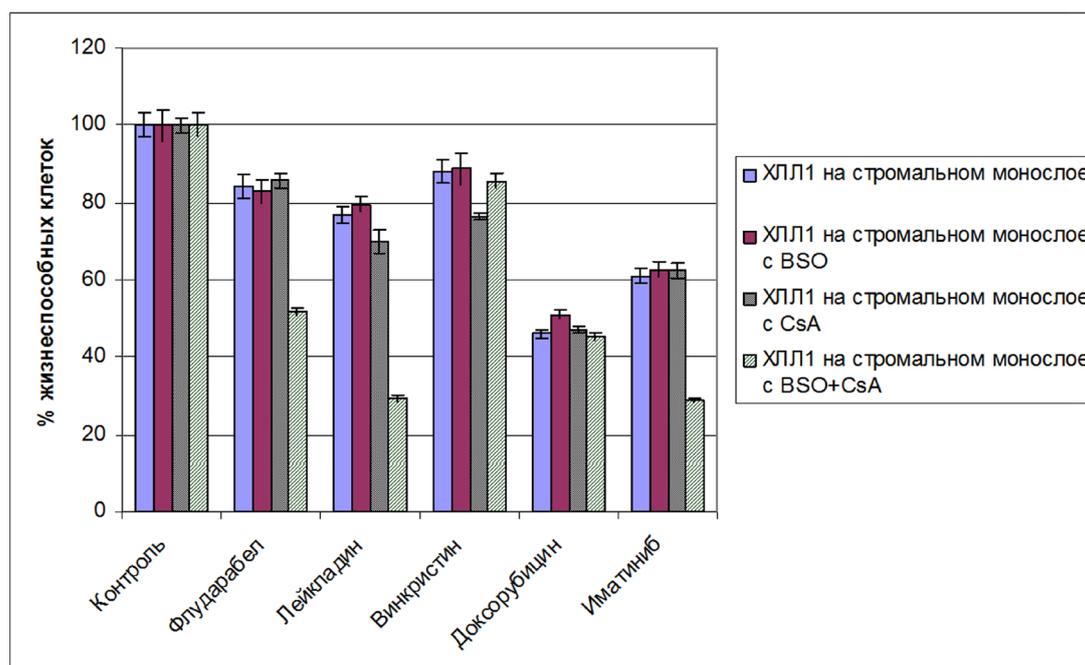
Известно, что контакт опухолевых клеток с клеточным стромальным микроокружением является одной из главных причин химиорезистентности опухолей. Считается, что при повреждении опухолевых клеток в них запускаются несколько репаративных систем, специфически восстанавливающих определенный тип повреждений. В частности, репарация нарушений ДНК,

повышенная активность детоксицирующих систем глутатиона и гиперэкспрессия белков множественной лекарственной устойчивости к формированию нечувствительности опухолевых клеток к терапевтическим воздействиям химической и физической природы.

Таким образом, новизна исследований заключается в использовании сочетания терапевтических воздействий в комплексе с ингибиторами различных защитных систем клетки, способных влиять как на внутриклеточные механизмы клеточной защиты, так и на их взаимодействие с микроокружением, т. е. на фундаментальные механизмы выживания клеток, с целью усиления ответа лейкозных клеток на лекарственные средства в зависимости от механизма их действия.

Ранее с использованием МТТ-теста и методов точной цитофлуориметрии нами было обнаружено незначительное усиление действия некоторых лекарственных средств (флударабел, лейкладин, иматиниб) на клетки пациентов при добавлении в среду культивирования ингибитора белков множественной лекарственной устойчивости — циклоспорина А (CsA), в то время как ингибитор системы метаболизма глутатиона — буптионин сульфоксимин (BSO) достоверно на изменение чувствительности не влиял. При действии сочетаний ингибиторов белков множественной лекарственной резистентности и системы метаболизма глутатиона наблюдается значительное усиление чувствительности клеток при ХЛЛ к большинству химиопрепаратов во всех проанализированных случаях. Пример такого влияния на лейкозные клетки конкретного пациента приведен на рис. 1.

Чувствительность к некоторым лекарственным средствам (флударабел, лейкладин, доксорубицин, иматиниб) усиливается более чем в два раза и зави-



**Рис. 1.** Изменения жизнеспособности клеток пациента с ХЛЛ под воздействием химиопрепаратов на стромальном монослое при добавлении сочетаний ингибиторов белков множественной лекарственной резистентности (CsA) и системы метаболизма глутатиона (BSO)

сит от индивидуальной чувствительности пациентов с ХЛЛ. Также показано, что эффект сочетания ингибиторов более выражен именно на стромальном монослое, так как повышает более низкую чувствительность клеток в присутствии стромы до уровня чувствительности при добавлении этого сочетания ингибиторов к клеткам в суспензии, что может прогнозировать эффективность совместного применения противолейкозных химиопрепаратов и комплекса ингибиторов белков множественной лекарственной резистентности и системы метаболизма глутати-

она в терапии.

Сочетание действия ингибитора белков множественной лекарственной резистентности и ингибиторов репарации ДНК (кофеина и NU 7026) также усиливало действие противоопухолевых лекарственных средств, в частности к винкристину, флу-дарабелу, иматинибу.

На рис. 2 приведен пример лекарственного ответа клеток конкретного пациента с ХЛЛ к действию ингибиторов, в т. ч. и их сочетаний.

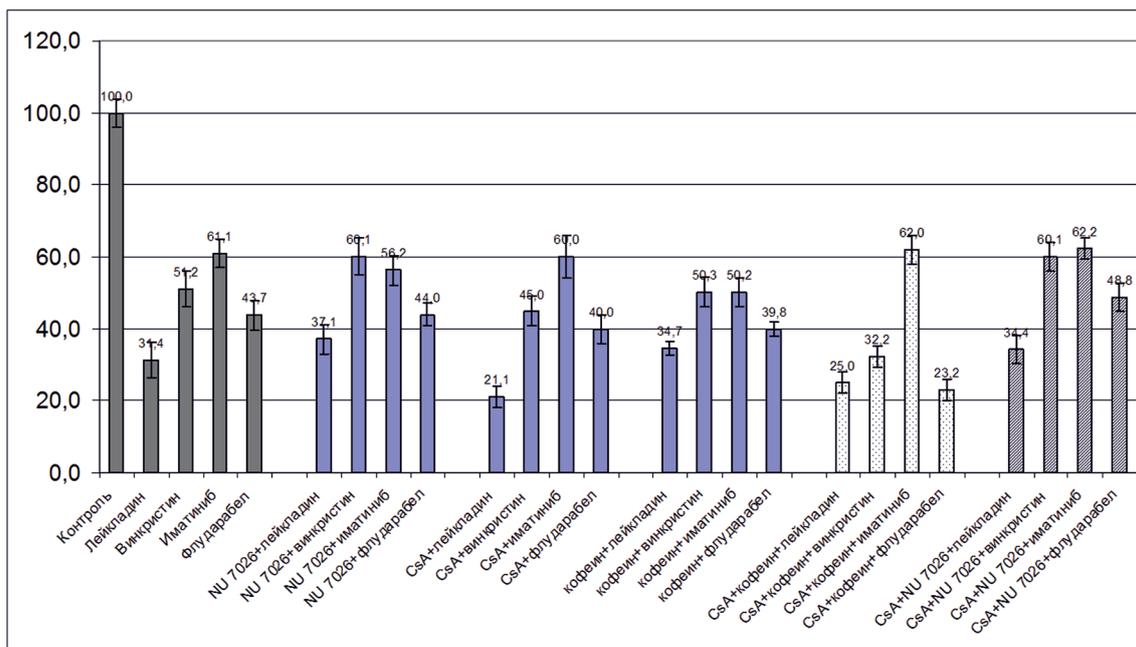


Рис. 2. Изменения жизнеспособности клеток пациента с ХЛЛ под воздействием химиопрепаратов на стромальном монослое при добавлении сочетаний ингибиторов белков множественной лекарственной резистентности (CsA) и репарации ДНК (кофеин, NU 7026)

Причем усиление действия было выражено более значительно именно в случае сочетания ингибиторов, нежели их влияния по отдельности. Показано, что максимальный ингибирующий эффект достигается в случае использования в сочетаниях с CsA именно кофеина, который сам по себе в предыдущих исследованиях достоверно усиливал действие ряда лекарственных средств в сравнении с NU 7026, в частности винкристина.

Таким образом, показан достоверный эффект сочетанного воздействия ингибиторов различных защитных систем клетки для усиления эффекта ряда цитостатических лекарственных средств по отношению к лейкозным клеткам при ХЛЛ. Кроме того, использование комплекса этих ингибиторов более эффективно, нежели по отдельности. Эффект сочетанного воздействия более выражен на стромальном монослое и зависит от индивидуальной чувствительности пациента.

Установленные факты свидетельствуют о целесообразности разработки системы максимального подавления резистентности лейкозных клеток к лекарственным средствам, применяемым при хроническом лимфоцитарном лейкозе, включающей в протоколы лечения сочетание противоопухолевых лекарственных средств и ингибиторов различных защитных систем клетки.

*Область применения:* онкогематология.

*Рекомендации по использованию:* использование полученных результатов в дальнейшем может быть связано с поиском новых путей преодоления лекарственной резистентности опухолевых клеток, а также с разработкой оптимальных схем терапии с учетом сочетанного действия лекарственных средств и ингибиторов различных защитных систем клетки.

*Предложение по сотрудничеству:* совместные исследования в области поиска способов преодоления множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток.

#### Drug resistance of chronic lymphocytic leukemia caused by stromal cells under the effect of inhibitors of cell protective mechanisms

A.I. Svirnovsky, V.V. Pasiukov, I.B. Taras, N.A. Dreichuk, N.A. Feduro, O.V. Sergievich

The main idea of the investigation is that antitumor drugs in combination with inhibitors of cell protective mechanisms are more effective than their separate action.

The most effective inhibitory combinations were:

1) cyclosporine A – inhibitor of multidrug resistant proteins and buthionine sulphoximine – inhibitor of glutathione metabolism systems;

2) cyclosporine A, caffeine and NU 7026 — inhibitors of DNA repair.

*Field of application:* oncohematology.

*Recommendations for use:* the results can be applied in the studies to verify the ways of overcoming of drug resistance in tumor cells and the development of clinical therapy protocols.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.15-018-091.818

### Спонтанный и лекарственно-индуцированный апоптоз гемопоэтических стволовых клеток

А.И. Свирновский, О.В. Алейникова, А.Л. Усс,  
Т.В. Шман, Н.В. Гончарова, В.В. Пасюков,  
Н.А. Федуро, О.В. Сергиевич, Е.В. Дзюба, И.Б. Тарас,  
А.В. Бакун, Н.А. Дрейчук

**Рубрика: 76.29.33**

*НИР:* «Разработать и внедрить метод подбора адекватной терапии рецидивов опухолевых заболеваний кроветворной ткани после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с целью повышения ее эффективности».

*Сроки выполнения НИР:* 2011–2015 гг.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф. А.И. Свирновский, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси О.В. Алейникова, д-р мед. наук, проф. А.Л. Усс.

*Организации-соисполнители:* ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», УЗ "9-я городская клиническая больница" г. Минска.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — с помощью разработанной ранее методики определения лекарственной чувствительности гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) сравнить индуцибельность апоптоза в ГСК *ex vivo* при использовании лекарственных средств, применяемых в терапии опухолевых заболеваний кроветворной ткани.

Сущность достижения заключается в обнаружении

лекарственной устойчивости или чувствительности к тем или иным лекарственным средствам (ЛС) избирательно ГСК в общей популяции мононуклеаров.

Новизна исследования состоит в обосновании возможности выбора лекарственного средства с минимальным токсическим действием на аутологичные или аллогенные ГСК при необходимости химиотерапии.

Применение в лечении опухолевых заболеваний кроветворной ткани и солидных опухолей химиотерапии, в т. ч. высокодозной, а также постоянно нарастающее использование трансплантации ГСК как аутологичных, так и аллогенных, справедливо привлекает внимание наряду с проблемой лекарственной резистентности злокачественных клеток и способах ее преодоления к определению лекарственной чувствительности ГСК и соответственно к сохранению их жизнеспособности. Если принимать во внимание выживаемость ГСК при контакте с лекарственными средствами *in vitro*, можно косвенно судить о потенциале поддержания кроветворения в условиях химиотерапии.

Из образцов донорского костного мозга или периферической крови, предназначенных для аллогенной трансплантации пациентам при лейкозах и других состояниях, а также образцов из аналогичных источников пациентов с множественной миеломой, которых готовили к аутологичной трансплантации, выделяли мононуклеарные клетки по стандартной методике. Клетки подвергали воздействию лекарственных средств в концентрации, близкой к терапевтической, в питательной среде в течение не менее 24 ч. После культивирования клетки отмывали от среды и оценивали на проточном цитофлуориметре содержание CD34+ клеток (с помощью моноклональных антител), а также апоптотических и мертвых CD34+ клеток (с помощью наборов FE или FITC AnnexinV Apoptosis Detection Kit. Клетки, связавшие Аннексин V (AnnV), но не связавшие 7-АминоАктиномицинД (7-AAD), рассматривали как клетки на ранних стадиях апоптоза, тогда как клетки AnnV+/7-AAD+ относили к мертвым клеткам. Наблюдали вариабельность чувствительности ГСК в образцах клеток к изученным лекарственным средствам (рис. 1, 2).

Из приведенных на рис. 1 данных следует, что ГСК при миеломной болезни оказались наиболее чувствительными к действию бортезомиба (BOR), который широко

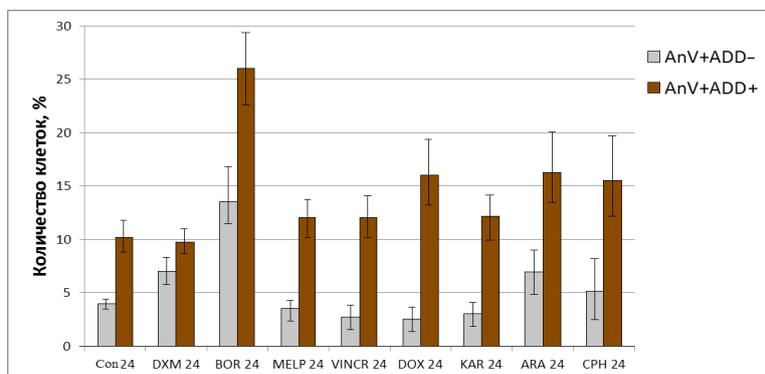


Рис. 1. Количество апоптотических (AnV+AAD-) и мертвых (AnV+AAD+) CD34+ клеток после 24-часового воздействия лекарственных средств

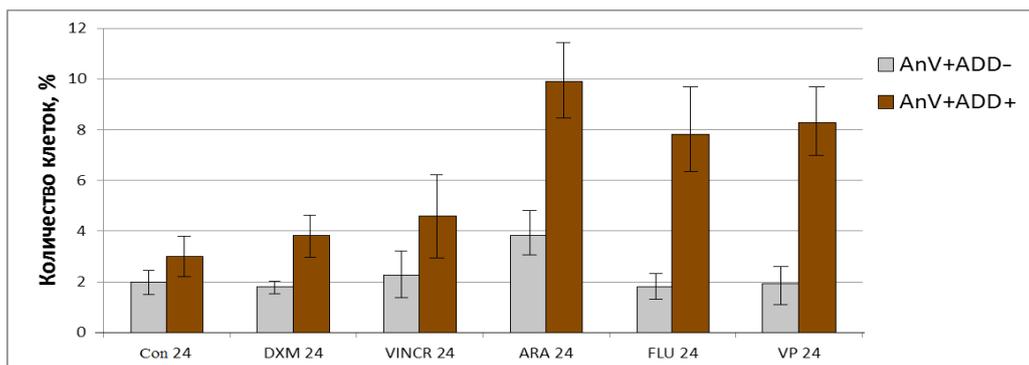


Рис. 2. Количество апоптотических (AnV+AAD-) и мертвых (AnV+AAD+) CD34<sup>+</sup> клеток после 24-часового воздействия лекарственных средств

применяется в терапии множественной миеломы и рецидивирующих и резистентных форм некоторых лимфом. В меньшей степени токсическое действие на ГСК проявляется при культивировании клеток с доxorубицином (DOX) и арабинозидом (ARA). Дексаметазон (DXM) мало влияет на апоптотические процессы в ГСК, тогда как остальные изученные лекарственные средства: мелфалан (MELP), винкристин (VINCER), кармустин (KAR) и циклофосфамид (CPN) обладают способностью заметно индуцировать гибель CD34<sup>+</sup> клеток.

При культивировании клеток донорского происхождения в течение 24 ч совместно с лекарственными средствами (рис. 2) отмечено, как и в предыдущей серии экспериментов, отсутствие токсического эффекта DXM на CD34<sup>+</sup> клетки. Чувствительность ГСК к индуцированной гибели обнаружена при действии ARA, везпезида (VP) и флударабела (FLU) и в меньшей степени — в присутствии VNCER. Следует указать на нарастание цитотоксического влияния лекарственных средств на ГСК при увеличении длительности этого воздействия.

Прогнозирование ответа ГСК на лекарственные средства в сочетании с учетом лекарственной чувствительности лейкозных клеток может способствовать более обоснованному применению терапии.

*Область применения:* онкогематология, трансплантология, фармакология.

*Рекомендации по использованию:* в фундаментальных исследованиях по лекарственной чувствительности ГСК, в прикладных исследованиях при сопоставлении лекарственной чувствительности ГСК и лейкозных клеток.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные экспериментальные и клинические исследования по оценке ответа стволовых клеток на лекарственные средства, консультативная помощь при внедрении.

#### Spontaneous and drug-induced apoptosis of hematopoietic stem cells

A.I. Svirnovsky, O.V. Aleinikova, A.L. Uss, T.V. Shman, N.V. Goncharova, V.V. Pasiukov, N.A. Feduro, O.V. Sergievich, E.V. Dzuba, I.B. Taras, A.V. Bakun, N.A. Dreichuk

The amount of apoptotic and dead hematopoietic stem cells (HSC) was measured with the help of flow cytometry as CD34<sup>+</sup> AnnV+/7-AAD<sup>-</sup> and CD34<sup>+</sup> AnnV+/7-AAD<sup>+</sup>

cells respectively in the samples of mononuclear cells isolated from peripheral blood or bone marrow and treated with antileukemic drugs not less than 24 hours. HSC of myeloma patients were induced to death with bortezomib compared to doxorubicin, cytarabine, cyclophosphamid, carmustine, melphalan, vincristine. CD34<sup>+</sup> cells from healthy donors were sensitive to arabinosid, vepesid, fludarabell. Dexametasone did not induce apoptosis and cell death in both cases. However, a longer period of incubation resulted in further HSC damage.

*Field of application:* onco-hematology, transplantology, pharmacology.

*Recommendations for use:* in fundamental investigations on drug sensitivity of hematopoietic stem cells.

*Offers for cooperation:* advisory assistance in introduction of the new technology.

УДК 616.832-018:616-018.82

#### Экспрессия маркеров нервных клеток в мезенхимальных стволовых клетках костного мозга человека после нейрогенной индукции *in vitro*

I.N. Severin, S.I. Ignatenko, N.V. Goncharova, S.M. Kosmacheva, Yu.N. Ruzhkevich, G.V. Zabrudec, S.A. Likhachev, M.P. Potapnev

**Рубрики: 76.29.46; 76.29.51**

*НИИР:* «Наращивание трансплантатов аутологичных мезенхимальных стволовых клеток для клеточной терапии БАС».

*Сроки выполнения НИИР:* апрель 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. М.П. Потапнев.

*Источник финансирования:* бюджет Беларуси и РФ.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) — прогрессирующее нейродегенеративное заболевание. Эффективного средства излечения БАС не существует. Единственное коммерческое средство — рилутек — способно отложить смертельный исход на несколько месяцев. Перспективным подходом к лечению данного заболевания представляется применение клеточной терапии с использованием различных типов клеток. Одним из вариантов называются аутологичные мезен-

химальные стволовые клетки (МСК) костного мозга (КМ), экспансированные и индуцированные в нейральном направлении *in vitro*. Способность некоторых типов стволовых клеток дифференцироваться в клетки нервной ткани была подтверждена экспериментально.

**Цель** — изучить характер экспрессии маркеров клеток нервной ткани при нейроиндукции МСК КМ пациентов с диагнозом БАС.

Показано изменение экспрессии двух нейрогенных маркеров в МСК КМ при БАС после нейрогенной индукции *in vitro*.

МСК костного мозга пациентов с диагнозом БАС получали по стандартной методике и поддерживали в культуре в среде  $\alpha$ MEM с добавлением 5% сыворотки крови человека группы АВ (IV). При достижении культурой клеточности, достаточной для инфузии (0,5–1 млн клеток на 1 кг массы пациента), клетки переводили на нейроиндукционную среду (NeuroCult с добавлением EGF и FGF-2) на период в 7 сут. Часть

контрольных и нейроиндуцированных МСК отбирали для выделения РНК. РНК подвергали обратной транскрипции и количественной ПЦР. Результаты анализировали с использованием парного теста Уилкоксона в программном обеспечении Graphpad Prism 5.03.

Интактные и нейроиндуцированные МСК костного мозга пациентов с БАС анализировали на предмет экспрессии нейрон-специфической енолазы (nse,  $\gamma$ -енолаза), нестина, и гена белка, ассоциированного с микротрубочками (map2). Шестнадцать образцов нейрогенной индукции были проанализированы на изменение экспрессии nse и нестина, 15 образцов — на изменение экспрессии map2. Было обнаружено, что все образцы МСК экспрессировали данные маркеры перед нейроиндукцией.

Уровень экспрессии нейрон-специфической енолазы достоверно ( $p=0,0077$ ,  $n=16$ ) увеличился после 7 сут нейроиндукции в описанных условиях (рис. А).

Наличие экспрессии  $\gamma$ -енолазы в неиндуцированных

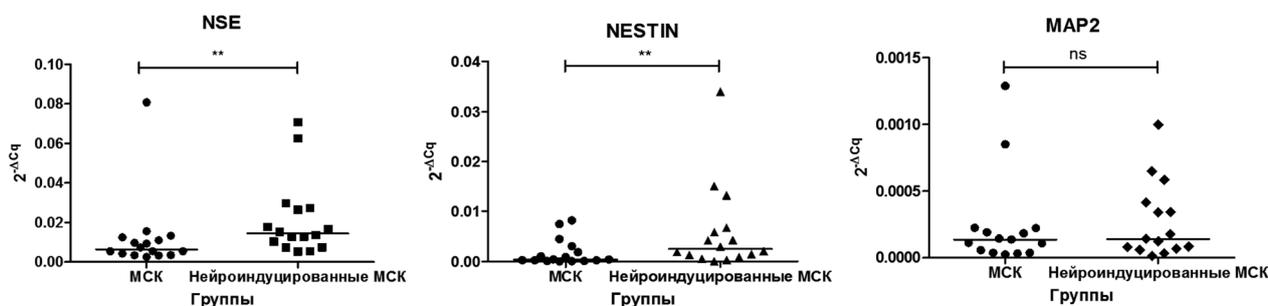


Рис. Экспрессия (А)  $\gamma$ -енолазы, (Б) нестина, и (В) гена ассоциированного с микротрубочками белка 2 в нейроиндуцированных мезенхимальных стволовых клетках костного мозга пациентов с боковым амиотрофическим склерозом: \*\* —  $p < 0,01$ ; ns —  $p > 0,05$

МСК говорит о сравнительной зрелости данного типа клеток на фоне эмбриональных СК (переключение экспрессии с  $\alpha$ -енолазы на  $\gamma$ -енолазу у человека происходит в течение пренатального периода индивидуального развития). Увеличение экспрессии  $\gamma$ -енолазы в ходе нейроиндукции указывает на эффективность протокола индукции экспрессии данного маркера, характерного для клеток нервной системы взрослого организма.

По истечении срока нейроиндукции уровень экспрессии нестина достоверно увеличился ( $p=0,0012$ ,  $n=16$ ) (рис. Б). Нестин представляет собой белок промежуточных филаментов типа VI, характерный главным образом для клеток-предшественников субвентрикулярной зоны. Нестин экспрессируется в незрелых делящихся клетках нервной ткани, увеличение экспрессии данного маркера свидетельствует о достаточной степени незавершенности процесса нейрогенной индукции. Продукт гена map2 участвует в стабилизации микротрубочек во время нейрогенеза, а также в контроле за формой аксонов развивающихся нейронов. В ходе нейрогенной индукции по описанному протоколу экспрессия map2 остается неизменной ( $p=0,3591$ ,  $n=15$ ) (рис. В).

Таким образом, экспрессия нейрон-специфических маркеров ( $\gamma$ -енолазы, нестин, ген ассоциированного с микротрубочками белка 2) указывает на частичную нейроиндукцию МСК КМ пациентов. При этом характер изменения их экспрессии свидетельствует о незавершенности данного процесса.

**Область применения:** клеточная биология, трансплантология, регенеративная медицина.

**Рекомендации по использованию:** полученные результаты могут быть использованы в практике научных исследований и в научно-методической деятельности.

**Предложения по сотрудничеству:** совместные исследования в области регенеративной медицины.

#### Expression of markers of nerve cells in mesenchymal stem cells of bone marrow in patients with amyotrophic lateral sclerosis after neuroinduction *in vitro*

I.M. Severin, S.I. Ignatenko, N.V. Goncharova,  
S.M. Kosmachova, Y.N. Rushkevich, S.A. Likhachev,  
G.V. Zabrodets, M.P. Potapnev

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease. There is no effective cure to

ALS, Rilutek is the only remedy to prolong patients' survival up to several months. Regenerative therapy with modalities of different cellular origin is a promising approach to the treatment of disease. There were conducted several clinical trials using cells of different origin as a possible cure to ALS.

The purpose of our study was to investigate the expression of markers of nerve cells in mesenchymal stem cells of bone marrow in patients with amyotrophic lateral sclerosis after neuroinduction.

We demonstrated the significant upregulation of neuron-specific enolase and nestin genes expression in bone marrow MSCs after the period of neural induction. The expression of map2 (microtubule-associated protein 2) gene did not change. The expression pattern of those genes supports the hypothesis of the imperfect and/or unfinished process of neural induction in MSCs of ALS patients.

*Field of application:* cell biology, transplantology, regenerative medicine.

*Offers for cooperation:* joint research in the field of regenerative medicine.

УДК 616.832-018:57.086

### Модулирование фибриновым гелем экспрессии хондрогенных маркеров мезенхимными стромальными клетками костного мозга

*В.С. Костюнина, Н.В. Петевка*

**Рубрика: 62.33.31**

*НИИР:* «Изучение потенциала хондрогенной дифференцировки мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга человека в условиях трехмерного микроокружения фибринового геля».

*Сроки выполнения НИИР:* апрель 2011 г. — март 2013 г.

*Научный руководитель:* В.С. Костюнина.

*Источник финансирования:* Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований.

Новой перспективной стратегией в репарации поврежденных органов и тканей является тканевая инженерия. В данной стратегии трансплантат представляет собой ткань, созданную *ex vivo*, и состоящую из клеток на биосовместимом или биodeградируемом носителе, которая приживается и поддерживается в организме реципиента. В настоящее время ведется активный поиск биосовместимых материалов, которые соответствовали бы механическим параметрам органа на этапе заживления, а на более поздних этапах не препятствовали бы образованию полноценной здоровой ткани. Фибриновый гель – один из природных биоматериалов, успешно используемый при создании имплантата сосудов, также обсуждается многими исследователями как потенциальный материал для восстановления хрящевой ткани суставов.

*Цель* — изучить *in vitro* эффективность хондрогенной дифференцировки мезенхимных стромальных клеток костного мозга (МСК КМ), заключенных в трехмерную конструкцию из фибринового геля.

Ранее нами была получена трехмерная конструкция из МСК КМ, заключенных в фибриновый гель, пока-

зана жизнеспособность клеток в данной конструкции. Известно, что выпускаемый различными производителями из плазмы крови коммерческий тромбин и фибриноген содержат примеси фибронектина, трансформирующего фактора роста  $\beta_3$ , основного фактора роста фибробластов, эпидермального фактора роста и других активных биомолекул. Основные компоненты препарата, а также их примеси могут модулировать дифференцировку стволовых клеток в пределах их дифферона. Для выявления влияния фибриновой матрицы на профиль экспрессии маркерных генов хондрогенной дифференцировки изучали уровень экспрессии генов агрекана (acan), коллагена I, II, IX (col1, col2, colIXa1), олигомерного матриксного протеина (comp) и декорина (dcn) в МСК КМ методом полимеразной цепной реакции (ПЦВ) в реальном времени. Коллаген II типа, агрекан и коллаген IXa1 являются характерными маркерами хондрогенеза, в то время как коллаген I типа – специфическим белком для таких тканей, как связки, рубцовая и костная ткань. Декорин и олигомерный матриксный протеин (ОМП) связывают гликозаминогликаны внеклеточного матрикса гиалинового хряща; кроме того, декорин может продуцироваться эндотелиальными клетками при индуцированном воспалении ангиогенезе, а ОМП синтезироваться гладкомышечными клетками сосудов. В качестве контрольного (нормирующего) гена использовали  $\beta_2$  микроглобулин. Экспрессию генов изучали как в исходных МСК КМ, так и в клетках, подвергавшихся в составе трехмерной конструкции в течение 2-х недель воздействию следующими дифференцировочными факторами: костным морфогенетическим белком-2 (КМБ-2) и трансформирующим фактором роста  $\beta_1$  (ТФР- $\beta_1$ ). Чтобы выявить влияние фибринового матрикса на экспрессию хондрогенных маркеров, параллельно культивировали клетки в составе конструкции без добавления регуляторных молекул. Также отдельно изучали влияние компонентов фибринового геля, добавленных в культуральную среду, на экспрессию вышеуказанных генов адгезированными к пластику МСК КМ в двумерной культуре. В таблице представлен уровень экспрессии генов клетками гиалинового хряща человека и МСК КМ после экспериментов относительно уровня экспрессии данных генов исходными МСК КМ.

Проведенный анализ показал, что в дифференцированных клетках хрящевой ткани уровень экспрессии основных маркеров хондрогенеза выше на 2 порядка по агрекану и на 4 порядка по коллагену II типа по сравнению с исследуемыми исходными МСК КМ до начала экспериментов. При этом экспрессия коллагена I типа на 3 порядка ниже. При добавлении компонентов фибринового геля – тромбина и фибриногена в среду культивирования МСК КМ экспрессия генов acan и col2 уменьшалась в 3-7 раз, в то время как достоверного изменения по экспрессии col1 обнаружено не было. Нами, и другими авторами ранее была показана индукция экспрессии col1 в стромальных клетках различного происхождения при двумерном адгезивном культивировании на пластике. Помещение клеток в трехмерное

окружение фибринового геля привело к почти пятикратному достоверному падению экспрессии *col1* и подтвердило отрицательное влияние фибринового геля на экспрессию основных генов хондрогенеза – *acan* и *col2*, уровень которой уменьшился до 3-4% от исходного (табл.).

В то же время для других генов, вовлеченных как в хондро-, так и ангиогенез, значительного уменьшения

уровня экспрессии мРНК не обнаружено. Более того, наблюдалось увеличение экспрессии генов *comp* и *dcn* в присутствии компонентов геля.

Под действием регуляторных молекул экспрессия гена *col2* увеличилась в 31 раз по сравнению с уровнем на момент начала дифференцировки и на 4 порядка по сравнению с экспрессией клетками, культивируемыми в фибриновом геле без добавления факторов. В свою

Таблица

Экспрессия маркеров хондрогенеза клетками гиалинового хряща, и культивированными в различных условиях МСК КМ относительно уровня экспрессии исходными МСК КМ

Ген	Клетки гиалинового хряща	Адгезированная культура МСК КМ в присутствии компонентов фибринового геля	МСК КМ в трехмерном окружении фибринового геля	МСК КМ после хондродифференцировки в трехмерном окружении фибринового геля
<i>acan</i>	138*	0,15*	0,04*	1,4
<i>col1</i>	0,001	1,1	0,22*	0,5*
<i>col2</i>	10 740*	0,3*	0,03*	31*
<i>col9a1</i>	н/и	1,5*	2,2*	2,5*
<i>comp</i>	н/и	13*	0,6*	1270
<i>dcn</i>	н/и	1,5	6	16*

Примечание:  $p < 0,05$ , н/и — не исследовалось.

очередь, экспрессия гена *colIXa1*, который также является специфическим белком гиалинового хряща, практически не изменилась по сравнению с контрольными МСК, заключенными в фибриновую матрицу без добавления факторов роста. Одновременно с ростом экспрессии специфических коллагенов происходит некоторое уменьшение уровня экспрессии гена *col1* — в 1,9 раза по отношению к МСК КМ, не подвергавшимся дифференцировке.

Таким образом, показано, что регуляторные факторы КМБ-2 и ТФР- $\beta_1$  индуцируют *in vitro* экспрессию присущего хрящу коллагена II типа, ОМП и декорина (от 15 до более чем 1260 раз по отношению к исходной экспрессии МСК КМ), однако слабо подавляют экспрессию коллагена I типа, индуцированного предварительным двумерным культивированием клеток. Установлено, что в отсутствие индукции хондрогенной дифференцировки внешними факторами фибриновый гель и его компоненты подавляют экспрессию коллагена II типа и агрекана — двух наиболее характерных маркеров хрящевой ткани и повышают экспрессию других маркеров, вовлеченных как в хондро-, так и в ангиогенез, — декорина и ОМП, что делает данную матрицу более пригодной для эндотелиальной, нежели хондрогенной дифференцировки.

**Область применения:** клеточная биология, трансплантология, регенеративная медицина.

**Рекомендации по использованию:** внедрение методологии в фундаментальные и прикладные исследования по получению тканевых трансплантатов.

**Предложения по сотрудничеству:** совместные экспериментальные и клинические исследования по оценке эффективности протоколов культивирования и дифференцировки стволовых стромальных клеток при разработке тканевых трансплантатов.

### Fibrin gel modulates the expression of chondrogenic markers in bone marrow-derived mesenchymal stromal cells

V.S. Kostyunina, N.V. Petyovka

Fibrin gel is one of the natural biomaterials, which is used successfully for creation of implant vessels. It is discussed as a potential material for the recovery of joint cartilage. The aim of our work was to study chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells (BM-MSC), enclosed in a three-dimensional (3D) fibrin gel construction *in vitro*.

Gene expression of aggrecan (*acan*), collagen type I (*col I*), collagen type II (*col II*), collagen type IXa1 (*col IXa1*), decorin (*dcn*), cartilage oligomeric matrix protein (*comp*) was studied in the BM-MSC in 3D construction with/without external bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1). The effect of fibrin gel components on the gene expression in monolayer BM-MSCs was studied. Treatment with BMP-2 and TGF-beta1 induced *in vitro* expression of *col II*, *dcn* and *comp* (from 15 to more than 1260 times), but weakly inhibited the expression of *col I* in cells in 3D constructions. Fibrin gel components inhibited the expression of *col II* and *acan* — the two most typical markers of cartilage, and increased the expression of other markers involved in chondrogenesis and angiogenesis (*dcn* and *comp*).

**Field of application:** cell biology, transplantology, regenerative medicine.

**Recommendations for use:** introduction of the method in basic and applied research for creation of tissue grafts.

**Offers for cooperation:** joint research.

УДК 616.155.392-07: [542.952:547.262

**Роль Alu-повторов промоторной области гена множественной лекарственной устойчивости.**

**Биоинформационный анализ**

*Д.В. Маринич, Н.В. Гончарова, Я.И. Бурьянов,  
Т.В. Шевчук, О.В. Дьяченко*

**Рубрики: 76.29.33; 76.29.49**

*НИР:* «Изучение влияния 5-азацитидина на патологическую картину метилирования гена Y-бокс-связывающего белка (YB-1) и гена кальцитонина при лейкозах».

*Сроки выполнения НИР:* апрель 2011 г. — март 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук Д.В. Маринич.

*Источник финансирования:* Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований.

Разработка зондов ДНК-метилирования в качестве молекулярных маркеров для прогнозирования статуса лейкомиического процесса в настоящее время является актуальной проблемой клинической гематологии. Alu-повторы – семейство высокоповторяющихся последовательностей ДНК длиной около 300 н.п. в геноме человека. Обладая собственной промоторной или энхансерной активностью, Alu-повторы могут усиливать транскрипцию близлежащих локусов. Проведен биоинформационный анализ Alu-повторов в 5'-области гена множественной лекарственной устойчивости и сопоставлен характер Alu-элементов с «пейзажем» метилирования ДНК изучаемой области гена MDR1. В качестве исходного материала для выделения ДНК были использованы лейкоциты периферической крови и ядросодержащие клетки костного мозга пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ), острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ).

Геномную ДНК выделяли методом фенол-хлороформенной экстракции, проводили амплификацию полимеразных цепей- с праймерами, фланкирующими сайты узнавания используемых ферментов. Характер метилирования остатков цитозина определялся по присутствию или отсутствию продуктов амплификации. Кроме того, образцы ДНК подвергались исследованию методом бисульфитного секвенирования.

Проведенный биоинформационный анализ на основе данных бисульфитного секвенирования промоторной области 5'-области гена множественной лекарственной устойчивости выявил наличие Alu-повторов. Исследованный фрагмент содержал один из подтипов Alu-повторов, но в отличие от типичных, «канонических» Alu-повторов, в нем присутствовало также много CCWGG-сайтов потенциального метилирования. Изученный фрагмент был обеднен CCGG-сайтами. Методом бисульфитного сиквенса обнаружено несимметричное метилирование 5'-области гена множественной лекарственной устойчивости. Сравнительный анализ промоторной области с использованием метилчувствительной ПЦР также выявил существенное разли-

чие между «пейзажем» метилирования при лимфоидных и миелоидных опухолях. Эти различия носили реципрокный характер: гиперметилирование по CCWGG-сайтам и деметилирование по CCGG-сайтам при миелоидных лейкозах (ОМЛ и ХМЛ) и деметилирование по CCWGG-сайтам с гиперметилированием по CCGG-сайтам при ОЛЛ. Таким образом, «пейзаж» метилирования промоторной 5'-области MDR-1 гена зависит не только от воздействия цитостатической терапии, но и от природы опухолей.

В норме CCGG-сайты 5'-области гена MDR1 не метилированы, на это указывает отсутствие продуктов амплификации. При анализе CpG-метилирования ДНК пациентов с острым миелоидным лейкозом нами обнаружено гиперметилирование всех исследуемых сайтов только в случае с одним образцом; об этом свидетельствует амплификация фрагментов с обеих пар праймеров. В то же время ПЦР-анализ других образцов ДНК пациентов с ОМЛ не выявил такого тотального метилирования этих сайтов. Продемонстрировано наличие CCWGG-метилирования в образцах ДНК, выделенной из ядросодержащих клеток периферической крови. Таким образом, получены новые приоритетные данные об особенностях метилирования промоторов генов кальцитонина, p21 и MDR-1 со специфичностью CCGG и CCWGG. Сконструированы праймеры для геномного секвенирования фрагмента промотора гена MDR-1 и оптимизирован метод бисульфитного сиквенса. Проведено геномное секвенирование специфического фрагмента промотора гена MDR-1. На исследованном фрагменте промотора MDR-1, характеризующемся наличием CNG- метилирования, впервые было показано несимметричное CN-метилирование.

Впервые предлагается использовать деметилирование специфических последовательностей в качестве молекулярного маркера. Предложен возможный молекулярный механизм, лежащий в основе функциональных связей патологического изменения метилирования промотора гена MDR1 с развитием множественной лекарственной устойчивости. Деметилирование 5'-промоторной области гена MDR-1 часто коррелирует с экспрессией самого гена, что, вероятно, связано с селекцией резистентного клона лейкозных клеток с фенотипом множественной лекарственной устойчивости в процессе лечения лейкемии.

Также обращает на себя внимание большее снижение уровня метилирования 5'-области MDR1-гена (и соответственно повышение транскрипционной активности MDR1 – мРНК) при лейкозах миелоидного ряда по сравнению с образцами ДНК/РНК пациентов с ОЛЛ. Особенно характерно деметилирование и нарастание экспрессии мРНК по мере прогрессии ХМЛ. Аналогичная корреляция наблюдается и у пациентов с острыми лейкозами (особенно при ОМЛ). Она не столь выражена, хотя тенденция остается прежней. Полученные данные свидетельствуют, что приобретение фенотипа множественной лекарственной устойчивости характерно для пациентов с лейкемиями и более для ХМЛ и лейкозов миелоидного ряда, нежели для ОЛЛ. Этот

процесс напрямую связан с эпигенетической модификацией (метилированием) ДНК.

Установлено, что в промоторной зоне 5'-области гена множественной лекарственной устойчивости имеется наличие Alu-повторов. «Пейзаж» метилирования промоторной 5'-области **MDR-1 гена** зависит не только от воздействия цитостатической терапии, но и от природы опухоли. «Пейзаж» метилирования регуляторно-промоторной области гена множественной лекарственной устойчивости, коррелирующий с экспрессией гена и может служить ранним маркером селекции опухолевого клона, резистентности к терапии и опухолевой прогрессии.

Патентная защита: подготовлена заявка на патент.

*Область применения:* гематология, онкология.

*Рекомендации по использованию:* применение такого маркера, как **Alu-повторы в сочетании с «пейзажем» метилирования ДНК**, позволит с использованием специфической панели метилирования повысить точность прогноза и рациональной модификации терапии опухолевых заболеваний системы кроветворения. Перспективно также использование данного метода в оценке контаминации трансплантата при пересадке гемопозитических стволовых кроветворных клеток.

*Предложения по сотрудничеству:* проведение совместных научных исследований с целью изучения других генов-маркеров метилирования и создания диагностических систем для практического применения.

В соответствии с планом проекта часть экспериментального этапа данной работы выполнена в лаборатории генной инженерии Филиала института биоорганической химии Российской академии наук (г. Пушкино, РФ).

#### **Bioinformatic analysis of alu-repeat in 5'-area of mdr1 gene promoter region**

*D.V. Marinich, N.V. Goncharova, Y.I. Buryanov, T.V. Shevchuk, O.V. Dyachenko*

Alu repeats got their name from the fact that most of them contain nucleotide AGCT, a cleavage site for the Alu I restriction endonuclease. High concentration of Alu elements in the chromosome regions that contain a lot of genes allows duplication or elimination of genome fragments located between two Alu copies, as well as chromosome rearrangements. Alu repeats can affect composition, organization and expression of the genome. Alu repeats may enhance the transcription of the adjacent locus. Transcriptional suppression is also possible. In addition, Alu repeats seem to speed up the methylation of neighboring loci, contributing to regulation of gene expression. While methylation commonly suppresses transcription, there are cases when methylation of Alu repeats increases the transcriptional activity of the neighboring locus. Our aim was to study the interrupted ALU-repeat in 5'-area of multidrug-resistance gene (MDR1) promoter region. The study was performed on the DNA of lymphocyte cultures of healthy volunteers and on the DNA of leukemic cells of patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL)

and acute myeloid leukemia (AML). 34 DNA samples (14 ALL, 10 AML and 10 of normal blood donors) obtained from mononuclear cells of peripheral blood or bone marrow were involved in the study. Both peripheral blood and bone marrow samples were studied. The methyl-sensitive (HpaII) and methyl-insensitive (MspI) restriction endonucleases were used for the digestion of the DNA-samples. The bisulfite sequencing method was applied in the study. The bioinformatic analysis revealed the presence of interrupted ALU-repeat in 5'-area of MDR1 gene promoter region. This particular fragment represents one of the numerous subtypes of ALU-repeats and it is enriched with CCWGG sites and depleted with CCGG sites in comparison with "canonical" ALU sequence. Using bisulfite sequencing we revealed non-symmetrical cytosine methylation in the MDR1 gene promoter region. The comparative analysis of MDR1 promoter methylation using methylation-sensitive PCR showed the distinctive differences of methylation pattern between myeloid and lymphoid kinds of acute leukemia with persistent reciprocal relations. We observed demethylation of CG's and hypermethylation of CNG's for acute myeloid leukemia and the opposite relations for acute lymphoid leukemia. Overexpression of the MDR1 gene is a well-known marker of poor prognosis. But the genetic and epigenetic base of MDR1 "behavior" in various hematological malignancies still remains unknown. Our preliminary results suggest that epigenetic changes and functional activity of the MDR1 gene are not even in various hematological malignancies and depend not only on cytotoxic influence, but also on malignancy origin.

*Field of application:* hematology, oncology.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.15-018+618.36/38-018

#### **Получение, экспансия и дифференцировка гемопозитических и стромальных стволовых клеток пуповинно-плацентарного комплекса**

*Н.В. Петевка, В.С. Костюнина, Е.В. Васина, О.Г. Фурман, Г.Я. Хулуп, М.П. Потапнев*

**Рубрика: 62.33.31**

*НИИ:* «Разработать технологию получения гемопозитических стволовых клеток плаценты человека для увеличения клеточности трансплантата пуповинной крови. Изучить возможности направленной дифференцировки и экспансии *ex vivo* стволовых клеток плацентарного происхождения».

*Сроки выполнения НИИ:* апрель 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф. М.П. Потапнев, д-р мед. наук, проф. Г.Я. Хулуп.

*Источник финансирования:* бюджет Союзного государства.

Успешное приживление гемопозитического трансплантата зависит от количества клеток-предшественниц миелоидного ряда, ответственных за быстрое восстановление уровня нейтрофилов и тром-

боцитов в раннем периоде восстановления кроветворения. Одним из эффективных решений проблемы клеточной недостаточности трансплантата пуповинной крови служит увеличение количества CD34<sup>+</sup> клеток путем наращивания (экспансии) *ex vivo*. Другим решением является дополнительное их выделение из плаценты после забора основного объема пуповинной крови.

*Цель* — разработать и оптимизировать методы выделения и экспансии гемопоэтических стволовых клеток из плаценты и пуповинной крови, изучить эффективность экспансии CD34-положительной популяции клеток и исследовать закономерности ее пролиферации и дифференцировки в миелоидном направлении.

Культирование гемопоэтических стволовых клеток на подложке мезенхимных стромальных клеток костного мозга (МСК КМ) человека приводит к эффективной экспансии кроветворных предшественников *in vitro*. Наряду с КМ можно использовать альтернативные источники МСК – ткани плаценты и пуповины. В результате исследований проведен подбор условий получения и культивирования *in vitro* МСК пуповинной крови, пуповины и плаценты человека, охарактеризован их фенотип, изучен пролиферативный потенциал. Оптимизированы методы забора, выделения и культивирования МСК. Определен протокол выделения гемопоэтических CD34-положительных клеток пуповинной крови для последующей экспансии *ex vivo* предшественников миелоидного ряда. Разработана методология экспансии кроветворных предшественников пуповинной крови, в т. ч. с использованием МСК плацентарного происхождения. Подготовлен лабораторный регламент получения CD34-положительных клеток из плаценты человека после забора основного объема пуповинной крови. Показана возможность увеличения количества CD34-положительных клеток пуповинно-плацентарного происхождения в культуре в среднем более чем в 25 раз за период до одной недели. Разра-

ботан лабораторный регламент экспансии гемопоэтических предшественников пуповинно-плацентарного происхождения.

*Область применения:* клеточная биология, трансплантология, регенеративная медицина.

*Рекомендации по использованию:* в учреждениях онкологического и гематологического профиля при недостаточной клеточности исходного трансплантата.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные клинические испытания разработанных технологий в трансплантологии.

#### **Receiving, expansion and differentiation of hematopoietic and stromal stem cells from umbilical-placental complex.**

*N.V. Petyovka, V.S. Kostyunina, E.V. Vasina, O.G. Furman, G.Y. Khulup, M.P. Potapnev*

Insufficient number of hematopoietic stem cells (HSCs) and hematopoietic progenitor cells (HPCs) is an essential factor that limits transplantation of cord blood stem cells. *In vitro* expansion of HSCs, HPCs and mesenchymal stromal cells (MSC) may help to overcome this limitation. The purpose of our work was to develop the protocols and methods of expansion of cord blood/placenta MSC and HPCs.

There were developed the regulations of receiving and expansion of hematopoietic and stromal stem cells from umbilical-placental complex. During the period in culture *in vitro* (5-6 days), the CD34<sup>+</sup> cells increased more than by 25 times. These results demonstrated that *ex vivo* expansion of cord blood HSCs in co-culture with MSCs can provide substantial increase in the number of cells for transplantation.

*Field of application:* cell biology, transplantology, regenerative medicine, oncohematology.

*Offers for cooperation:* joint research, clinical trials.

## РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

УДК 617.57/.58:57.018.42+616.728.3-007.24]-089.23-053.2

### Динамическая пластина для временного блокирования зон роста у детей при коррекции разницы в длине ног и угловых деформаций коленного сустава

О.А. Соколовский, С.Н. Сердюченко, Л.А. Пашкевич,  
А.Б. Деменцов, М.Т. Мохаммади

**Рубрика: 76.29.41**

**НИР:** «Разработать и внедрить технологию временного блокирования зон роста длинных трубчатых костей у детей младшего возраста».

**Сроки выполнения НИР:** I кв. 2010 г. — IV кв. 2012 г.

**Научный руководитель:** О.А. Соколовский.

**Организации-соисполнители:** НП ООО «Медбио-тех», УО «Белорусский государственный медицинский университет».

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — обосновать применение временного блокирования зон роста длинных трубчатых костей нижней конечности у детей младшего возраста при лечении разницы в длине нижних конечностей и угловых деформациях коленного сустава, разработать и внедрить динамический фиксатор для временного блокирования зон. В эксперименте определить влияние временного блокирования зоны роста дистального отдела бедренной кости у незрелых кроликов на пролиферативную функцию физиса во время блокирования и после удаления фиксатора.

Временное блокирование зон роста — это низко-травматичный и малоинвазивный метод лечения разницы в длине нижних конечностей и осевых деформаций коленного сустава. Для этих целей с успехом применяется у детей старшего возраста (10–14 лет). Поскольку сохраняется целостность кости, это позволяет активизировать пациента с возможностью нагрузки на оперированную конечность на следующий день после операции. Время пребывания в стационаре составляет 3–5 дней. Кроме того, не требуется применения внешних средств иммобилизации, а также постоянного медицинского контроля.

Возможность применения его у детей младшего возраста обсуждается многими исследователями.

В ходе выполнения инновационного проекта экспериментально на лабораторных животных были установлены изменения, происходящие в заблокированной зоне роста в разные сроки. Полученные данные сопоставимы с изменениями, происходящими в зоне роста человека. Поэтому временное блокирование зон роста для лечения разницы в длине ног и угловых деформаций коленного сустава может быть начато в ранние сроки, у детей в возрасте 3–6 лет, когда деформация еще не достигла выраженной формы, а изменения, приводящие к ранней инвалидности, минимальны.

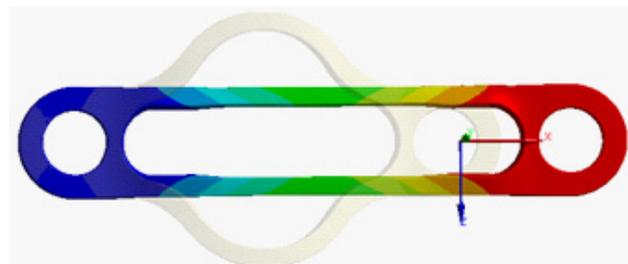
Однако применение жестких типов фиксаторов, которые используются у детей старшего возраста, может привести к нарушению нормальной функции ростко-

вого хряща. Поэтому был разработан метод динамического временного блокирования и конструкция для его осуществления. Особенность метода заключается в том, что зона роста продолжает функционировать, но через усилие, что замедляет темпы ее роста. Такой эффект обеспечивается динамической пластиной для временного блокирования (рис. 1).



**Рис. 1.** Динамическая пластина для временного блокирования зон роста у детей младшего возраста

Благодаря своей форме она может абсолютно удлиняться под воздействием определенной силы. Совместно с Национальной академией наук Республики Беларусь ГНУ «Объединенный институт машиностроения Национальной академии наук Беларуси» (ОИМ НАН Беларуси) проведено компьютерное моделирование пластины для временного блокирования зон роста длинных трубчатых костей нижних конечностей у детей младшего возраста (рис. 2). Определены основные технические параметры создаваемой конструкции.



**Рис. 2.** Компьютерное моделирование динамическая пластина для временного блокирования зон роста у детей младшего возраста

Проведены клинические испытания динамической пластины для временного блокирования зон роста нижних конечностей у детей младшего возраста на добровольцах, соответствующих критериям протокола программы клинических испытаний. Всего оперировано 9 пациентов на трех клинических базах: с угловыми деформациями коленного сустава четверо и с разницей в длине нижних конечностей — пятеро. Всем устанавливалась динамическая пластина для временного блокирования зон роста длинных трубчатых костей у детей младшего возраста.

Результаты клинических исходов внедренных технологий прослежены во всех случаях; они положительные. У пациентов с угловой деформацией коленного сустава наступила полная коррекция деформации. В случаях с укорочением одной конечности отмечено уменьшение разницы и абсолютное удлинение пластины (рис. 3).

Динамическая пластина прошла государственную сертификацию, получено регистрационное удостоверение Республики Беларусь (рег. уд. ИМ-7.99226; рег. № Мн-7.115550-1011).

Подготовлена и утверждена инструкция по применению «Метод лечения разницы в длине и деформаций коленного сустава у детей до 6 лет с применением динамической пластины для временного блокирования зон роста длинных трубчатых костей нижних конечностей» (рег. № 158-1112, утверждена МЗ РБ 28.11.2012).

*Вид патентной защиты:* Динамическая пластина для временного блокирования зон роста длинных трубчатых костей нижних конечностей у детей младшего возраста: пат. №8215 Респ. Беларусь, МПК А 61 В 17/56 / О.А. Соколовский; С.Н. Сердюченко; заявитель ГУ «РНПЦ травматологии и ортопедии». — № u 20110867; заявл. 04.11.2011; опублик. 30.04.12 // Афц. бюл. / Нац. Центр інтэлектуал. уласнасці. — 2012. — № 2. — С. 206–207.]

*Область применения:* травматология и ортопедия.

*Предложения по сотрудничеству:* изготовление по заказам различных по объему партий продукции.

#### **Dynamic plate for temporary blocking of growth zones in children for correction of leg length discrepancy and angular deformation of the knee-joint**

*A.A. Sokolovsky, S.N. Serduchenko, L.A. Pashkevich, A.B. Dementsov, M.T. Mohammadi*

The aim of the study is to substantiate the use of guided growth in young children for treatment of leg length discrepancy and angular deformities of the knee, to develop and implement a dynamic fixator for guided growth. The experiment on immature rabbits determined the effect of guided growth on the proliferative function of physis during blocking and after the fixator removal.

There was developed the technology of dynamic guided growth in young children and the fixator for its implementation. There were conducted the laboratory tests with blocking of the distal femoral growth plate in immature rabbits with experimental fixators. There was done computer modeling of mechanical loads and dynamic tests of the fixator. Nine patients were operated. Good results were obtained in all cases. The dynamic plate passed the state certification and received the registration of the Republic of Belarus. The method can be introduced in clinics and in educational process.

*Field of application:* traumatology and orthopedics

*Offers for cooperation:* development of this sector in the CIS countries.

УДК 616.717/.718:539.4]-089

#### **Программа расчета остаточной прочности костей конечностей при секторальной резекции**

*И.Э. Шпилевский, С.М. Босяков, Ю.В. Лихачевский*

**Рубрики: 76.03.29; 76.01.85**

*НИИ:* «Разработать математическую модель и программу расчета прочностных характеристик длинных трубчатых костей человека при выполнении секторальной резекции».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научные руководители:* канд. мед. наук И.Э. Шпилевский, канд. физ.-мат. наук С.М. Босяков.

*Организация-соисполнитель:* УО «Белорусский государственный университет».

*Источник финансирования:* госбюджет.

Основным методом лечения доброкачественных новообразований и опухолеподобных поражений костей конечностей является хирургический, заключающийся в

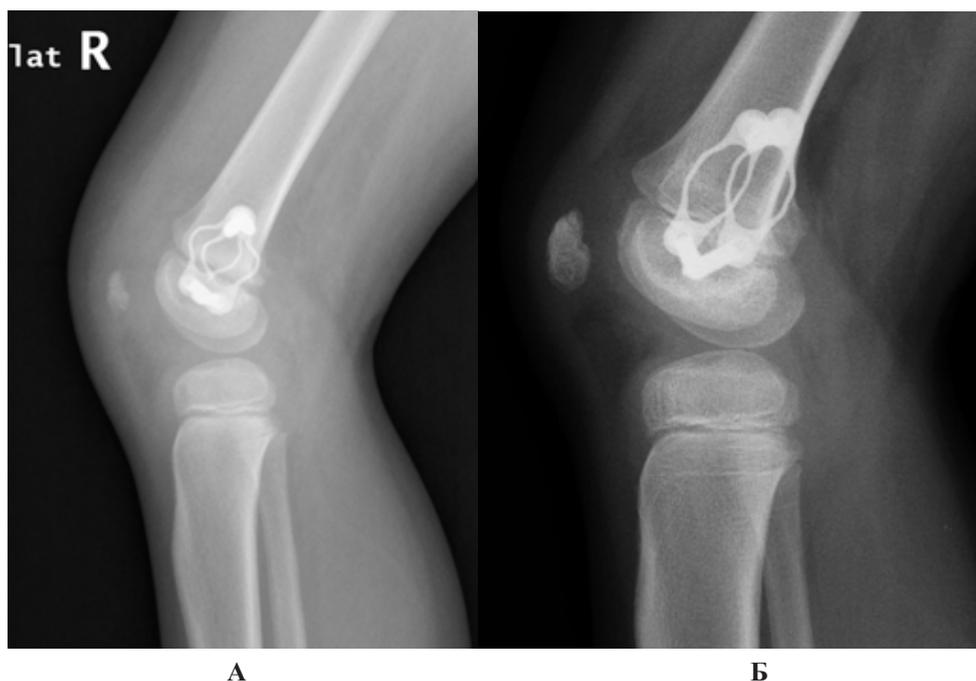


Рис. 3. Рентгенограммы пациентки Н.: а) сразу после оперативного вмешательства; б) через 1 год после операции

удалении пораженного участка в пределах неизмененных тканей с формированием секторального дефекта кости (без нарушения ее непрерывности). В результате прочность сегмента и функциональные возможности конечности снижаются, а вероятность патологического перелома в ближайшем послеоперационном периоде на уровне вмешательства существенно повышается. Для предотвращения этого осложнения используются ограничение нагрузок, внешняя иммобилизация или армирование кости. Однако выбор их осуществляется зачастую на основании субъективных критериев и опыта оперирующего врача-хирурга. Для объективизации и стандартизации показаний к применению различных методов компенсации потери прочности кости представляется необходимым использование математического моделирования.

На основании данных компьютерной томографии (КТ) анатомических препаратов длинных трубчатых костей конечностей человека и с учетом результатов КТ реальных пациентов были созданы усредненные виртуальные твердотельные геометрические модели, в которых формировались стандартизированные по размерам и локализации секторальные дефекты. Нагрузку виртуальных моделей производилось в соответствии с нормальной биомеханикой сегментов. С помощью конечно-элементного анализа были определены распределения в кости эквивалентных напряжений по Мизесу, которые имеют следующий вид:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{2}((\sigma_{11} - \sigma_{22})^2 + (\sigma_{22} - \sigma_{33})^2 + (\sigma_{11} - \sigma_{33})^2 + 6(\sigma_{12}^2 + \sigma_{23}^2 + \sigma_{13}^2))}$$

где  $\sigma_{ij}$  — компоненты-тензора напряжений,  $i, j = \overline{1, 3}$ .

На основании установленных значений максимальных эквивалентных напряжений  $\sigma_{\max}$ , возникающих в

области костного дефекта, выполнен расчет коэффициента увеличения напряжений по формуле  $n = \sigma_{\max} / \sigma_0$ , где  $\sigma_0$  — максимальные эквивалентные напряжения, возникающие в соответствующем отделе неповрежденной кости. Для интерполяции функций двух переменных  $n(l, \varphi)$ , ( $l, \varphi$  — линейный и угловой размеры дефекта соответственно) использован многочлен Ньютона:

$$f(x, y) = \sum_{i=1}^4 \sum_{k=1}^3 f(x_1, \dots, x_i; y_1, \dots, y_k) \prod_{j=1}^{i-1} \prod_{m=1}^{k-1} (x - x_j)(y - y_m)$$

На базе интерполяционных полиномов, определенных для всех уровней сегментов верхних и нижних конечностей, создан компьютерный программный модуль для расчета остаточной прочности длинных трубчатых костей после выполнения секторальной резекции. Этот модуль был использован для ретроспективного расчета прочности у 59 пациентов (60 вмешательств) в возрасте до 18 лет, которым выполнялась секторальная резекция по поводу доброкачественных новообразований и опухолеподобных поражений длинных трубчатых костей верхних и нижних конечностей. Результаты расчетов приведены в таблице.

На основании проведенных расчетов сделаны следующие выводы:

1. Разгрузочный режим показан, если остаточная прочность сегмента составляет не менее 75%.
2. Внешняя иммобилизация показана при остаточной прочности сегмента в пределах от 75 до 50%.
3. Превентивный остеосинтез показан при остаточной прочности сегмента менее 50%.

На основе разработанного программного модуля с учетом полученных данных создана компьютерная программа, работающая в среде любого браузера (демонстрационная версия программы доступна в интернете

Таблица

Минимальные (для I и II групп), максимальные (для III и IV групп) и средние величины остаточной прочности (% сегментов конечностей)

Группы пациентов	Сегмент				В целом
	бедро	голень	плечо	предплечье	
Разгрузочный режим	70,5	45,3	13,7	63,0	70,8±7,2
	<b>72,5</b>	<b>73,0±7,5</b>	<b>69,5±7,0</b>		
Внешняя иммобилизация	13,6	22,2	34,1	61,4	53,1±5,5
	<b>38,0±3,5</b>	<b>57,3±5,5</b>	<b>54,0±5,5</b>	<b>69,1</b>	
А. Армирование кости	41,4	27,5	-	-	22,3±2,1
	<b>20,9±2,0</b>	<b>26,0±2,5</b>			
В. Патологический перелом	45,9	67,8	50,1	-	37,5±3,9
	<b>31,5±3,2</b>	<b>46,3±4,7</b>	<b>27,6</b>		

по адресу <http://shpilevskijbones.freehosting.ru/>), позволяющая на этапе предоперационного планирования оценить остаточную прочность кости после выполнения резекции и определить адекватный метод компенсации.

На Петербургской технической ярмарке в 2013 г. разработка получила диплом II степени и серебряную медаль в номинации «Лучший инновационный проект в области медицины».

*Свидетельство о регистрации* компьютерной программы № 502 (заявка С20130027 от 20.03.2013).

*Область применения:* травматология и ортопедия, костная онкология.

*Рекомендации по использованию:* программа рассчитана на использование в процессе предоперационного планирования вмешательств на длинных трубчатых костях конечностей при доброкачественных новообразованиях.

*Предложения по сотрудничеству:* поставка и установка «Программы расчета остаточной прочности костей конечностей после выполнения секторальной резекции», обучение ее использованию; совместная разработка интеграционных полиномов и компьютерной программы.

### The PC program for calculation of residual strength of bones of extremities after sectoral resection

*I.E. Shpilevsky, S.M. Bosyakov, Yu. V. Likhachevsky*

On the basis of the CT of bones there were created the average virtual geometric models of the long bones of the upper and lower extremities. Their load was produced according to normal biomechanics. The distribution of equivalent stresses in the bones was determined according to Mises.

There was done the calculation of the coefficient of stress increase in the bones on the level of sectoral defect. On the basis of the results the was created a PC program module. It was used for retrospective calculation of residual bone strength level in 59 patients. On the basis of this module and the obtained data the PC program was created (trial version of it is on <http://shpilevskijbones.freehosting.ru/>).

This program helps to estimate the residual strength of the bone and to determine the adequate method of its compensation at the stage of pre-operative planning.

*Field of application:* traumatology and orthopedics, bone oncology.

*Offers for cooperation:* delivery and installation of the Program, joint modification of it.

УДК 616-001-053.2

### Мониторинг детского травматизма и стратегия его профилактики

*А.В. Белецкий, Л.Н. Ломать, А.М. Мухля, Е.А. Ралько, А.В. Борисов*

**Рубрика: 05.11.61**

*НИИР:* «Создать систему мониторинга детского травматизма, изучить его структуру и механизмы формирования, разработать программу мероприятий по предупреждению и минимизации осложнений и последствий травм в Республике Беларусь».

*Сроки выполнения НИИР:* 01.01.2011 — 31.12.2012.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.В. Белецкий.

*Организация-соисполнитель:* ГНУ «Объединенный институт проблем информатики» НАН Беларуси.

*Источник финансирования:* госбюджет.

В Европейском регионе травмы являются ведущей причиной смертности детей в возрасте от 5 до 18 лет. Многие миллионы детей из-за них оказываются на больничной койке или в отделениях неотложной помощи, а порой на всю жизнь остаются инвалидами. Травматизм — причина больших расходов ресурсов не только систем здравоохранения, но и всего общества.

Одной из причин высокого детского травматизма является отсутствие должного надзора за детьми всех возрастных групп, а также недостаточный и неэффективный уровень профилактической работы среди населения. Системная профилактика на доказательной основе позволяет не только предотвращать осложнения и смягчать последствия травм, но и добиться их значительного снижения их числа. Сектору здравоохранения в этом подходе отведена центральная роль: как в ана-

лизе ситуации и ее прогнозировании, так и в разработке профилактических мероприятий и привлечении других министерств, ведомств и общественных организаций к их реализации.

Проведенные исследования и анализ детского травматизма за 2001–2011 гг. показали, что данная проблема чрезвычайно актуальна для нашей страны. Показатели заболеваемости детей за этот период выросли более чем на 20%. Несмотря на то, что за эти годы произошло снижение смертности (на 34,8%) и инвалидности (на 37,5%), уровни по многим позициям остаются очень высокими и значительно выше, чем в европейских странах.

На основании проведенного изучения ситуации была обоснована система мониторинга и профилактики детского травматизма в Республике Беларусь. Разработана и проведена опытная эксплуатация автоматизированной системы «Детская травма». Предложен алгоритм анализа показателей детского травматизма и их динамики, прогнозирования оценок и формирования предложений по профилактике.

Научная новизна НИИР заключается в разработке системы мониторинга и алгоритма анализа показателей детского травматизма, комплексном изучении динамики и тенденций заболеваемости и смертности детей от травм и других внешних причин. На этой основе впервые в Республике Беларусь разработана Стратегия профилактики детского травматизма (далее — Стратегия) и сформирован межведомственный план мероприятий по ее реализации.

Детский травматизм может и должен быть предотвращен благодаря организованным совместным усилиям общества, а для этого требуется постоянная поддержка на всех уровнях государственного управления и общества, выделение ресурсов, создание организационно-кадрового потенциала и формирование системы программных целей и принципов, к реализации которых необходимо привлечение широких слоев общества.

Путь к успеху лежит комплекс различных подходов и конкретных мер: изменение окружающей среды, проектирование и производство безопасной продукции, принятие законодательства, требующего осуществления этих изменений, просвещение, в котором упор делается на травмабезопасное поведение и должный надзор за детьми, создание безопасной среды, использование безопасного оборудования и продукции.

В 2012 г. в ГУ «РНПЦ травматологии и ортопедии» была разработана Стратегия профилактики детского травматизма в Республике Беларусь на 2013–2015 гг, согласованная с заинтересованными министерствами и ведомствами и утвержденная Министерством здравоохранения. В соответствии со Стратегией и при поддержке Представительства ЮНИСЕФ в Республике Беларусь подготовлен межведомственный проект на получение технической помощи «Профилактика детского травматизма» на 2013–2015 гг (далее — Проект), одобренный Советом Министров Республики Беларусь (протокол заседания № 35/225-358 от 11.03.2013) и зарегистрированный Министерством экономики Респу-

блики Беларусь (2/13/000598 от 02.05.2013).

Исполнение проекта будет содействовать реализации Стратегии и плана профилактических мероприятий в Республике Беларусь в течение 2013–2015 гг. по следующим основным направлениям:

- построение комплексной системы мониторинга и оценки результатов профилактики детского травматизма, интеграция полученных данных в государственную систему здравоохранения Республики Беларусь;
- включение результатов исследований в национальные и международные банки данных и создание основы для сотрудничества с учеными и медицинскими работниками разных стран;
- повышение уровня профессиональной подготовки и знаний о современных методах диагностики и лечения среди медицинских работников;
- разработка и внедрение наиболее перспективных профилактических мероприятий, включая меры первичной, вторичной и третичной профилактики, направленных на предотвращение как самого эпизода травмы, так и его последствий и осложнений (инвалидности и смертности);
- совершенствование межведомственного взаимодействия и привлечение к проблеме профилактики детского травматизма средств массовой информации и самых широких слоев населения;
- повышение уровня знаний, информированности и ответственности родителей и населения по вопросам профилактики детского травматизма.

Практическая значимость полученных результатов заключается во внедрении разработанных предложений по мониторингу детского травматизма, что позволит оптимизировать работу травматологической службы, организовать проведение межведомственных мероприятий по профилактике травм и повысить уровень травмабезопасного поведения населения, которые в конечном итоге будут направлены на снижение уровня травматизма, уменьшение инвалидности и смертности от внешних причин.

В результате внедрения системы мониторинга и разработанных предложений к 2020 г. можно ожидать снижение уровня травматизма ниже 8000,0 на 100 тыс. детей; инвалидности — до 0,4 на 10 тыс. детей; смертности — ниже 14 на 100 тыс. детей.

*Область применения:* хирургия.

*Рекомендации по использованию:* Министерство здравоохранения Республики Беларусь, управления здравоохранения облисполкомов, Комитет по здравоохранению г. Минска, организации здравоохранения, Минский городской ЦГЭ и областные ЦГЭиОЗ.

#### **Monitoring of child injuries and the strategy of its prevention**

*A.V. Beletsky, L.N. Lomat, A.M. Mukhlya,  
E.A. Ralko, A.V. Borisov*

Injuries are the leading cause of death of children from 5 to 18 years. The causes are the lack of proper supervision of children, as well as inadequate and inefficient preventive

work among the population.

In 2001–2011 the incidence of children's injuries increased by more than 20%.

We performed the analysis of children's traumatism in the Republic of Belarus and justified the system of monitoring and prevention of child injuries. There was developed and introduced the automated system «The Children's trauma».

In 2012 there was developed the Strategy for prevention of child injuries in the Republic of Belarus for 2013–2015. With the support of the UNICEF office in the Republic of Belarus there was prepared an interdepartmental project on obtaining technical assistance «Prevention of Child injuries» in 2013–2015.

The results and offers on monitoring of children's injuries are implemented in practical healthcare. As a result of their introduction we predict the decrease of the incidence of injuries below 8000 per 100 thousand to 2020; disability — to 0.4 per 10 thousand; mortality — below 14 per 100 thousand children.

УДК 616.72-089.28/.29-(476)

#### **Организационные аспекты эндопротезирования крупных суставов**

*A.V. Beletskiy, A.M. Mukhlya, L.N. Lomat, E.A. Ralko,  
A.V. Borisov*

**Рубрика: 76.29.41**

*НИР:* «Изучить состояние, перспективы и отдаленные результаты эндопротезирования крупных суставов в Республике Беларусь, разработать предложения по оптимизации обеспечения повторных (ревизионных) операций».

*Сроки выполнения НИР:* 01.01.2011 — 31.12.2012.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.В. Белецкий.

*Организация-соисполнитель:* ГУ «Республиканский научно-практический центр медицинских технологий, информатизации, управления и экономики здравоохранения».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучить отдаленные последствия эндопротезирования крупных суставов и потребность в различных видах эндопротезирования в Республике Беларусь, разработать предложения по оптимизации обеспечения повторных (ревизионных) операций.

Проведен анализ заболеваемости населения артрозами, изучена потребность в эндопротезировании, разработаны показания и противопоказания к эндопротезированию крупных суставов. Ежегодно в республике регистрируется более 30 тыс. заболеваний артрозами взрослого населения. За последние 10 лет первичная заболеваемость колебалась от 281,8 (2002 г.) до 489,0 (2008 г.) на 100 тыс.; 2011 г. — 455,1 на 100 тыс. взрослого населения. Общая заболеваемость за этот период выросла более чем в 2 раза — с 1258,1 до 2752,8 на 100 тыс. Если среднегодовой темп прироста (СрТ) первичной заболеваемости артрозами за 10 лет составил 4,1% и в течение последних 6 лет сохраняется на одном уровне,

то общее число пациентов постоянно увеличивается, как и показатель общей заболеваемости (СрТ — 8,20%).

На основании проведенных исследований установлено, что потребность в эндопротезировании крупных суставов в республике будет постоянно увеличиваться. В настоящее время на диспансерном учете в организациях здравоохранения состоит более 43 тыс. пациентов с различными видами артрозов, каждый 3-4-й нуждается в эндопротезировании. Таким образом, в эндопротезировании нуждается более 10 тыс. человек.

Совместно с РНПЦ МТ разработана автоматизированная информационно-аналитическая система «Эндопротезирование суставов» (АИАС). Создана база данных о пациентах, нуждающихся в операциях тотального эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов, по данным областей и г. Минска (на 01.12.2012 г. на учете состояло соответственно 6253 и 4401 пациентов). Сформированы когорты пациентов после проведенных ревизионных эндопротезирований тазобедренного и коленного суставов (632 и 64 пациента). Настроен учет остатков эндопротезов и расходных материалов в организациях здравоохранения на уровне всех регионов республики.

По данным изучения причин ревизионных эндопротезирований тазобедренного сустава установлено, что преобладали осложнения механического происхождения, связанные с внутренним суставным протезом, и другие биомеханические нарушения — 61,4% (388); инфекция и воспалительная реакция, обусловленные эндопротезированием — 22,1% (140) и другие вторичные коксартрозы — 6,0% (38). Иные причины, такие как патологические и другие переломы костей и переломы имплантата, встречались в единичных случаях. Среди лиц с ревизионным эндопротезированием 62,5% составили женщины и 37,5% мужчины.

С целью оптимизации учета пациентов, нуждающихся в эндопротезировании крупных суставов, и порядка организации оперативной помощи разработано и утверждено постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 120 от 09.12.2011 «Об утверждении Инструкции о порядке организации оказания медицинской помощи пациентам, нуждающимся в эндопротезировании крупных суставов». Сформированы показания и противопоказания к эндопротезированию

крупных суставов в организациях здравоохранения Республики Беларусь. Разработан порядок учета пациентов, нуждающихся в эндопротезировании крупных суставов, в организациях здравоохранения. Разработана форма «Журнал учета пациентов, нуждающихся в эндопротезировании крупных суставов», сформированы основные требования к проведению аттестации отделений, выполняющих операции эндопротезирования крупных суставов.

*Область применения:* хирургия.

*Рекомендации по использованию:* Министерство здравоохранения, управления здравоохранения облисполкомов, организации здравоохранения, осуществляющие эндопротезирование крупных суставов.

### **Organizational aspects of endoprosthesis of large joints**

*A.V. Beletsky, A.M. Mukhlya, L.N. Lomat,  
E.A. Ralko, A.V. Borisov*

The aim of work is to study the long-term consequences of endoprosthesis of large joints and the need for different types of prosthetics in the Republic of Belarus, to develop the offers on optimization of operations.

Results of the research:

- there was done the analysis of morbidity of arthrosis, studied the need for joint replacement, given the indications and contraindications for the replacement of large joints;
- offers on modernization of the Automated information-analytical system «Endoprosthesis of large joints» (AIAS);
- there was developed the database on patients requiring operations on hip and knee joints (01.12.2012, 6253 and 4401 patients respectively);
- there were established accounting balances for endoprosthesis.

According to the study of causes of the hip joint arthroplasty the main complications were of mechanical origin, associated with the internal joint prosthesis and other biomechanical disorders — 61.4% (388); infection and inflammatory reaction caused by arthroplasty — 22.1% (140), other secondary coxarthrosis — 6.0% (38). Other reasons, such as pathological and other bone fractures and fractures of the implant were isolated cases.



УДК 616.98:576.852.2]-07(476)

**Бактериологическая диагностика нетуберкулезных микобактерий в Республике Беларусь***О.М. Залуцкая, Е.М. Скрягина,  
Л.К. Суркова, М.И. Дюсьмикеева***Рубрика: 76.29.53**

*НИР:* «Определить видовую структуру возбудителей микобактериозов, их роль в развитии легочной патологии в Республике Беларусь и разработать методическую основу для тестирования лекарственной чувствительности нетуберкулезных микобактерий (НТМ)».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2013 г. — декабрь 2015 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук Е.М. Скрягина.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — ретроспективный анализ частоты выделения культур НТМ в регионах Республики Беларусь в 1990–2012 гг., определение видовой структуры возбудителей микобактериозов в Республике Беларусь.

Изучены отчетные данные бактериологических лабораторий республики, выполняющих исследования на туберкулез, о выделении культур нетуберкулезных микобактерий в 1990–2012 гг.

Выделение культур нетуберкулезных микобактерий проводится бактериологическими лабораториями противотуберкулезных организаций. Количество культур *M. tuberculosis*, выделенных в Республике Беларусь, увеличилось с 1992 по 2009 г. с 19522 до 50323, т. е. более чем в 3 раза. С 2009 по 2012 гг. число выделенных культур МБТ стабилизировалось и составило в 2012 г. 48394.

Всего за 1990–2012 гг. бактериологическими лабораториями республики выделено 3258 культур НТМ.

В отличие от МБТ количество культур НТМ в период 1990–2010 гг. оставалось стабильным с тенденцией к снижению в 2004–2005 гг., когда оно составило 68 и 53 культуры соответственно. С 2010 г. отмечается тенденция к увеличению абсолютного числа культур НТМ, выделенных в Республике Беларусь. В течение последних 3 лет регистрируется стремительный рост абсолютного количества выделенных культур НТМ: с 118 в 2009 г. до 382 в 2012 г. (в 2,38 раза). Несмотря на это, очевидно, что выявление нетуберкулезных микобактерий не отражает их истинной распространенности в Республике Беларусь и требует дальнейшего совершенствования.

В 1992–2010 гг. отмечалось снижение удельного веса НТМ с 0,7 до 0,2%, что, вероятно, можно объяснить увеличением числа выделенных культур МБТ в этот период. В 2005 г. удельный вес НТМ достиг минимума и составил 0,13% от общего числа выделенных культур микобактерий. С 2010 г. отмечается тенденция к увеличению удельного веса НТМ в общем числе культур микобактерий.

Количество культур НТМ, выделенных в разных регионах республики в 1990–2008 гг., оставалось стабильным и не превышало 40 культур в год. С 2006 г. ежегодно увеличивается абсолютное количество культур НТМ, выделенных в г. Минске (ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»), с 2009 г. — в Гомельской области, с 2007 г. — в Могилевской области.

Увеличение абсолютного числа культур НТМ, вероятно, связано с использованием автоматизированных систем для детекции микобактерий ВАСТЕС MGIT960, основанных на использовании жидкой питательной среды, что позволяет обеспечить более адекватные условия для культивирования НТМ. Кроме того, увеличение числа выделенных культур НТМ может быть связано с улучшением качества лабораторной диагностики туберкулеза, повышением квалификации по диагностике НТМ сотрудников бактериологических лабораторий, проводящих диагностику туберкулеза.

Установлены значительные колебания в количестве культур НТМ, выделяемых в регионах республики. Эта проблема требует углубленного изучения, поскольку такие различия могут быть обусловлены региональными особенностями распространенности НТМ.

В 2012 г. было выделено 13 видов НТМ, относящихся ко всем 4 группам по классификации Ranyon.

Среди культур НТМ, выделенных в Республике Беларусь в 2012 г., наибольший удельный вес (57,9%) приходился на быстрорастущие НТМ: 37,9% от общего количества культур НТМ составили *M. fortuitum*, 14,0% — *M. chelonae*, 6,0% — *M. abscessus*. На втором месте (28,9%) — НТМ, входящие в *M. aviumcomplex*: 14,9% от общего количества культур НТМ составили *M. avium* и 14,0% — *M. intracellulare*. На долю остальных 8 видов НТМ в совокупности пришлось 13,2% от общего числа культур НТМ.

Следует отметить, что до последнего времени в видовой структуре выделенных культур НТМ преобладали быстрорастущие НТМ (более 80% от общего числа). Высокий удельный вес быстрорастущих НТМ, вероятно, можно объяснить не только их значительной распространенностью, но и относительной легкостью идентификации, связанной с быстрым ростом.

Таким образом, в последние 3 года в Республике Беларусь отмечается значительное увеличение количества и видового разнообразия выделяемых культур НТМ за счет потенциально патогенных медленно растущих НТМ. Это может свидетельствовать об увеличении числа микобактериозов и о повышении качества лабораторной диагностики НТМ в республике. Установление этиологии заболевания является необходимым условием своевременной диагностики микобактериозов и назначения адекватной химиотерапии.

*Область применения:* фтизиатрия, микробиология.

*Рекомендации по использованию:* методы могут быть внедрены в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

**Bacteriological diagnosis of nontuberculous mycobacteria in Belarus**

*O.M. Zalutskaya, A.M. Skryagina,  
L.K. Surkova, M.I. Dusmikeeva*

A retrospective analysis of the frequency of isolation of non-tuberculosis mycobacteria (NTM) and the definition of species structure of mycobacterioses in the regions of the Republic of Belarus in 1990–2012 was carried out. In the last 3 years, a significant increase in the number and species diversity of cultures NTM on account of potentially pathogenic slow-growing NTM was found. It may be the indicator of the increase in mycobacterioses incidence and improving the quality of laboratory diagnosis of NTM in the country. The definition of the etiology of the disease is essential for timely diagnosis of mycobacteriosis and prescribing adequate chemotherapy.

УДК 616.24-002.5:615.015.6

**Диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью на различных уровнях оказания медицинской помощи**

*Г.Л. Гуревич, Е.М. Скрыгина, О.М. Залуцкая*

**Рубрика: 76.29.53**

*НИР:* «Разработать систему эпидемиологического аудита туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя в республике и на этой основе усовершенствовать действующую систему эпиднадзора за лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2012 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук Г.Л. Гуревич.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — обзор современных методических подходов и организационные аспекты выявления и дифференциальной диагностики ТБ, которые необходимо реализовывать на всех этапах и уровнях оказания медицинской помощи.

Методы диагностики ТБ можно разделить на три группы в зависимости от цели их использования: методы верификации диагноза, методы скрининга и дополнительные методы.

Для верификации диагноза с позиции доказательной медицины используются гистологическое исследование биопсийного и резекционного материала, бактериологическое (культуральное) исследование на твердых и жидких питательных средах, в т. ч. с использованием системы ВАСТЕС MGIT 960, и, наконец, молекулярно-генетическая диагностика (GenoType<sup>®</sup>MTBDRplus (Хайн-тест) и Xpert MTB/RIF).

К методам скрининга следует отнести прежде всего молекулярно-генетический метод с использованием XpertMTB/RIF, рентгено-флюорографическую диагностику и бактериоскопию мокроты у взрослых, а также аллергологические пробы с туберкулином и лекарственным средством «Диаскин» у детей. К методам

скрининга можно отнести также квантифероновый *in vitro* тест QuantiFERON-TB Gold, который обладает более высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с внутрикожными пробами.

Все остальные методы обследования являются дополнительными и используются в комплексе для уточнения диагноза и характера течения заболевания.

Как правило, диагноз ТБ устанавливается на основании положительных результатов одного или нескольких верифицирующих методов, которые должны оцениваться в комплексе с данными рентгено-флюорографического и дополнительных методов исследования. Диагноз может устанавливаться на основании результатов скрининговых и дополнительных методов исследования только при отсутствии положительных результатов методов верификации.

Новый метод Xpert MTB/RIF позволяет в течение 2 ч осуществлять детекцию микобактерий туберкулеза (МБТ) и их устойчивости к рифампицину. Преимуществами данного метода являются минимальная вероятность контаминации и возможность его использования в «полевых условиях»: использование метода не требует оборудованной ПЦР-лаборатории и специально подготовленного персонала. Чувствительность метода для КУБ+ образцов составляет 100%, для КУБ– образцов — 70%, что позволяет на 30–40% увеличить вероятность детекции МБТ по сравнению с микроскопическим исследованием. Данным оборудованием целесообразно оснащать лаборатории II и III уровней ПТО.

В организациях первичной медицинской помощи, поликлиниках и центральных районных больницах для выявления и дифференциальной диагностики туберкулеза необходимо использовать рентгено-флюорографическое исследование, микроскопию мокроты и туберкулинодиагностику. Кроме того, целесообразно использовать диагностические возможности молекулярно-генетических методов (Xpert MTB/RIF).

В специализированных пульмонологических, торакальных, онкопульмонологических отделениях областных и многопрофильных городских больниц целесообразно дополнительно использовать посев (бактериологическое исследование) мокроты и/или резекционного материала, рентгено-компьютерную томографию легких и других органов, а также морфологическое исследование биопсийного и резекционного материала. Особую актуальность в последнее время приобретает бактериологическое исследование биопсийного и резекционного материала, позволяющее выявлять возбудитель туберкулеза в очаге поражения и назначать адекватную схему противотуберкулезной терапии.

В областных ПТО и РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии дополнительно к вышеуказанным методам необходимо использовать ускоренный метод бактериологической диагностики на жидких средах (ВАСТЕС MGIT 960), молекулярно-генетические исследования GenoType<sup>®</sup>MTBDRplus (Хайн-тест) и диаскинтест.

Процесс дифференциальной диагностики не должен прекращаться с госпитализацией пациента в спе-

циализированные фтизиатрические стационары. Следует помнить о так называемом феномене «выхода» МБТ, когда в зону деструкции легочной ткани при пневмонии или раке легкого может попасть старый обывственный туберкулезный очаг. В этом случае может быть получен положительный результат бактериоскопии мокроты на КУБ, не подтвержденный положительным результатом посева. Кроме того, в последнее время весьма актуальной стала проблема микобактериозов, поэтому в процессе лечения пациентов с предварительным диагнозом туберкулез на фоне 2-месячного приема ПТЛС необходимо мониторировать клинкорентгенологическую динамику, результаты лабораторных и других методов исследования.

Рациональная стратегия выявления новых случаев заболевания, включающая точную и своевременную диагностику с использованием качественных лабораторных методов, является одним из пяти компонентов стратегии DOTS.

Использование алгоритма диагностики туберкулеза и комиссионное рассмотрение каждого неясного случая позволяет уменьшать число диагностических ошибок, своевременно устанавливать правильный диагноз и назначать адекватную этиотропную терапию. Современные методические подходы и организационные аспекты выявления и дифференциальной диагностики туберкулеза необходимо реализовывать на всех этапах и уровнях оказания медицинской помощи.

*Область применения:* фтизиатрия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в противотуберкулезных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Diagnosis and differential diagnosis of pulmonary tuberculosis with multidrug resistance at different stages of medical treatment**

*G.L. Gurevich, E.M. Skryagina, O.M. Zalutskaya*

This publication presents modern methodological approaches and organizational aspects of diagnostics and differential diagnostics of MDR-TB, which should be implemented at all stages and levels of health care.

Using the algorithm of differential diagnostics of tuberculosis and commission review of each uncertain event lets to reduce the number of diagnostic errors in a timely manner, to establish the correct diagnosis and prescribe adequate treatment.

УДК 616.248-007.272-08

### **Метод лечения тяжелой астмы с необратимой бронхиальной обструкцией**

*И.М. Лаптева, О.Н. Харевич,  
Н.А. Порахонько, Е.А. Лаптева*

**Рубрика:** 76.29.35

*НИР:* «Изучить особенности патогенеза тяжелой бронхиальной астмы и разработать дифференцирован-

ный алгоритм лечебных мероприятий на этапах прогрессирования болезни».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. И.М. Лаптева.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Выраженность клинических проявлений у пациентов с тяжелой астмой обусловлена низкими показателями функции внешнего дыхания и снижением обратимости бронхиальной обструкции в ответ на бронходилатацию. Формирование необратимой обструкции дыхательных путей вследствие ремоделирования бронхиальной стенки может приводить к снижению чувствительности таких пациентов к стандартной базисной терапии. В настоящее время в терапевтических схемах ведения пациентов с тяжелой астмой предусмотрено использование высоких доз ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС) в комбинации с длительно действующими  $\beta_2$ -агонистами (ДДБА), а также добавление к указанной комбинации антилейкотриеновых лекарственных средств, теофиллинов пролонгированного действия и/или пероральных глюкокортикостероидов. В последние годы проводились многочисленные исследования по оптимизации лечения тяжелой астмы с необратимой бронхиальной обструкцией с использованием антихолинэргических лекарственных средств длительного действия (тиотропия бромид) в качестве терапии, дополняющей лечение другими бронходилататорами (Iwamoto H., 2008; Gross N.J., 2006; Fardon T., 2006). В экспериментальных исследованиях показано, что тиотропия бромид является не только эффективным бронхорасширяющим лекарственным средством, но и обладает длительным бронхопротективным эффектом, уменьшая активность воспаления в дыхательных путях и предупреждая их ремоделирование (Terzano C., 2004; Ohta S., 2009; Gosens R., 2005). Подчеркивается, что при тяжелой астме тиотропия бромид наиболее эффективен у пациентов с необратимой обструкцией дыхательных путей (Kerstjens H.A.M., 2012).

На базе пульмонологического отделения ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии» было проведено изучение эффективности дополнительного применения тиотропия бромида у 18 пациентов с тяжелой неконтролируемой астмой, получающих терапию высокими дозами ИГКС в комбинации с ДДБА, у которых зарегистрирована необратимая обструкция дыхательных путей (постбронходилатационное отношение  $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$  и/или постбронходилатационный  $ОФВ_1 < 80\%$ ). Все пациенты принимали 18 мкг тиотропия бромида в виде ингаляций ежедневно в дополнение к стандартной терапии ИГКС и ДДБА в течение 3 мес. Эффективность тиотропия бромида оценивали по изменению постбронходилатационного  $ОФВ_1$  и уровня контроля над астмой по опроснику АСQ-5. После 3 мес. применения было отмечено статистически значимое улучшение  $ОФВ_1$  (с 55,5 (50–59) до 60 (54–65),  $p < 0,001$ , критерий Вилкоксона) и уровня контроля над

астмой (значение ACQ-5 уменьшилось с 2,9 (2,6–3,0) до 1,8 (1,6–2,0),  $p < 0,001$ , критерий Вилкоксона).

Таким образом, дополнительное назначение длительно действующего антихолинергического лекарственного средства при тяжелой астме с необратимой обструкцией, не контролируемой приемом ИГКС в высоких дозах в комбинации с ДДБА, способствует уменьшению симптомов астмы и улучшению функциональных легочных показателей.

*Область применения:* терапия, пульмонология

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Treatment of severe asthma with irreversible airway obstruction**

*I.M. Lapteva, O.N. Kharevich,  
N.A. Porakhonko, E.A. Lapteva*

Patients with severe asthma tend to have impaired lung function and irreversible airway obstruction. Decreased reversibility of airway obstruction can lead to lower sensitivity of these patients to standard therapy. Recent studies have indicated that long-acting anticholinergic drugs (tiotropium bromide) can be used not only in patients with chronic obstructive pulmonary disease, but also in asthma patients as an addition to standard therapy.

The study of the effectiveness of tiotropium bromide was held in 18 patients with severe uncontrolled asthma who received high-dose inhaled corticosteroids in combination with long-acting  $\beta_2$ -agonists and demonstrated irreversible airway obstruction. All patients were receiving 18  $\mu\text{g}$  of tiotropium bromide daily in addition to the standard therapy within 3 months. After 3 months of treatment FEV1 improved significantly (from 55.5 (50–59) to 60 (54–65),  $p < 0.001$ , Wilcoxon test) as well as the level of asthma control (ACQ-5 value decreased from 2.9 (2.6–3.0) to 1.8 (1.6–2.0),  $p < 0.001$ , Wilcoxon test).

Addition of long-acting anticholinergic drug to the standard therapy (high-dose inhaled corticosteroids in combination with long-acting  $\beta_2$ -agonists) in patients with severe uncontrolled asthma with irreversible obstruction can reduce asthma symptoms and improve the lung function.

*Fields of application:* therapy, pulmonology.

*Offers for cooperation:* consultative assistance in the implementation into practice.

УДК 616.98:576.872.2]:57.063.8

#### **Молекулярная характеристика штаммов *M. tuberculosis* в г. Минске**

*О.М. Залуцкая, М. Вийкандер,  
Е.М. Скрягина, С. Хоффнер, Г.Л. Гуревич,  
Е.Р. Сагальчик, Л.К. Суркова*

**Рубрика: 76.29.53**

*НИИР:* «Разработать тест-систему для молекулярной экспресс-идентификации и мониторинга лекарственной устойчивости к противотуберкулезным лекарственным средствам резервного ряда (фторхинолонам)

при множественно лекарственно-устойчивом туберкулезе».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук Л.К. Суркова.

*Организация-соисполнитель:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучение распространения различных генетических семейств среди лекарственно-чувствительных и множественно лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от пациентов с туберкулезом легких в г. Минске.

Штаммы *M. tuberculosis* были выделены от пациентов с туберкулезом органов дыхания в Республиканской референс-лаборатории ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии». Выделенные культуры были протестированы на чувствительность к противотуберкулезным лекарственным средствам (ПТЛС) 1 ряда методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена с использованием следующих критических концентраций: INH 1 мкг/мл, RIF 40 мкг/мл, EMB 2 мкг/мл и SM 4 мкг/мл. Для включения в исследование были отобраны штаммы, устойчивые как минимум к INH и RIF. Всего в исследование было включено 163 клинических изолята, в т. ч. 81 МЛУ штамм и 82 штамма, чувствительных ко всем ПТЛС. Молекулярную характеристику изолятов проводили методом сполиготипирования в Шведском институте по контролю за инфекционными заболеваниями (Стокгольм).

В результате исследования было установлено, что генотипическая структура штаммов, циркулирующих в г. Минске, отличается от европейской. В г. Минске по сравнению с Европой значительно более высок удельный вес штаммов, относящихся к семейству Beijing, а также штаммов, не описанных в международной базе данных. Удельный вес штаммов, относящихся к кластерам, и размер наиболее распространенных кластеров были значительно выше среди изолятов от пациентов с МЛУ-ТБ, что указывает на более выраженную трансмиссию определенных клонов *M. tuberculosis* среди пациентов с МЛУ-ТБ по сравнению с пациентами с лекарственно-чувствительным ТБ. Два основных клона, а именно клон T1 (SIT 266) и Beijing (SIT 001), были ответственны за подавляющее большинство всех случаев МЛУ-ТБ. Эти две группы были обнаружены в 30,9 и 40,7% всех клинических МЛУ-ТБ штаммов соответственно. Что касается семейства T1, то эти данные новые, ранее не сообщалось, что этот генотип в целом и специфический кластер SIT 266 ассоциированы с МЛУ. Таким образом, полученные нами данные являются совершенно новой и неожиданной находкой. Среди чувствительных штаммов отмечался небольшой уровень кластеризации, за исключением Beijing (SIT 001), обнаруженного в 31,7% случаев. Среди чувствительных штаммов также был обнаружен еще один редкий сполиготип Beijing (SIT 265).

Обнаружено также различие в количестве штаммов с уникальными паттернами сполиготипов. Среди МЛУ

штаммов только 13 изолятов из 81 (16,0%) имели уникальную модель сполиготипа по сравнению с 23 из 82 (28,0%) чувствительных штаммов.

Для исследования возможного общего источника инфекции или эпидемиологической связи 25 пациентов с МЛУ-ТБ, выделяющих штаммы МБТ, относящиеся к SIT 266, были проанализированы истории болезни данных пациентов. Четкая связь между пациентами не была установлена. Среди пациентов было 19 мужчин и 6 женщин, родившихся между 1946 и 1992 гг. ВИЧ-статус известен для 20 пациентов, все они были ВИЧ-отрицательными. У троих мужчин в анамнезе было лишение свободы. Отсутствие четкой связи между этими 25 пациентами показывает, что кластер SIT 266 не связан с одной определенной вспышкой ТБ, а скорее представляет собой активно распространяющийся лекарственно-устойчивый кластер, вызывающий новые случаи заболевания МЛУ-ТБ.

Полученные нами данные указывают на то, что проблема МЛУ-ТБ в г. Минске, где почти каждый второй бактериовыделитель инфицирован МЛУ штаммом МБТ, в большей степени связана с трансмиссией МЛУ штаммов и недостаточным инфекционным контролем, чем с неадекватным лечением или недостаточной приверженностью лечению, являющихся причиной развития приобретенной лекарственной устойчивости МБТ.

Высокий уровень кластеризации и присутствие двух больших кластеров среди клинических изолятов от пациентов с МЛУ-ТБ указывают на то, что основной причиной высокого уровня МЛУ-ТБ в г. Минске является трансмиссия МЛУ штаммов МБТ, принадлежащих к ограниченному числу специфических кластеров, в большей степени, чем развитие лекарственной устойчивости МБТ у пациентов, изначально инфицированных лекарственно-чувствительными штаммами.

Для предотвращения дальнейшей трансмиссии МЛУ штаммов необходима ранняя детекция случаев для своевременного назначения адекватных схем химиотерапии и применения необходимых мер инфекционного контроля.

*Область применения:* фтизиатрия, микробиология.

*Рекомендации по использованию:* методы могут быть внедрены в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Molecular characterization of *M. tuberculosis* strains in Minsk**

*O.M. Zalutskaya, M. Vykander, A.M. Skryagina, S. Hofner, H.L. Gurevich, E.R. Sagalchik, L.K. Surkova*

The aim of the study was to investigate the distribution of different genetic families of drug-susceptible and multi-drug resistant (MDR) strains of *M. tuberculosis* (Mtb), isolated from patients with pulmonary tuberculosis in Minsk. We found that wide spreading of MDR-TB in Minsk (almost every second isolated Mtb strain is MDR) is more possible to be connected with the transmission of MDR strains and inadequate infection control than to inadequate

treatment or poor adherence to treatment. Early detection of cases, timely administration of appropriate chemotherapy regimens and application of infection control measures is necessary for prevention of further transmission of MDR strains.

УДК 616-002.5-084.47-06-07:577.73]-053.2

#### **Молекулярно-генетический метод в диагностике осложнений БЦЖ-вакцинации у детей**

*Е.М. Скрягина, О.М. Залуцкая, М.И. Дюсьмикеева, Ж.И. Кривошеева, Н.С. Морозкина, Н.А. Емельянова, Л.К. Суркова*

**Рубрика: 76.29.53**

*НИИ:* «Разработать тест-систему для молекулярной экспресс-идентификации и мониторинга лекарственной устойчивости к противотуберкулезным лекарственным средствам резервного ряда (фторхинолонам) при множественно лекарственно-устойчивом туберкулезе».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук Л.К. Суркова.

*Организации-соисполнители:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»; УО «Белорусский государственный медицинский университет».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — мониторинг частоты осложнений вакцинации БЦЖ в Республике Беларусь в 2000–2012 гг., а также оценка эффективности молекулярно-генетического метода GenoTypeMTBC в диагностике данных осложнений.

Проанализированы статистические данные о частоте и структуре поствакцинальных осложнений в Республике Беларусь в 2000–2012 гг., а также данные медицинской документации 38 детей раннего возраста с поствакцинальными осложнениями, которым проведено оперативное вмешательство в клинике ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии», и из биологического материала выделена культура микобактерий. Выделенные культуры были идентифицированы с использованием GenoTypeMTBC.

В Республике Беларусь ежегодно вакцинируется около 100 тыс. детей. До недавнего времени число детей, лечившихся по поводу поствакцинальных осложнений, увеличивалось: с 5–13 человек в 1998–2004 гг. до 20–35 в 2005–2007 гг. и 46–75 в 2008–2009 гг.). Общее количество осложнений БЦЖ-вакцинации в 2007–2009 гг., когда была налажена более точная регистрация таких случаев, превысило количество заболевших туберкулезом детей в республике. С 2010 г. количество осложнений БЦЖ-вакцинации имеет тенденцию к снижению.

Основными видами БЦЖ-осложнений являются левосторонние лимфадениты и БЦЖ-оститы (более 70% детей), реже встречаются холодные абсцессы левого плеча и комбинированные поражения (БЦЖ-остит в сочетании с ограниченной диссеминацией, холодный абсцесс с подмышечным лимфаденитом).

В последние годы структура поствакцинальных осложнений ухудшается, в основном за счет увеличения удельного веса БЦЖ-оститов, что должно стимулировать поиск новых методов дифференциальной диагностики туберкулезного инфекционного процесса и поствакцинальных осложнений.

Случаи диагностики процесса в фазе абсцедирования, обызвествления, с различными осложнениями, а также через 6–12 мес. от начала заболевания свидетельствуют о несвоевременном выявлении патологии педиатрами по месту жительства. Проблема ранней диагностики и верификации диагноза осложнений вакцинации БЦЖ сохраняет свою актуальность не только в связи с увеличением их количества, но и с более тяжелым течением осложнений с наличием казеозного некроза, бактериовыделения. Культура *M. bovis* из отделяемого свищей и удаленных лимфоузлов выделяется у половины детей раннего возраста, прооперированных в клинике ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии».

Бактериологическое и морфологическое исследование операционного материала с последующей идентификацией выделенной культуры микобактерий с использованием молекулярно-генетического метода GenoType MTBC (Хайн-тест) позволяют достоверно верифицировать диагноз и определить тактику ведения пациентов с осложнениями вакцинации БЦЖ.

#### **Molecular method in the diagnostics of complicated BCG vaccination in children**

*A.M. Sktyagina, A.M. Zalutskaya, M.I. Dusmikeeva,  
G.I. Krivosheeva, N.S. Morozkina, N.A. Emelyanova,  
L.K. Surkova*

The aim of the study was to monitor the incidence of complications of BCG vaccination in the Republic of Belarus in 2000–2012 and evaluation of molecular method GenoType MTBC in the diagnosis of complications of BCG vaccination. The problem of early diagnosis and verification of the diagnosis of complications of BCG vaccination remains relevant not only due to the increase in their number, but also with more severe complications with the development of caseous necrosis. Bacteriological and morphological studies of surgical specimens with subsequent identification of the isolated culture of mycobacteria using molecular method GenoType MTBC (Hain-test) can reliably verify the diagnosis and determine the tactics for patients with complications of BCG vaccination.

УДК 616-002.5:579.873.21]-097(476)

#### **Распознавание паттерна и клеточный иммунный ответ на новые антигены *M. tuberculosis* у лиц, проживающих в Беларуси**

*Е.М. Скрыгина, Р. Ахмед, З.И. Рогова,  
В.В. Солодовникова, О.М. Залуцкая,  
А.Е. Скрыгин, М. Маер*

**Рубрика: 76.29.53**

**НИР:** «Разработать систему эпидемиологического аудита туберкулеза с широкой лекарственной устойчи-

востью возбудителя в республике и на этой основе усовершенствовать действующую систему эпиднадзора за лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза».

**Сроки выполнения НИР:** январь 2012 г. — декабрь 2013 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук Г.Л. Гуревич.

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — изучение биомаркеров, ассоциированных с ТБ, для разработки новых диагностических средств и улучшенных вакцин против ТБ.

Мы использовали пулы нескольких пептидов МБТ, связывающих главный комплекс гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС) класса II, на способность стимулировать продукцию  $IFN-\gamma$  *in vitro* с использованием образцов цельной крови от лиц, перенесших ТБ; пациентов с активным ТБ легких и практически здоровых лиц (контактировавших с ТБ инфекцией). Кроме того, в исследование также были включены 17 невакцинированных БЦЖ здоровых людей из Швеции. Показано, что выбранные пептиды экспрессируются в реплицирующихся бактериях (Rv0477c, Rv2940c, Rv1690, Rv1085c, Rv1886, Rv2962c, Rv2958c, Rv2957c), в нереплицирующихся бактериях (Rv2453c и Rv0477c, Rv2940c) и способны дифференцировать МБТ, НТМ и БЦЖ (Rv3019, Rv0066c, Rv3347c). Некоторые пептидные пулы (гликозилтрансферазы) чаще распознаются Т-клетками здоровых людей по сравнению с Т-клетками пациентов с ТБ, что дает возможность предположить, что они были сенсibilizированы МБТ. Кроме того, люди перенесшие ТБ, распознают более широкую панель пептидов по сравнению с двумя другими группами. Это указывает на то, что ответ на специфические микобактериальные антигены персистирует у лиц, излечившихся от легочного ТБ (клеточный ответ долговременной памяти).

Одна из стратегий в разработке новых диагностических методов и улучшения дизайна противотуберкулезной вакцины включает в себя идентификацию биомаркеров для защиты и новых мишеней Т-клеток. Особый интерес представляет гликозилтрансфераза, которая участвует в клеточном метаболизме и образовании липидов. Было показано, что гены гликозилтрансферазы способствуют выживанию МБТ в макрофагах. Интересно, что пептидные пулы Rv2957c, Rv2958 и Rv2962c более широко распознавались Т-клетками практически здоровых лиц, контактировавших с ТБ инфекцией, по сравнению с пациентами с ТБ легких.

Другие пулы пептидов Rv0477c из белков МБТ, участвующих в формировании липидов и синтезе жирных кислот, индуцировали продукцию  $IFN-\gamma$  в большинстве МНПК от пациентов, страдающих ТБ (73%).

Миколовые кислоты представляют собой основной компонент комплекса микобактериальной клеточной стенки, обеспечивают первую линию обороны против потенциально летальных условий окружающей среды. Медленнорастущие патогенные микобактерии, такие как МБТ, модифицируют миколовые кислоты циклопропанацией, которое является общим мембраномодифицирующим свойством бактерий и растений и необходимо для жизнеспособности, лекарствен-

ной устойчивости и целостности клеточной стенки, что играет важную роль в патогенезе ТБ.

Показано, что химическое ингибирование миколовых кислот метилтрансферазами летально для МБТ, вызывает изменения в структуре клеточной стенки и лекарственной чувствительности. Таким образом, Rv0477c может представлять собой интересную мишень для разработки новых антибиотиков против МБТ. Обнаруживаемая клеточная реакция на Rv0477c, хоть и ограниченная, также была установлена для здоровых шведских лиц. Вполне возможно, что иммунное распознавание этого антигена частично вызвано контактом или инфекцией НТМ, поскольку миколовые жирные кислоты присутствуют также у других микобактерий. Эта точка зрения подтверждается нашим наблюдением, что конститутивно- и антиген-специфическая продукция IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF может быть обнаружена внутриклеточным окрашиванием CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток приматов до вакцинации БЦЖ, тем не менее, БЦЖ приводит к сильной экспансии полифункциональных Т-клеток. Необходимы дальнейшие эксперименты с использованием Т-клеток от животных, находящихся в стерильных условиях, для оценки значения НТМ и их роли в обеспечении иммунологического матрикса, что в дальнейшем может расширить стратегии вакцинации от ТБ.

Несмотря на отсутствие в настоящее время точно установленной корреляции с защитой от микобактериальной инфекции, продуцирующие IFN- $\gamma$  Т-хелперы I, как полагают, играют важную роль в защите от ТБ. Это исследование сфокусировано на INF- $\gamma$  и показывает наличие различий в продукции IFN- $\gamma$  между разными изучаемыми группами. В данный момент мы не можем определить была ли изученная в данном исследовании продукция IFN- $\gamma$  обусловлена несколькими прививками БЦЖ или контактом с МБТ в Беларуси.

В данном исследовании мы также сравнили клеточный иммунный ответ на антигены МБТ у здоровых людей из Швеции и Беларуси. Количество респондеров на каждый антиген было выше и продукция IFN- $\gamma$  была сильнее в группе лиц из Беларуси. Разница между группами скорее всего является отражением состояния окружающей среды, поскольку Швеция является низкоэндемичной по ТБ страной в отличие от Беларуси, где бремя ТБ высоко. Более того, люди из Беларуси получили до 3 прививок БЦЖ, которые могли изменить иммунный ответ на протеины МБТ. Ни один из шведских субъектов не был вакцинирован БЦЖ и не имел установленного риска контакта с ТБ.

Туберкулиновая кожная проба является основным методом диагностики латентной ТБ-инфекции во многих странах, но она не в состоянии различить вакцинацию БЦЖ и реакции, вызванные инфекцией МБТ. В настоящем исследовании выявлено, что у некоторых пациентов с положительным результатом микроскопического исследования на КУБ иммунологические тесты (ПМ и QFT-GIT) давали отрицатель-

ный результат. В трех случаях бактериологически подтвержденного ТБ исследование IGRA дало отрицательный результат. У всех лиц с ТБ с положительным результатом ПМ были получены положительные результаты IGRA. Расхождение между иммунологическими и бактериологическими исследованиями скорее всего связано с неполной функциональностью Т-клеток у пациентов с ТБ.

Показано, что МНПК от практически здоровых лиц из Беларуси и от перенесших ТБ пациентов распознают более широкую панель антигенов МБТ по сравнению с МНПК от пациентов с ТБ, как определено по продукции IFN- $\gamma$ . Индивидуальные антигены МБТ активно распознавались полифункциональными Т-клетками у МНПК приматов.

Полученные данные показывают, что скрининг с выбранным пептидным пулом имеет результатом выявление биологически важных мишеней МБТ, например, циклопропановой синтазы жирных кислот и гликозилтрансферазы, которые могут быть потенциальными мишенями для диагностики ТБ и оценки эффективности вакцины БЦЖ.

*Область применения:* фтизиатрия, иммунология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в противотуберкулезных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Pattern recognition and cellular immune responses to novel antigens of *M. tuberculosis* in residents of Belarus**

*A.M. Skryagina, R. Akhmed,*

*Z.I. Rogova, V.V. Solodovnikova, A.M. Zalutskaya,*

*A.E. Skryagin, M. Maer*

There were the identified differences in *M.tb* target peptide recognition between the test groups, i.e. a frequent recognition of antigens associated with lipid metabolism, e.g. cyclopropane fatty acyl phospholipid synthase. The pattern of peptide recognition was broader in blood from healthy individuals and those recovered from TB if compared to individuals suffering from pulmonary TB. Detection of biologically relevant *M.tb* targets was confirmed by staining for intracellular cytokines (IL-2, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ ) in T cells from non-human primates (NHPs) after BCG vaccination.

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from healthy individuals and those recovered from TB recognized a broader spectrum of *M.tb* antigens if compared to patients with TB. The nature of the pattern recognition of a broad panel of *M.tb* antigens will help to work out better strategies to treat tuberculosis.

УДК 616-002.5:615.015.6

**Современные принципы диагностики и лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью**

*Е.М. Скрягина, Г.Л. Гуревич, О.М. Залуцкая,  
А.Е. Скрягин, М.И. Дюсьмикеева, А.П. Астровко,  
В.В. Солодовникова*

**Рубрика: 76.29.53**

*НИР:* «Разработать систему эпидемиологического аудита туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя в республике и на этой основе усовершенствовать действующую систему эпиднадзора за лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2012 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка и внедрение новых подходов к диагностике, лечению, регистрации пациентов, больных туберкулезом (ТБ), в т. ч. множественно/широко лекарственно-устойчивым туберкулезом (МЛУ/ШЛУ-ТБ) и ВИЧ-ассоциированным туберкулезом (ТБ/ВИЧ).

Использование быстрых методов для ранней диагностики МЛУ-ТБ крайне необходимо в первую очередь для всех начинающих повторный курс лечения. Установление устойчивости к рифампицину (R) и/или МЛУ с использованием быстрых методов является основанием для представления пациента на Консилиум по МЛУ-ТБ и назначения эмпирического режима лечения по категории IV до получения результатов тестов на лекарственную чувствительность (ТЛЧ) на жидких или плотных средах, после чего режим лечения при необходимости корректируется.

Новым подходом является эмпирическое лечение, которое надо начинать до подтверждения МЛУ-ТБ в случаях тяжести заболевания, наличия факторов риска и отсутствия результатов быстрых методов диагностики.

Химиотерапия (ХТ) пациентов с МЛУ-ТБ (IV категория) проводится с использованием противотуберкулезных лекарственных средств (ПТЛС) второго ряда. Разработан новый стандартный режим ХТ для Республики Беларусь, учитывающий результаты исследований по надзору, международный опыт и рекомендации ВОЗ, основанный на принципах доказательной медицины и результатах лечения более 9000 пациентов с МЛУ-ТБ.

Длительность курса ХТ пациентов с МЛУ составляет не менее 20 мес. На основании анализа эффективности лечения пациентов с МЛУ-ТБ оптимальной длительностью лечения в интенсивной фазе ХТ признано 8 мес. вместо 6. Длительность лечения в интенсивной фазе связана с использованием инъекционных ПТЛС второго ряда (Km, Am или Cm), которые обязательно используются в схемах ХТ пациентов с МЛУ-ТБ в течение 8 мес., но не менее 3–4 мес. после наступления абациллирования по данным посева.

Пересмотр схемы лечения требуется в случаях, когда не достигается конверсия мокроты к 4-му мес. лечения или если после абациллирования у пациента вновь появляется бактериовыделение, установленное методом микроскопии или посева. В этом случае повторно проводится ТЛЧ, в режим лечения добавляют как минимум 2 ПТЛС. На основе ТЛЧ режим лечения может не меняться, но если он меняется, то следует добавлять по крайней мере 2 или при возможности 3 новых эффективных ПТЛС. Необходимо своевременно выявлять и купировать побочные реакции ПТЛС.

Высокий уровень ШЛУ-ТБ, установленный в результате исследования по надзору, обусловил необходимость разработки новых подходов к лечению данной категории пациентов.

Лечение пациентов с МЛУ-ТБ лучше начинать в специализированном стационаре для своевременного выявления побочных реакций и проведения корригирующего лечения. В связи с высоким уровнем МЛУ-ТБ особого внимания требует предотвращение распространения МЛУ-ТБ среди медицинского персонала, а также перекрестного инфицирования лекарственно-устойчивыми МБТ пациентов, находящихся в том же стационаре, для чего необходимо обеспечить строгие меры инфекционного контроля: изоляция пациентов с бактериовыделением, установленным методом бактериоскопии и/или культуральным методом; обязательное использование медперсоналом респираторов в изоляторах, где лечатся пациенты с заразными формами МЛУ-ТБ; использование пациентами-бактериовыделителями хирургических масок при выходе за пределы изолятора; запрещение использования для пациентов с МЛУ-ТБ ингаляционных методов лечения, бронхологического обследования, а также методов респираторной поддержки и ИВЛ (данные процедуры могут применяться только по строгим показаниям при условии возможности использования разовых материалов, закрытого контура, микробных фильтров, современных методов стерилизации аппаратуры).

Лечение пациента необходимо начинать только при наличии ПТЛС на весь курс лечения. После абациллирования, установленного методом посева или микроскопии, лечение пациента можно продолжать амбулаторно при условии контролируемого приема ПТЛС в соответствии с назначенным режимом лечения.

В связи с длительными сроками лечения МЛУ-ТБ необходимым условием повышения приверженности лечению является тесное сотрудничество с пациентом и его родственниками.

Хирургическое лечение осуществляется в случаях отсутствия положительной динамики туберкулезного процесса на фоне лечения лекарствами второго ряда и при отсутствии противопоказаний. Целью оперативного лечения является удаление очага инфекции. Вопрос о хирургическом вмешательстве следует рассматривать в следующих случаях: высокая вероятность неудачного исхода лечения или в случае ШЛУ; наличие тяжелых осложнений, связанных с поражением легочной парен-

химы (кровохарканье, бронхоэктазы, бронхоплевральный свищ, эмпиема); возобновление бактериовыделения на фоне химиотерапии МЛУ-ТБ; поражения легкого, которые не исчезают на фоне полноценной химиотерапии МЛУ-ТБ и могут привести к рецидиву (фиброзные полости или ограниченные участки поражения легочной ткани — туберкулемы). Хирургическое вмешательство оптимально проводить на начальной стадии лечения, при этом желательно добиться абациллирования по мазку еще до проведения операции. На фоне оперативного лечения пациент должен получать 4–6 ПТЛС. До операции усиливается режим лечения, как минимум добавляется инъекционный ПТЛС, прием которого после операции продолжают в зависимости от сроков абациллирования. У пациентов с бациллярностью на момент операции или выделения культуры МБТ из операционного материала последующее лечение должно продолжаться не менее 18 мес. от даты абациллирования. У небациллярных пациентов на момент операции и без выделения культуры МБТ из операционного материала последующее лечение должно продолжаться, пока не пройдет минимум 18 мес. после даты абациллирования, но не менее 6 мес. после операции.

Вопрос о прекращении лечения решается при сохранении бациллярности в течение 2 мес. после 8-месячного лечения в интенсивной фазе или возобновлении бактериовыделения, невозможности назначить хотя бы 4 ПТЛС, к которым сохранена чувствительность МБТ, и/или утяжелении клинического состояния (потеря веса, дыхательная недостаточность, непереносимость ПТЛС и др.) Необходимо быть уверенным в том, что все ПТЛС принимались надлежащим образом, а хирургическое вмешательство невозможно. Таким образом, лечение прекращается только в тех случаях, когда исчерпаны все возможности, и его продолжение приводит к ухудшению качества жизни пациента и вызывает амплификацию ЛУ, что увеличивает риск заражения окружающих практически неизлечимыми формами ТБ.

Установлены новые клинические показания к назначению симптоматического лечения: модель лекарственной устойчивости, при которой невозможно назначить как минимум 4 эффективных ПТЛС; полная непереносимость назначенной схемы лечения при невозможности купировать побочные эффекты ПТЛС; неприверженность лечению (более 3 отрывов от лечения в анамнезе); не менее 2 предыдущих исходов лечения, зарегистрированных как «неудача».

Распространение ТБ/ВИЧ в последние годы становится одним из серьезных препятствий для успешной борьбы с туберкулезом, что требует применения новых подходов к диагностике, профилактике и лечению данной категории пациентов. Необходимо принимать во внимание тот факт, что уровень М/ШЛУ-ТБ среди пациентов с ТБ/ВИЧ значительно превышает аналогичный показатель в общей популяции как среди вновь выявленных, так и среди ранее леченных пациентов. В совместной борьбе с ТБ/ВИЧ ВОЗ рекомен-

дует внедрить три «И»: интенсивное выявление ТБ у ВИЧ-инфицированных пациентов с использованием быстрых методов диагностики, обеспечение доступности ТЛЧ, в т. ч. с использованием быстрых методов; изониазид-профилактика; инфекционный контроль в противотуберкулезных организациях, где проводится лечение ТБ/ВИЧ.

*Область применения:* фтизиатрия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в противотуберкулезных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### Modern principles of multidrug-resistant tuberculosis diagnosis and treatment

*A.M. Skryagina, H.L. Gurevich, A.M. Zalutskaya,  
A.E. Skryagin, M.I. Dusmikeeva, A.P. Astrovko,  
V.V. Solodovnikova*

The article describes the current epidemiological situation of multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) in the Republic of Belarus and offers the new approaches to the diagnostics and treatment of MDR-TB based on the experience of the Republican TB program and the recommendations of leading international experts in the field of MDR-TB fighting. Implementation of new approaches lets to reduce the time needed for diagnostics and treatment of MDR-TB and to increase its efficiency.

УДК 616.24-007.272-036.12-036.82/84

### Способ определения реабилитационного потенциала у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

*Л.В. Лицкевич*

**Рубрика: 76.29.53**

*НИР:* «Разработать и внедрить метод интенсификации базисной терапии больных бронхообструктивными заболеваниями на основе изучения кардио-респираторных резервов и диффузионной способности легких».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2009 г. — декабрь 2011 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук И.М. Лаптева.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — выявить особенности патогенетических механизмов формирования и прогрессирования ХОБЛ и разработать экспертно-реабилитационные подходы для объективизации и уменьшения последствий данного заболевания у пациентов.

Актуальность разработки новых подходов к медицинской реабилитации (МР) и экспертизе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) обусловлена ее высокой распространенностью, постоянно прогрессирующим течением и растущим уровнем заболеваемости ею во всем мире, приводящим к инвалидизации

и смертности лиц трудоспособного возраста (Шмелев Е.И., 2007). В Республике Беларусь насчитывается более 60000 пациентов с ХОБЛ, доля которых составляет более 60% в структуре смертности от болезней органов дыхания. Инвалидность от ХОБЛ занимает 9-е ранговое место в структуре инвалидности от всех причин (Лаптева И.М., 2007). К 2020 г. ВОЗ прогнозирует дальнейший рост заболеваемости и смертности ХОБЛ (Rabe K.F., 2007) Имеются единичные работы, в которых освещены вопросы оценки реабилитационного потенциала (РП) и прогнозирования исходов стационарного лечения (Глотов А.В., 2008; Косарев В.В., 2006; Белова Г.В., 1993) у пациентов с ХОБЛ. Медико-социальная значимость изучаемой проблемы, низкая выживаемость пациентов с ХОБЛ определяет высокую актуальность проведения медико-социальной экспертизы и МР для снижения инвалидизирующих последствий и повышения качества жизни.

На протяжении 2005–2010 гг. в комплексное клинично-функциональное исследование было вовлечено 236 пациентов, в т.ч. 120 пациентов с ХОБЛ, которым проводилась экспертно-реабилитационная диагностика, базисная терапия и мероприятия МР (основная группа); 60 пациентов с ХОБЛ, которым проводилась базисная терапия (первая группа сравнения), а также 56 здоровых доноров (вторая группа сравнения). Критериями включения в основную и первую группу сравнения являлись: пациенты до 75 лет с легкой, среднетяжелой, тяжелой и крайнетяжелой ХОБЛ согласно классификации АГО/ЕРО (GOLD, 2007). Для экспертно-реабилитационной диагностики пациенты основной группы (n = 120) были разделены на 4 подгруппы по степени тяжести ХОБЛ, которые были сопоставимы по полу, возрасту, наличию факторов риска и имели инвалидизирующие нарушения различной степени выраженности. Экспертно-реабилитационная диагностика базировалась на определении функциональных классов (ФК), которые отражали состояние функции органов дыхания и клинично-функциональных параметров кардиореспираторной системы, которые ранжировали по 5-балльной шкале, принимаемой за 100. На основании имеющихся нарушений определяли ограничения жизнедеятельности (ОЖ), которые также ранжируются по ФК: от отсутствия (ФК 0) до наличия резко выраженного ОЖ или полной утраты какой-либо способности (ФК 4) (Смычек В.Б., 2003, 2010). Всех пациентов с ХОБЛ с ограничением способности к передвижению, участия в труде, самообслуживания относили к одному из ФК согласно разработанным критериям. При поступлении всем пациентам определялся реабилитационный потенциал (РП) и реабилитационный прогноз — степень реализации РП (Смычек В.Б., 2005).

Для построения линейной математической модели определения реабилитационного потенциала у пациента с обострением ХОБЛ проводили ранжирование наиболее информативных факторов по степени их значимости. Результаты представлены в табл.

Таблица

Ранжирование факторов ХОБЛ по степени их значимости и коэффициенты корреляции показателей

Фактор	Коэффициент корреляции, r	Значимость фактора
ОФВ <sub>1</sub>	-0,93421	-0,0189
ТШХ	-0,82432	-0,0034
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ	-0,73492	-0,0099
ПСВ	-0,66902	-0,0054
MRC	0,654799	0,0741
ЖЕЛ	-0,61367	-0,0073
ИПФЗ	-0,46818	-0,0029

С помощью дифференцированной модели линейной регрессии была построена регрессионная модель определения реабилитационного потенциала у пациента с обострением ХОБЛ:

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i x_i$$

или

$$Y = 5,84 - 0,005 \times X_1 - 0,01 \times X_2 - 0,009 \times X_3 - 0,007 \times X_4 - 0,003 \times X_5 - 0,002 \times X_6 + 0,07 \times X_7,$$

где Y — реабилитационный потенциал (РП);

X<sub>1</sub> — пиковая скорость выдоха (ПСВ);

X<sub>2</sub> — объем форсированного выдоха за 1 с (ОФВ<sub>1</sub>);

X<sub>3</sub> — соотношение объема форсированного выдоха за 1 с к форсированной жизненной емкости легких (ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ);

X<sub>4</sub> — жизненная емкость легких (ЖЕЛ);

X<sub>5</sub> — дистанция в тесте с 6-минутной ходьбой (ТШХ);

X<sub>6</sub> — интегральный показатель физического здоровья (ИПФЗ);

X<sub>7</sub> — степень выраженности одышки в баллах (MRC).

Интерпретация данных при значениях реабилитационного потенциала:

- 2,0–2,99 — высокий;

- 3,0–3,99 — средний;

- 4,0–4,99 — низкий;

- 5,0 и более — отсутствие реабилитационного потенциала, неблагоприятный прогноз для выживаемости в течение 1–3 лет.

Информационная значимость модели составила 95%, p < 0,05.

Использование рекомендаций ЕРО (GOLD, 2007) позволило сформировать модель определения реабилитационного потенциала у пациента с обострением ХОБЛ, проживающих в Республике Беларусь:

$$\text{РП} = 5,84 + (-0,005 \times \text{ПСВ}) + (-0,01 \times \text{ОФВ}_1) + (-0,009 \times \text{ОФВ}_1/\text{ФЖЕЛ}) + (-0,007 \times \text{ЖЕЛ}) + (-0,003 \times \text{ТШХ}) + (-0,002 \times \text{ИПФЗ}) + 0,07 \times \text{MRC}. (2)$$

Исследования позволили выделить четыре уровня реабилитационного потенциала при ХОБЛ.

*РП высокий.* Отсутствуют нарушения функции органов дыхания или появляются начальные признаки ХДН, имеются клинические признаки хронической правожелудочковой недостаточности (ХСН<sub>I</sub> ст.). Обычно это пациенты с повышенным риском первичной инвалидности. У них могут возникать редкие обострения (до 2 раз в год) заболевания легких с непродолжительной временной нетрудоспособностью (до 2 недель). Они должны находиться на диспансерном учете. Данные спирометрии вне обострения соответствуют норме. ТФН высокая. Клинический прогноз хороший. Эффект МР значительный. Трудовая направленность и возможность ее коррекции высокая. Профессиональная пригодность сохранена. Имеется возможность переобучения в определенных показанных профессиях и рационального трудоустройства.

*РП средний (умеренный).* Появляются признаки нарушения функции органов дыхания за счет обструкции дыхательных путей (ДН I; I-II ст.) до 3–4 раз в году, удлиняется продолжительность периодов временной нетрудоспособности до 3–4 недель. Проявляются первые признаки нарушения функции сердечно-сосудистой системы (ХСН). Может выявляться и сопутствующее заболевание. Пациент состоит на диспансерном учете, но профилактическое лечение не проводится. Обращается к врачу при ухудшении состояния. При функциональном исследовании (с нагрузочными тестами) выявляются умеренные отклонения от физиологической нормы, снижение показателей спирометрии до 50% от должных. Толерантность к физической нагрузке средняя. Клинический прогноз благоприятный. Пациент может быть ограниченно трудоспособным. Трудовая направленность и возможность ее коррекции остается высокой или частично снижена, поэтому можно рекомендовать продолжать работу либо сменить ее на более легкую. Имеется возможность переобучения.

*РП низкий.* Возникает значительное нарушение функции органов дыхания (ДН II ст.), которое связано с частыми обострениями патологического процесса в легких (более 4 раз в году) с длительной, более 4–6 недель, временной нетрудоспособностью. Признаки хронической правожелудочковой недостаточности с выраженными изменениями в миокарде, ХСН<sub>I-II</sub> ст. Имеются сопутствующие заболевания. Течение патологического процесса в легких неблагоприятно из-за того, что пациент не состоит на диспансерном учете и не получает профилактического лечения. При обострении ХОБЛ амбулаторное и стационарное лечение малоэффективно, т. к. проводится короткими курсами. При функциональном исследовании выявляются выраженные изменения — показатели спирометрии снижены более чем на 50% от должных значений, толерантность к физической нагрузке низкая. Клинический прогноз неблагоприятный на ближайшие 2 года. Эффект МР незначительный даже при адекватном отношении к болезни и лечению. Трудовая направленность снижена. Затруднено трудоустройство на производстве. Про-

фессиональная пригодность ограничена или сохранена только в специально созданных условиях. Может выполнять надомные виды труда. Возможность переобучения в показанной профессии ограничена по состоянию здоровья.

*РП отсутствует.* У пациентов с выраженными патологическими изменениями в легких, с выраженным нарушением их функции (ХДН II–III ст.) отмечается выраженный синдром взаимного отягощения. Выражено нарушение функции сердечно-сосудистой системы (ХСН<sub>IIA</sub>–ХСН<sub>IIIB</sub> ст.). Наступает стойкая утрата трудоспособности (II или I группа инвалидности). Физическая и умственная работоспособность низкая. Комплексное амбулаторное лечение малоэффективно, результативность стационарного лечения незначительная. Показатели спирометрии не превышают 30% от должных величин, незначительная физическая нагрузка приводит к выраженной одышке. Прогноз неблагоприятный. Трудовая направленность отсутствует. Отрицательная установка на труд. Профессиональная пригодность утеряна в связи со стойкой утратой трудоспособности, отсутствует возможность переобучения. Труд противопоказан.

*Результаты определения реабилитационного потенциала и прогноза у пациентов с ХОБЛ.* У пациентов с ХОБЛ на стадиях прогрессирования выявлено закономерное снижение относительной частоты встречаемости пациентов с высоким реабилитационным потенциалом в 1-й подгруппе 0,7 (95% ДИ: 0,878–1,0), во 2-й — 0,23 (95% ДИ: 0,099–0,423), в 3-й — 0,03 (95% ДИ: 0,147–0,494), 4-й — 0,1 (95% ДИ: 0,227–0,594). Данные свидетельствуют о том, что большинства пациентов с ХОБЛ I имеется хороший клинический прогноз, в процессе МР достигается значительный эффект, отмечается высокая трудовая направленность и возможность ее коррекции, а также сохранение профессиональной пригодности. Отмечен рост относительной частоты встречаемости пациентов с средним реабилитационным потенциалом по мере утяжеления ХОБЛ в 1-й подгруппе — 0,23 (95% ДИ: 0,008–0,221), во 2-й — 0,5 (95% ДИ: 0,021–0,265), в 3-й — 0,6 (95% ДИ: 0,038–0,307). Данные свидетельствуют о проявлении на этом этапе ХОБЛ первых признаков хронической правожелудочковой недостаточности, благоприятном клиническом прогнозе, ограниченной трудоспособности, высокой (или частично сниженной) трудовой направленности, высокой (или частично сниженной) возможности ее коррекции и возможности переобучения у более 50% пациентов с ХОБЛ II, III. Низкий реабилитационный потенциал был определен у пациентов 4-й подгруппы с относительной частотой 0,4 (95% ДИ: 0,225–0,626), что подтверждало неблагоприятный клинический прогноз на ближайшие 2 года, возможное отсутствие или незначительный результат при проведении мероприятий МР у пациентов с ХОБЛ IV ( $\chi^2 = 38,12$ ;  $p = 0,0001$ ) по сравнению с контролем.

*Интегральная оценка реабилитационного прогноза, включающая медицинские, психологические и социальные факторы реабилитантов.* Выявлен благоприят-

ный реабилитационный прогноз у пациентов с ХОБЛ, относительная частота которого составила: в 1-й подгруппе — 0,83 (95% ДИ: 0,878–1,0), во 2-й — 0,6 (95% ДИ: 0,099–0,423), в 3-й — 0,4 (95% ДИ: 0,227–0,594), в 4-й — 0,29 (95% ДИ: 0,147–0,494). Это позволяло прогнозировать высокую эффективность мероприятий МР на ранних стадиях ХОБЛ. Определен неблагоприятный реабилитационный прогноз лишь у 13,3% пациентов с ХОБЛ, относительная частота которого составила: в 1-й подгруппе — 0,07 (95% ДИ: 0,008–0,221), во 2-й — 0,1 (95% ДИ: 0,021–0,265), в 3-й — 0,23 (95% ДИ: 0,099–0,423), в 4-й — 0,13 (95% ДИ: 0,038–0,307). Это было связано с отсутствием у пациентов с ХОБЛ трудовой направленности, отрицательной установки на труд и стойкой утратой профессиональной пригодности.

Наблюдался статистически значимый ( $\chi^2 = 38,12$ ;  $p = 0,0001$ ) рост сомнительного реабилитационного прогноза при прогрессировании ХОБЛ с 0,10 (95% ДИ: 0,021–0,265) в 1-й подгруппе до 0,57 (95% ДИ: 0,374–0,745) в 4-й подгруппе, что свидетельствует об отсутствии эффективности реабилитационных мероприятий для восстановления утраченных функций, делающих неблагоприятным прогноз для жизни в течение ближайших 2 лет у пациентов с крайне тяжелым течением ХОБЛ.

*Область применения:* пульмонология, терапия, медицинская экспертиза и реабилитация.

*Рекомендации по использованию:* по результатам НИР получен патент на изобретение Республики Беларусь № 17003 «Способ определения реабилитационного потенциала у пациента с обострением хронической обструктивной болезни легких». Результаты исследования внедрены в работу пульмонологического отделения ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии».

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **The method for determination of rehabilitation potential in patients with chronic obstructive pulmonary disease**

*L. V. Litskevich*

The author did a multivariate statistical regression analysis and has developed a prognosing model for determination of rehabilitation potential in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Using the prognosing model of stages and outcomes of COPD lest to detect COPD, to predict the duration of exacerbations in patients at the stages of progression, to identify invalidisation violations and to conduct adequate treatment and rehabilitation activities.

*Field of application:* pulmonology, therapy, medical expertise and rehabilitation.

*Recommendations for use:* the authors received a patent for the invention № 17003 "Method of rehabilitation potential in patients with exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease". The research results have been introduced in to practice in the Research Practical Centre of Pulmonology and Tuberculosis.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 616.24-002.5:616.89-008.441.13-099

### **Туберкулез на фоне хронической алкогольной интоксикации: структура летальности, причины смерти и морфологические особенности**

*Л.К. Суркова, М.И. Дюсьмикеева, В.С. Артюшкевич, М.К. Недзведь, Е.М. Скрагина*

**Рубрики: 76.29.53; 76.33.43**

*НИР:* «Определить медицинские и социальные детерминанты, влияющие на лечение пациентов с туберкулезом легких».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2013 г. — декабрь 2014 г.

*Организации-соисполнители:* ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»; Государственная служба медицинских судебных экспертиз; УО «Белорусский государственный медицинский университет».

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучение структуры летальности и причин смерти при сочетании туберкулеза легких и хронической алкогольной интоксикации и выявление особенностей патоморфологических изменений органов дыхания при алкогольной интоксикации.

Структура летальности и причины смерти при сочетании туберкулеза легких и алкогольной интоксикации изучены на материале 130 патологоанатомических вскрытий, проведенных в клинике ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии». На материале 120 судебно-медицинских вскрытий изучены патоморфологические изменения органов дыхания при остром отравлении этиловым алкоголем и хронической алкогольной интоксикации.

Алкогольная болезнь и хронический алкоголизм в сочетании с туберкулезом установлен на аутопсийном материале у 19 умерших, что составило 14,6%. Основной причиной смерти пациентов при сочетании туберкулеза с алкоголизмом явилось прогрессирование туберкулезного процесса в 52,6% наблюдений. Второе место среди причин смерти заняла алкогольная полиорганная недостаточность — 21,0%.

При одновременном заболевании туберкулезом легких и алкоголизмом отмечается взаимное влияние и утяжеление их течения. С одной стороны возникают распространенные формы туберкулеза легких с обширной деструкцией легочной ткани, гематогенной диссеминацией и массивным бактериовыделением, а с другой стороны наблюдается более тяжелое течение алкоголизма с частым развитием алкогольного гепатита и острой алкогольной энцефалопатии, что заставляет отдавать последнему предпочтение при определении основного заболевания (у 25,0% умерших с сочетанной патологией туберкулеза и алкогольной болезни). Высокий процент выявления алкогольной болезни на материале патологоанатомических вскрытий умерших пациентов при наличии сочетанной патологии свиде-

тельствует, что злоупотребление алкоголем привлекает внимание врачей, когда у пациента при жизни развивается хронический алкоголизм с физической и психической зависимостью и выраженными психическими расстройствами, но не учитывается злоупотребление алкоголем, ведущее к развитию алкогольной болезни, но не сопровождающееся зависимостью и выраженной психической симптоматикой.

В современных социально-экономических условиях целесообразно в работе по раннему выявлению лиц, больных туберкулезом с социальной дезадаптацией, сделать акцент на выявлении и лечении алкогольной болезни с привлечением наркологов на ранней стадии (стадии «пьянства»), характеризующейся возможностью обратного развития морфологических изменений во внутренних органах, что в конечном итоге будет способствовать более полноценному излечению.

Патоморфология острого отравления этиловым алкоголем может протекать по типу алкогольной и гипогликемической комы и токсического шока, которые характеризуются расстройством кровообращения на микроциркуляторном уровне и проявляются в виде полнокровия сосудов, повышения проницаемости сосудистой стенки, плазматического пропитывания артериол, мелких артерий, интраальвеолярного отека и кровоизлияний, отека межклеточной ткани. Наблюдается нарушение реологических свойств крови в виде стаза, агрегации эритроцитов, тромбоза сосудов.

Туберкулез на фоне хронической алкогольной интоксикации характеризуется прогрессирующим течением с экссудативно-некротической реакцией.

В структуре летальности туберкулеза при хронической алкогольной интоксикации преобладают казеозная пневмония и диссеминированный туберкулез, частота которых составляет 47,3 и 31,5% соответственно, что в 3,2 и 1,3 раза превышает частоту этих форм в структуре летальности туберкулеза без таковой.

При сочетании туберкулеза и хронической алкогольной интоксикации основной причиной смерти у 21,0% умерших является алкогольная полиорганная недостаточность.

В основе патоморфологических изменений органов дыхания при алкогольной интоксикации лежат расстройства кровообращения в системе микроциркуляции.

Острое отравление и хроническая интоксикация этиловым алкоголем, являясь единым процессом, характеризуются однотипными изменениями, зависящими от степени алкоголизации и длительности злоупотребления алкоголем. К ним относятся выраженное венозное полнокровие легочной паренхимы, диапедезные периваскулярные и интраальвеолярные кровоизлияния, дистония сосудов, расширение и разрыв капилляров межальвеолярных перегородок, стаз в микроциркуляторном русле, повышение проницаемости сосудистой стенки, выпотевание плазмы из сосудов в окружающие ткани, плазматическое пропитывание стенки артерий, плазморрагии.

При хронической интоксикации, которая проявляется легочной формой алкогольной болезни, на первый план выходят острые и хронические воспалительные

процессы органов дыхания в виде трахеита, бронхита, очаговой и крупозной пневмонии.

Несмотря на неспецифичность патоморфологических изменений органов дыхания, они могут быть использованы в совокупности с другими признаками для патоморфологической диагностики острой и хронической алкогольной интоксикации.

*Область применения:* патологическая анатомия, фтизиатрия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в патологоанатомических бюро и противотуберкулезных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### **Tuberculosis on the background of chronic alcohol intoxication: structure of mortality, causes of death and morphological features**

*L.K. Surkova, M.I. Dusmikeeva, V.S. Artushkevich, M.K. Nedzved, A.M. Skryagina*

The bases of pathological changes in the respiratory alcohol intoxication are circulatory disorders in the microcirculatory system. Tuberculosis with chronic alcohol intoxication is characterized by a progressive course with exudative necrotic reaction. Caseous pneumonia and disseminated tuberculosis prevail in the structure of tuberculosis mortality in chronic alcohol intoxication. The leading cause of death in 21.0% of deaths is alcohol multiple organ failure.

УДК 616-002.5:615.015.6](476)

### **Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью в Республике Беларусь: ситуационный анализ**

*Е.М. Скрягина, О.М. Залуцкая, В.В. Солодовникова, Г.Л. Гуревич, А.П. Астровко, О.М. Калечиц, М.И. Дюсьмикеева*

**Рубрика: 76.29.53**

*НИР:* «Разработать систему эпидемиологического аудита туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя в республике и на этой основе усовершенствовать действующую систему эпиднадзора за лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2012 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — ситуационный анализ основных аспектов проблемы множественно лекарственно-устойчивого туберкулеза (МЛУ-ТБ) в Республике Беларусь — эпидемиологической ситуации по МЛУ-ТБ в стране; быстрая диагностика, лечение и ведение МЛУ-ТБ; обеспечение противотуберкулезными лекарственными средствами (ПТЛС); инфекционный контроль в противотуберкулезных организациях (ПТО); мониторинг и

оценка противотуберкулезных мероприятий.

В настоящее время в республике проводится тестирование чувствительности МБТ к ПТЛС I и II ряда всем пациентам с туберкулезом с бактериовыделением, что обеспечивает выявление всех случаев МЛУ-ТБ и дает возможность оценки существующей эпидемической ситуации по МЛУ-ТБ и ее развития в динамике. Беларусь является одной из 27 стран мира с высоким бременем МЛУ-ТБ. Удельный вес МЛУ-ТБ среди новых и ранее леченных случаев туберкулеза ежегодно нарастает. По данным исследования по надзору, доля МЛУ-ТБ среди вновь выявленных пациентов с ТБ и среди пациентов, получавших ранее лечение ПТЛС, составила соответственно 32,3% (ДИ 95%: 29,7–35,0) и 75,6% (ДИ 95%: 72,1–78,85). Это является самым высоким показателем МЛУ-ТБ во всем мире, зафиксированным документально среди стран, проводивших исследования по надзору за ЛУ МБТ. Доля ШЛУ-ТБ среди пациентов с МЛУ-ТБ составила 11,9% (ДИ 95%: 9,7–14,6). Оценочное число новых случаев МЛУ-ТБ в Беларуси составляет примерно 3100 (2300–4000) в год.

В Республике Беларусь используются быстрые методы диагностики: LPA и GeneXpert. Использование молекулярно-генетических методов обеспечивает получение результата в короткие сроки (до 2-х дней) в отличие от бактериологического исследования, требующего от 14 до 56 дней, что позволяет в краткие сроки назначить адекватную схему лечения и изолировать эпидемически опасного пациента. Эти виды исследования доступны для пациентов республики. Использование быстрых методов диагностики включено в диагностический алгоритм, регламентированный Клиническим руководством по лечению туберкулеза и его лекарственно-устойчивых форм (приказ МЗ РБ № 939 от 22.08.2012) и Руководством по лабораторной диагностике туберкулеза (приказ МЗ РБ № 377 от 22.03.2013).

В настоящее время в Республике Беларусь лечение пациентов с МЛУ-ТБ проводится в соответствии с Клиническим руководством. Каждый пациент с МЛУ-ТБ должен представляться на Республиканский/областной консилиум по МЛУ-ТБ для определения тактики лечения. Соблюдение назначенных схем и длительности приема ПТЛС является необходимым условием эффективного лечения. В Республике Беларусь используются режимы лечения пациентов с МЛУ-ТБ (стандартный и индивидуальные), разработанные с учетом международного опыта в соответствии с рекомендациями ВОЗ и основанные на принципах доказательной медицины.

По данным ВОЗ, эффективность лечения пациентов с МЛУ-ТБ при своевременно назначенном адекватном длительном лечении составляет 75%, при этом для пациентов с ШЛУ-ТБ эффективность лечения гораздо ниже (30–40%). Лечение МЛУ-ТБ длительное, курс ХТ составляет не менее 20 мес., в т. ч. интенсивная фаза — 8 мес. Практически у всех пациентов после начала приема ПТЛС развиваются побочные эффекты, требующие использования терапии сопровождения и негативно влияющие на приверженность пациентов к

лечению.

Эффективность лечения пациентов с МЛУ-ТБ в РБ составляет около 50%, что значительно ниже индикатора ВОЗ. Снижение эффективности лечения на фазе продолжения свидетельствует о проблемах в организации контролируемого лечения на амбулаторном этапе.

Ведение случая — это оказание пациенту лечебной и диагностической медицинской помощи на стадии диагностики, стационарном и амбулаторном этапах лечения. В Республике Беларусь лечение ТБ, в т. ч. лекарственно-устойчивого, бесплатное. Лечение ТБ как в стационаре, так и на амбулаторном этапе проводится под контролем медработников. Осуществляется социальная поддержка пациентов, находящихся на лечении, ведется работа групп по приверженности пациентов к лечению. Длительность лечения, особенно у пациентов с МЛУ-ТБ, наличие побочных эффектов от приема ПТЛС, отсутствие психологической поддержки и социальная дезадаптация оказывают негативное влияние на приверженность пациентов к лечению, особенно на амбулаторном этапе, и приводят к отрывам от лечения. Имеют место недостатки в организации контролируемого лечения на амбулаторном этапе. В обществе существует стигма по отношению к пациентам с ТБ. Формированию и поддержанию приверженности пациентов лечению способствуют проведение терапии сопровождения для купирования побочных эффектов при ХТ, постоянная работа с пациентами. Преодолению стигмы могут способствовать мероприятия, направленные на информирование населения о проблеме ТБ и МЛУ-ТБ.

В настоящее время во всех областях республики имеются в достаточном количестве ПТЛС I и II ряда с учетом 6-месячного буфера ПТЛС. Закупка ПТЛС I и II ряда осуществляется за счет республиканского и местных бюджетов в рамках Государственной программы «Туберкулез» на 2010–2014 гг. Кроме этого, ПТЛС поступают в республику в рамках гранта Глобального фонда для борьбы со СПИДом, туберкулезом и малярией. Серьезной проблемой в республике является отсутствие четко налаженной системы менеджмента ПТЛС. Недостатки в регистрации пациентов с МЛУ-ТБ не позволяют правильно рассчитать необходимое количество ПТЛС. Кроме того, препятствием для адекватного расчета потребности в ПТЛС является значительное количество отрывов от лечения и изменение схем лечения. Имеют местосложности в передаче излишков ПТЛС из одной области в другую, несогласованность распределения финансовых средств Государственной программы и Глобального фонда.

Инфекционный контроль (ИК) в противотуберкулезных организациях — это комплекс мероприятий, направленных на уменьшение трансмиссии туберкулеза. Мероприятия по ИК проводят на трех уровнях: на административном (для снижения риска передачи инфекции в учреждениях здравоохранения); инженерном (контроль состояния окружающей среды) и уровне индивидуальной защиты органов дыхания. Мероприятия по ИК регламентированы нормативным документом

(приказ МЗ РБ № 1151 от 11.12.2009). В областях республики проводится разделение потоков пациентов по стационарам и отделениям с учетом категории пациента (впервые выявленные, ранее леченные) и модели лекарственной устойчивости МБТ. Во всех стационарах проводится функциональное зонирование отделений по степени эпидемиологической опасности пациентов. В целях снижения трансмиссии штаммов МБТ сразу после абациллирования пациент выписывается из стационара. Исключение составляют стационары для принудительного лечения пациентов с туберкулезом. В стационарах проводится ремонт отделений для лечения пациентов с МЛУ-ТБ с оборудованием приточно-вытяжной вентиляции. Использование быстрых методов диагностики МЛУ-ТБ позволяет своевременно разделять потоки пациентов. В республике проводятся обучающие семинары по ИК. Недостатки административных мер по разделению потоков пациентов в стационарах способствуют трансмиссии МЛУ/ШЛУ-ТБ. Непригодность учреждений для принудительного лечения туберкулеза приводит к невозможности разделить потоки пациентов с разным спектром лекарственной устойчивости МБТ. Несоблюдение мер ИК медицинскими работниками существенно повышает риск нозокомиального инфицирования медперсонала МЛУ-ТБ.

Мониторинг — это непрерывный процесс наблюдения и регистрации параметров объекта в сравнении с заданными критериями. Оценка результатов позволяет измерить достижение непосредственных задач программы и помочь в принятии правильных решений в улучшении качества деятельности медицинской службы. В республике функционирует Республиканский регистр «Туберкулез», позволяющий вести персонализированный учет пациентов с МЛУ-ТБ. С января 2013 г. введен в эксплуатацию лабораторный компонент регистра, который позволяет проводить мониторинг результатов бактериологических исследований пациентов с ТБ. Своевременность и достоверность вносимой в регистр информации зависят от человеческого фактора. Отсутствие полной регистрации случаев МЛУ-ТБ привело к тому, что данные надзора отличались от данных рутинного мониторинга на 21%.

Ситуационный анализ основных аспектов проблемы М/ШЛУ-ТБ установил, что в республике созданы необходимые предпосылки для своевременной диагностики и эффективного лечения пациентов с МЛУ-ТБ: доступность быстрых методов диагностики, назначение адекватных схем лечения, наличие всех необходимых ПТЛС, контролируемое лечение на стационарном и амбулаторном этапах, разделение потоков пациентов по степени эпидемиологической опасности, мониторинг и оценка проводимых противотуберкулезных мероприятий. Имеющиеся проблемы в значительной мере решаются обучением и повышением мотивации сотрудников. Понимание основных аспектов проблемы МЛУ-ТБ специалистами по лечению лекарственно-устойчивого туберкулеза является предпосылкой к налаживанию контроля над МЛУ-ТБ в республике.

*Область применения:* фтизиатрия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в противотуберкулезных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: case study**

*A.M. Skryagina, A.M. Zalutskaya, V.V. Solodovnikova,  
H.L. Hurevich, A.P. Astrovko, A.M. Kalechits,  
M.I. Dusmikeeva*

Analysis of the main aspects of the problem of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) in the Republic of Belarus was conducted. There was investigated: the epidemiology of MDR-TB in the country, rapid diagnostics and treatment of MDR-TB patient and drug management, TB infection control in organizations, monitoring and evaluation of TB control activities. A situational analysis of the major aspects of M/XDR-TB revealed that the country created the necessary prerequisites for timely diagnosis and effective treatment of patients with MDR-TB, availability of rapid diagnostic methods, appointment of adequate treatment, availability of all necessary TB drugs, controlled treatment in inpatient and outpatient, departments division of the patients flow according to the degree epidemic risk, monitoring and evaluation of ongoing control activities. The problems were largely solved by training and increase of motivation of the staff.

УДК 616.24-002.5:[616.98:5878.828]-08

#### **Эффективность лечения пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом**

*А.П. Астровко, Е.М. Скрягина, Г.Л. Гуревич,  
Е.Н. Титкова, А.В. Богомазова, А.Ф. Белько,  
Е.Л. Бобрукевич, Д.А. Климух*

**Рубрики: 76.29.53; 76.33.43**

*НИР:* «Определить медицинские и социальные детерминанты, влияющие на лечение пациентов с туберкулезом легких».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2013 г. — декабрь 2014 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучение эффективности лечения пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом.

Были изучены данные результатов когортного анализа вновь выявленных случаев туберкулеза, зарегистрированных и начавших лечение в 2010 и 2011 гг.

Успешное лечение в 2010 г. установлено у пациентов с туберкулезом без сопутствующей ВИЧ-инфекции в 73,2% (95% ДИ: 71,8–74,6%), у пациентов с ВИЧ/ТБ — в 43,9% (95% ДИ: 71,8–74,6%), в т. ч. среди пациентов с бактериовыделением, подтвержденным бактериоскопически и культурально, — в 61,3% (95% ДИ: 58,4–64,1%) и 22,2% (95% ДИ: 11,1–33,3%) соответственно. Летальность у пациентов с туберкулезом без сопутствующей ВИЧ-инфекции составила

5,0% (95% ДИ: 4,3–5,6%), у пациентов с ВИЧ/ТБ — 25,8% (95% ДИ: 18,9–32,7%), в т. ч. среди пациентов с бактериовыделением, подтвержденным бактериоскопически и культурально, — 8,7% (95% ДИ: 7,1–10,4%) и 40,7% (95% ДИ: 27,6–53,8%) соответственно.

Успешное лечение в 2011 г. у пациентов с туберкулезом без сопутствующей ВИЧ-инфекции установлено в 72,1% (95% ДИ: 70,6–73,6%) случаев, у пациентов с ВИЧ/ТБ — в 44,8% (95% ДИ: 36,7%–52,9%), в т. ч. среди пациентов с бактериовыделением, подтвержденным бактериоскопически и культурально, — в 55,8% (95% ДИ: 52,7–58,9%) и 23,4% (95% ДИ: 16,6–30,3%) соответственно. Летальность у пациентов с туберкулезом без сопутствующей ВИЧ-инфекции составила 4,5% (95% ДИ: 3,8–5,2%), у пациентов с ВИЧ/ТБ — 23,4% (95% ДИ: 16,6–30,3%), в т. ч. среди пациентов с бактериовыделением, подтвержденным бактериоскопически и культурально, — 7,9% (95% ДИ: 6,3–9,6%) и 27,6% (95% ДИ: 16,1–39,1%) соответственно.

Таким образом, эффективность лечения по данным когортного анализа достоверно ниже ( $p < 0,001$ ) у пациентов с ВИЧ/ТБ, чем у пациентов, больных туберкулезом без сопутствующей ВИЧ-инфекции (успешное лечение в 2 раза ниже, а летальность выше в 5 раз).

*Область применения:* фтизиатрия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в работе противотуберкулезных учреждениях здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* совместное изучение данной проблемы.

### The effectiveness of treatment in patients with HIV/TB

*A.P. Astrovko, A.M. Skryagina, H.L. Gurevich,  
E.V. Titkova, A.U. Bogomazova, A.F. Belko,  
A.L. Bobrukevich, D.A. Klimuk*

Objective: to study the effectiveness of treatment in patients with HIV/TB.

We studied the results of cohort analysis of patients with HIV/TB compared with patients without HIV infection: in 2010 — 155 and 3717 cases, respectively, in 2011 — 145 and 3435 cases.

The effectiveness of treatment according to the cohort analysis was significantly lower ( $p < 0,001$ ) in patients with HIV/TB than in patients with tuberculosis without HIV co-infection (successful treatment is 2 times lower and the mortality rate is 5 times higher).

УДК 616.24/25-089:615.015.6

### Эффективность резекционных операций и экстраплевральной торакопластики с учетом спектра лекарственной устойчивости возбудителя и проводимой комплексной терапии

*В.Я. Кралько, Г.Л. Гуревич, Е.М. Скрягина,  
Н.В. Яцкевич, Д.И. Горенок, М.М. Голайдо*

Рубрика: 76.29.53

НИИР: «Разработать технологию оперативного ле-

чения и ведения больных мультирезистентным туберкулезом в условиях современной эпидемиологической ситуации».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2013 г. — декабрь 2017 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — определить наиболее эффективные подходы к проведению хирургического лечения, разработать схемы пред- и послеоперационной подготовки и химиотерапии пациентов с различными формами мультирезистентного туберкулеза.

Ретроспективно проанализированы эффективность и исходы лечения пациентов, которым было проведено хирургическое оперативное лечение туберкулеза с учетом спектра лекарственной устойчивости возбудителя и комплексной терапии.

В результате исследования сформированы 2 группы пациентов с МЛУ-ТБ, которым на фоне полихимиотерапии было проведено хирургическое лечение (торакопластика у 117 пациентов, резекционные оперативные вмешательства — у 84). Группы пациентов сопоставимы по полу, возрасту, наличию сопутствующей патологии и факторов риска. Для ретроспективного анализа эффективности лечения нами сформированы 2 группы сравнения, в которые вошли пациенты с МЛУ-ТБ без указанных операций.

В отобранных основных группах пациентов установлен низкий уровень послеоперационных осложнений (3 и 2,6% соответственно). Однако при оценке отдаленных результатов рецидивы в группе пациентов с резекцией установлены в 13,1% случаев, абациллирование после проведенных операций в течение 1 мес. достигнуто у 100% пациентов. В группе пациентов с 5–7-реберной торакопластикой рецидивы составили 74,4%. Абациллирование достигнуто у 64,9% в течение 4-х мес., а затем в течение 2-х последующих лет возобновилось у 18,8%.

При предварительном сравнительном анализе эффективности резекционных операций и экстраплевральной торакопластики у пациентов с МЛУ-ТБ выявлен высокий риск возникновения на фоне полихимиотерапии отрицательных долговременных эффектов у пациентов 2-й основной группы в виде рецидивов более чем у 70% пациентов, а также возобновления бактериовыделения в течение последующих 2-х лет у 18,8% на фоне низких послеоперационных осложнений и специфического шадящего характера оперативных вмешательств.

Подготовка пациентов в предоперационном периоде включает в себя комплексное обследование как в отношении оценки распространенности и прогрессирования туберкулезного процесса, так и наличия сопутствующей патологии. Необходимо провести оценку компенсаторно-приспособительных реакций, которые могут быть устойчивыми и неустойчивыми. Последние часто приводят к декомпенсации, при которой оперативного лечения опасно.

Показания к резекционным и коллапсохирургическим методам лечения туберкулеза, разработанные еще в середине XX в., актуальны и в настоящее время. Можно предположить, что для изменения пропорционального соотношения количества операций в сторону резекционных, как более физиологичных и способствующих снижению бремени бактериовыделителей в обществе, следует увеличить настороженность врачей-фтизиатров для обеспечения консультативной помощи хирурга в первой половине интенсивной фазы лечения, а также повысить оперативную активность торакальных хирургов.

*Область применения:* торакальная хирургия, фтизиатрия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть внедрены в торакальных хирургических отделениях противотуберкулезных учреждений здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Efficiency of operations and extrapleural resection thoracoplasty with regard to the range of drug resistance and complex therapy**

*V.J. Kralko, H.L. Gurevich, A.M. Skryagina,  
N.V. Yatskevich, D.I. Gorenok, M.M. Golaido*

Preliminary comparative analysis of the effectiveness of resection and extrapleural thoracoplasty in MDR-TB patients identified high risk of long-term adverse effects against the background of chemotherapy in patients of the main group, two in more than 70% of patients, the resumption of bacterial isolation for the next 2 years, 18.8% of low post-operative complications and the specific nature of the sparing surgery.

**БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

УДК 616.649-022.7: 579.887.111

**Диагностика и лечение инфекций урогенитального тракта, обусловленных *Mycoplasma genitalium*, с учетом молекулярно-биологических особенностей возбудителя**И.Г. Шиманская, С.А. Костюк, Т.В. Руденкова,  
Н.А. Бадьгина, О.С. Полуян, Т.А. Дейкун**Рубрики: 76.29.50; 76.29.48**

**НИИР:** «Разработать лечебную тактику ведения беременных с инфекциями урогенитального тракта, обусловленными *Mycoplasma genitalium*, с учетом молекулярно-биологических особенностей возбудителя».

**Сроки выполнения НИИР:** 01.01.2011 — 31.12.2013.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук С.А. Костюк.

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — создать практические рекомендации по диагностике и лечению инфекций урогенитального тракта, обусловленных присутствием *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*), с учетом молекулярно-биологических особенностей возбудителя.

В связи с тем, что традиционные бактериологические методы (культуральный и серологический) непригодны для рутинной диагностики инфекций, вызываемых *M. genitalium*, идентификация этого микроорганизма полностью основывается на методах амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). В большинстве ПЦР-тест-систем в качестве мишеней используются консервативные регионы гена адгезина *M. genitalium* MgPa и фрагменты гена 16S рРНК. Молекулярно-биологические методы анализа используются также для определения генетических детерминант устойчивости *M. genitalium* к применяемым группам антимикробных лекарственных средств (тетрациклины, макролиды, фторхинолоны).

Присутствие tet-M детерминанты устойчивости к тетрациклину в геноме *M. genitalium* обеспечивает возбудителю защиту бактериальной клетки от воздействия лекарственных средств тетрациклинового ряда путем изменения конформации рибосомы таким образом, что сродство антибактериального лекарственного средства к местам узнавания резко снижается. Выявление tet-M-детерминант может служить маркером резистентности возбудителя к антимикробным лекарственным средствам ряда тетрациклинов, а также основой при выборе рационального подхода к адекватной антибактериальной терапии.

Устойчивость к антибактериальным лекарственным средствам из группы макролидов у *M. genitalium* связана с нуклеотидными заменами в V домene гена 23S рРНК в позициях A2058, A2059 (*E. coli*). Более редкими являются нуклеотидные замены в положениях C2038 и A2062.

Антибактериальная активность фторхинолонов связана с их ингибирующим воздействием на топоизомеразу II типа, ДНК-гиразу (состоящую из двух GyrA и двух GyrB субъединиц) и топоизомеразу IV (состоящую из двух ParC и двух ParE субъединиц). Мутации в данных генах обуславливают формирование устойчи-

вости возбудителя к действию антимикробных лекарственных средств ряда фторхинолонов.

Наличие микроорганизмов, устойчивых к антибактериальным лекарственным средствам, заставляет или увеличивать дозу, или менять стратегию лечения. В связи с этим выявление у возбудителей маркеров устойчивости к антибиотикам является не менее важной задачей, чем обнаружение самих микроорганизмов.

Выбор лечебной тактики при инфекциях, обусловленных *M. genitalium*, должен быть основан на присутствии в урогенитальном тракте *M. genitalium* в форме моноинфекции или в составе ассоциации инфекционных агентов, т. е. микст-инфекции. Также необходимо учитывать концентрацию *M. genitalium*, при этом пороговая величина ДНК *M. genitalium* в биологическом материале находится на уровне  $10^3$  копий/мл.

Лечебная тактика при моноинфицировании *Mycoplasma genitalium*: доза антибактериального лекарственного средства зависит от концентрации возбудителя в образце:  $10^2$ – $10^3$  копий/мл — джозамицин 0,5–2 раза/сут 7 дней; концентрация возбудителя  $10^4$  копий/мл и более — джозамицин 0,5–3 раза/сут 7 дней.

Микст-инфицирование, как правило, сопровождается более высокими концентрациями возбудителя в урогенитальном тракте и требует более высоких доз антибактериальных лекарственных средств. Также необходимо учитывать состав ассоциации, т. к. лечение микст-инфекций, при которых в состав ассоциации наряду с бактериями входят простейшие (*T. vaginalis*, *G. vaginalis*), требует включения в схему терапии противопрозоидных лекарственных средств.

При выявлении комбинации возбудителей *M. genitalium* в сочетании *Ch. trachomatis*, *Ur. urealiticum*, *M. hominis*, бактериальный вагиноз применяется схема: джозамицин 0,5–3 раза/сут 7 дней, при сохранении лейкоцитоза в мазках отделяемого мочеполовых органов после завершения курса антибактериальной терапии назначается цефиксим по 400 мг 1 раз/сут 7 дней.

При микст-инфицировании *M. genitalium* в ассоциации с *T. vaginalis* лечение беременным проводится в сроке более 12 недель последовательно: метронидазол 500 мг 2 раза/сут 5 дней, затем джозамицин 500 мг 3 раза/сут 7 дней. Показаниями для лечения в сроке до 12 недель беременности являются угроза выкидыша, активное течение воспалительного процесса.

Лечебная тактика при рецидивах инфекций, обусловленных *Mycoplasma genitalium*, у беременных следующая: в случаях неэффективности антибактериальной терапии необходимо изучить генетические детерминанты, обуславливающие устойчивость *M. genitalium* к антимикробным лекарственным средствам группы макролидов, с применением методов молекулярно-биологического анализа (секвенирующая ПЦР).

Устойчивость к антибактериальным лекарственным средствам из группы макролидов у *M. genitalium* связана с нуклеотидными заменами в V домene гена

23S рНК в позициях A2058, A2059 (*E.coli*). При отсутствии нуклеотидных замен в указанных позициях возможно назначение повторного курса лечения лекарственными средствами группы макролидов.

Разработано учебно-методическое пособие «Диагностика и лечение инфекций урогенитального тракта, обусловленных *Mycoplasma genitalium*, с учетом молекулярно-биологических особенностей возбудителя» (Шиманская И.Г., Костюк С.А., Руденкова Т.В., Бадыгина Н.А., Полуян О.С., Дейкун Т.А., Минск, 2013).

**Diagnosics and treatment of urogenital tract infections, caused by *Mycoplasma genitalium*, taking into account molecular-biological features of the causative agent**

*I.G. Shimanskaya, S.A. Kostyuk, T.V. Rudenkova, N.A. Badygina, O.S. Poluyan, T.A. Deikun*

Antibacterial medicines in the therapy of various inflammatory diseases led to the growth of antibiotic-resistant microorganisms. Detection of genetic markers of *Mycoplasma genitalium* resistance to groups of antibacterial medicines (such as tetracyclines, macroleads, fluoroquinolones) helps to choose adequate medical tactics in order to eliminate the pathogenic agent. The choice of medical tactics during pregnancy should be rational and well-grounded to avoid health problems in mother and fetus.

УДК: 616.596-002.828-616.5-036.12]-08-031.84

**Способ местного лечения ониомикозов у пациентов с хроническими дерматозами**

*О.В. Панкратов, А.Л. Барабанов, Р.Ю. Шикалов, С.М. Тарасевич*

**Рубрика: 76.29.57**

**НИР:** «Оптимизировать методы диагностики и разработать новые методы лечения микотической инфекции и микотической сенсibilизации у пациентов с дерматозами».

**Сроки выполнения НИР:** 01.01.2011 — 31.12.2013.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф. О.В. Панкратов.

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — разработка способа местного лечения ониомикоза при наличии ограничений к системному применению антимикотиков, в частности, у пациентов с хроническими дерматозами (псориазом и экземой). Актуальность обусловлена широкой распространенностью ониомикоза как в популяции в целом, так и среди пациентов с дерматологическими заболеваниями. При этом частота ониомикозов у пациентов с псориазом и экземой намного выше, чем среди всего населения (с учетом факторов, облегчающих заражение). Микотическая инфекция способна оказывать отрицательное влияние на течение псориаза и экземы. Назначение основных системных антимикотиков как при псориазе, так и при экземе, может спровоцировать обострение дерматоза. Проблема усугубляется еще и

тем, что изменения ногтевых пластин при данных заболеваниях могут быть вызваны не только грибковой инфекцией, но и основным кожным процессом, что снижает эффективность местного лечения. Все упомянутое заставляет искать альтернативные способы терапии ониомикоза у пациентов с хроническими дерматозами.

Авторами впервые предложен способ местного лечения ониомикозов, позволяющий проводить терапию у лиц с ограничениями применения системных форм противогрибковых лекарственных средств, заключающийся в сочетании ликвидации патологически измененных участков ногтевой пластины и подногтевого гиперкератоза фрезой при помощи зуботехнического аппарата ежемесячно в процессе курса лечения и нанесения на ногтевое ложе 1% раствора тербинафина (ООО «Фармтехнология», Республика Беларусь), обладающего широким спектром противогрибкового действия, 2 раза в день в течение 4 мес.

Проведено лечение 19 пациентов с распространенным псориазом и 11 с распространенной экземой, у которых отмечались онихопатии и при лабораторном исследовании ногтя были выявлены патогенные грибы. Состояние ногтевых пластинок в процессе лечения оценивалось регулярно, во время ежемесячной аппаратной обработки ногтевых пластин, перед которой повторялись лабораторные исследования на выявление грибов. Тяжесть поражения ногтей до лечения и в ходе его оценивалась путем расчета индекса NAPSI при псориазе и Индекса тяжести поражения ногтей при экземе, разработанного по тому же принципу.

При оценке клинической эффективности отмечена хорошая переносимость раствора тербинафина: не зафиксировано случаев аллергических реакций и местного раздражающего действия, повлекших необходимость прекращения лечения. Аппаратная обработка позволяла одномоментно устранить большинство клинических проявлений ониомикоза и значительно улучшить внешний вид ногтевой пластинки, что весьма положительно воспринималось пациентами.

При проведении лечения в течение 4 мес. микологическое выздоровление было достигнуто у 42,1% пациентов с псориазом и 45,5% пациентов с экземой и сопутствующим ониомикозом. Клиническое улучшение (снижение значений NAPSI и Индекса тяжести поражения ногтей при экземе) отмечено у 86,7% пациентов. Ногтевые пластинки восстанавливались без явлений патологической гипертрофии.

Метод прост и удобен в применении, требует минимальных навыков медицинского персонала. Его использование не приводит к потере трудоспособности, не требует анестезии, обеспечивает хорошие косметические результаты и может применяться у пациентов с ограниченными возможностями ухода за ногтями (инвалиды, пожилые пациенты), а также при ограничении к приему системных противогрибковых лекарственных средств.

Отечественных аналогов метода не существует. Методы местного лечения ониомикоза, предложенные

зарубежными исследователями, рекомендуют длительное (в течение года) применение наружных антимикотиков без аппаратного удаления ногтевой пластинки с получением сравнимых клинических результатов, в то время как настоящий метод предполагает использование отечественного лекарственного средства более коротким курсом.

*Область применения:* дерматология, амбулаторный и стационарный этапы оказания специализированной помощи пациентам с онихомикозами, имеющими ограничения к применению системных антимикотиков.

*Рекомендации по использованию:*

1. Для лечения онихомикоза при наличии хронических дерматозов, а также иных ограничений к назначению системных антимикотических средств возможно местное применение раствора тербинафина в течение 4 мес. в сочетании с ежемесячной аппаратной обработкой ногтевых пластин фрезой.

2. Сочетание аппаратной обработки ногтевых пластин и местного применения раствора тербинафина позволяет в ряде случаев отказаться от приема системных антимикотических средств, что приводит к снижению риска нежелательных эффектов и стоимости лечения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.

#### Method of local treatment of onychomycosis in patients with chronic dermatoses

*O.V. Pankratov, A.L. Barabanov, R.Yu. Shikalov, S.M. Tarasevich*

There was developed a new method of onychomycosis treatment in patients with psoriasis and eczema based on the combined use of Belarusian terbinafine solution with the removal of the damaged part of nail plate. The duration of treatment course was 4 months, terbinafine 1% solution was applied twice a day, the abrasion of the damaged parts of nail plate was done once a month. 19 patients with widespread psoriasis and 11 patients with eczema underwent such treatment. All the patients had onychopathy with laboratory proved presence of pathogenic fungi. After the treatment the mycological recovery was achieved in 42.1% of patients with psoriasis and in 45.5% of patients with eczema. A considerable improvement of nail plate condition was observed in 86.7% of patients. During the therapy there were no cases of aggravation of patients' condition, no complications or side effects observed.

The method can be used for treatment of onychomycosis in patients with chronic dermatoses and other restrictions for application of systemic antimycotics.

*Field of application:* dermatology, inpatient and outpatient dermatological departments.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 616.36-003.826:614.8.026.1

#### Факторы риска и частота неалкогольной жировой болезни печени

*Н.Н. Силивончик, В.И. Голобородько, А.И. Ледник, И.В. Качар, Д.Ф. Одинец, И.А. Патурская, Л.М. Плотникова, Е.А. Воронко, Л.С. Бозуш, О.А. Жигальцова*

**Рубрика: 76.29.29**

*НИР:* «Оценка факторов риска и диагностика неинфекционных заболеваний в общей врачебной практике».

*Сроки выполнения НИР:* 01.01.2010 — 31.12.2012.

*Научный руководитель:* Н.Н. Силивончик.

*Источник финансирования:* тема инициативная.

*Цель* — оценка факторов риска и частоты неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) у работающих лиц промышленного предприятия. Исследование проводилось в ОАО «ММЗ им. С.И. Вавилова – управляющая компания холдинга «БелОМО» в 2010–2012 гг. (548 человек — 45,5% мужчин и 54,5% женщин в возрасте 18–59 лет) методом самоанкетирования с последующим лабораторно-инструментальным исследованием. У 344 обследованных (62,8% (95% ДИ: 58,7–66,9) имелось не менее одного из традиционных факторов риска НАЖБП — абдоминальное ожирение (АО), артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД). Из числа лиц с факторами риска НАЖБП установлена у 146 (42,4% от числа лиц с факторами риска или 26,6% от общего числа включенных в исследование), в т. ч. у 117 имелись признаки НАЖБП (стеатоза), у 29 — неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

Частота отдельных факторов риска у пациентов с НАЖБП представлена в табл. 1.

Таблица 1

Частота отдельных факторов риска у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени

Характеристики	Пациенты с НАЖБП, n = 146		
	n	%	95% ДИ
Абдоминальное ожирение (АО)	144 (29)	100	100
Сахарный диабет (СД)	73 (13)	50,0	42,0–58,0
Артериальная гипертензия (АГ)	130 (29)	89,0	83,9–94,1
Повышенный уровень триглицеридов (ТГ)	61 (7)	41,8	33,8–49,8
Сниженный уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП)	1 (0)	6,8	2,7–10,9

Каждый пациент с НАЖБП имел АО, около 90% страдали АГ и половина – СД. Проведен анализ ценности каждого из факторов риска в отношении НАЖБП, для чего рассчитывался риск НАЖБП при наличии каждого из факторов риска и их комбинаций (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительные риски неалкогольной жировой болезни печени при различных факторах риска заболевания

Факторы риска	НАЖБП	
	частота, % (95% ДИ)	RR по отношению к абдоминальному ожирению (95% ДИ)
АО как единственный фактор	8,2 (3,5–12,9)	–
АО + АГ	59 (47–71)	7,2 (4,0–12,8)
АО + АГ + СД	93 (85–100)	11,3 (6,6–19,3)
АО + АГ + повышенные ТГ и/или сниженные ХС-ЛПВП	92 (82–100)	11,2 (6,5–19,1)
АО + АГ + СД + повышенные ТГ и/или сниженные ХС-ЛПВП	97 (91–100)	11,8 (6,8–20,3)

При наличии АО частота НАЖБП составляет 8,2% (95% ДИ: 3,5–12,9). Сочетание абдоминального ожирения с АГ (2 фактора) повышает риск НАЖБП в 7,2 раза, а наличие трех и четырех факторов, один из которых АО — более чем в 11 раз.

Неалкогольная жировая болезнь печени является частой патологией у лиц трудоспособного возраста, ее тяжесть связана с числом признаков метаболических нарушений, являющихся факторами риска заболевания. Факторы риска представляют собой очевидные (абдоминальное ожирение) или несложно выявляемые (АГ, СД) состояния, надлежащее внимание к которым не только с позиции неблагоприятных кардиоваскулярных событий, но и вероятности НАЖБП позволит выявлять патологию печени.

*Область применения:* первичная медицинская помощь.

*Рекомендации по использованию:* скрининг заболеваний печени на уровне первичной медицинской помощи.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.

### Risk factors and frequency of non-alcoholic fatty liver disease

*N.N. Silivonchik, V.I. Goloborodko, A.I. Lednik,  
I.V. Kachar, D.F. Odinets, J.A. Patorskaya,  
L.M. Plotnikova, E.A. Voronko, L.S. Bogush, O.A. Zhigaltsova*

There was done the assessment of risk factors and frequency of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in the staff of industrial enterprise. Self-questioning revealed the risk factors in 548 people (204 men and 344 women, aged 18–59). Then people with risk factors were examined to reveal NAFLD. NAFLD risk factors (at least one) were revealed in 344 people (62.8%, 95% CI: 58.7–66.9). The most frequent were abdominal obesity (AO) and arterial hypertension (AH). NAFLD frequency was 146/344 (42.4%) in people with risk factors and 146/550 (26.6%) in all questioned people: 117 of them had NAFLD signs, 29 people had non-alcoholic steatohepatitis. The combination of AO with AH (2 factors) increases the risk of NAFLD by 7.2 times. Risk factors of NAFLD represent evident (abdominal obesity) or easily detectable (AH, DM) conditions. Proper attention to them (not only because of adverse cardiovascular events but the possibility of NAFLD) will help to detect liver pathology.

*Field of application:* primary health care.

*Recommendations for use:* screening of liver disease in the primary care.

*Offers for cooperation:* advisory assistance, collaborative research.

УДК 613:61-084-057.4

### Особенности здоровьесбережения лиц с высшим образованием

*В.И. Иванова, М.В. Щавелева, А.П. Романова*

**Рубрика: 76.01.11**

*НИР:* «Исследование здоровьесохраняющего поведения населения как фактор преодоления негативных демографических тенденций в Республике Беларусь».

*Сроки выполнения НИР:* 16.04.2013 — 31.03.2015.

*Научный руководитель:* М.В. Щавелева.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — дать сравнительную оценку здоровьесохраняющего поведения врачей-специалистов (далее врач) и лиц с высшим немедицинским образованием.

Лица с высшим образованием признают значимость поведенческих факторов риска для здоровья популяции. Врачи более значимо, чем другие лица с высшим образованием оценивают влияние поведенческих факторов риска на здоровье.

Значительная часть населения, в т. ч. лица с высшим образованием, не готова к полноценному контролю своего здоровья и факторов, его определяющих, в силу отсутствия определенных (базисных) знаний о показателях нормально функционирующего организма.

В исследовании была использована авторская анкета. Анкета прошла рецензирование в ГНУ «Институт социологии» НАН Беларуси.

Для сопоставления мнения врачей и лиц с высшим немедицинским образованием из 800 заполненных анкет были отобраны и созданы «копи-пары»: врач – респондент с высшим немедицинским образованием: всего 100. Условиями создания копи-пар были: наличие высшего образования, соответствие по полу, а также вхождение в аналогичный возрастной промежуток, который определялся «с шагом» в 10 лет.

В исследованных копи-парах врачи были более критичны к оценке собственного вклада в «личное здравосозидание»: они гораздо реже, чем прочие респонденты с высшим немедицинским образованием отме-

чали, что уделяют достаточно внимания своему здоровью (28,6 и 52,9 на 100 опрошенных в каждой группе,  $p < 0,01$ ), были более критичны в оценке своего веса (считали его избыточным на 100 опрошенных: 61,4 врача и только 31,4 лица группы сравнения). Чаще отвечали на вопросы об употреблении табачных изделий и спиртного, остальные респонденты данные вопросы игнорировали.

При оценке негативного влияния различных факторов на здоровье популяции врачи как наиболее важные определили факторы образа жизни: психоэмоциональный стресс, наличие вредных привычек и малоподвижный образ жизни; далее: экологические условия, материальное положение человека и наследственность.

Отобранная группа сравнения на первое место выдвигает экологические условия, далее следуют факторы образа жизни: вредные привычки, психоэмоциональный стресс, малоподвижный образ жизни. С такой же частотой, как психоэмоциональный стресс, этой группой оценивается «высокая стоимость лекарств» (5–6 ранговые места).

На вопрос о нормальных уровнях кровяного давления и сахара крови ответ был получен в 100% анкет врачей и соответственно в 80% (АД) и 58% (сахар) анкет группы сравнения. Вопрос о нормальном уровне холестерина вызвал затруднения у определенной части врачей (до 6%), а также у значительного числа участников группы сравнения (53 человека на 100 опрошенных). Еще один вопрос: о необходимом количестве овощей и фруктов остался без ответа у 12,9 на 100 опрошенных врачей и 53% группы сравнения. На незнание показателей своего организма представители группы сравнения указывали в 1,8 (для холестерина), в 4 раза (для АД) чаще, чем врачи.

Таким образом, в целом лица с высшим образованием признают значимость поведенческих факторов риска для здоровья популяции. При этом врачи более критичны к оценке собственного вклада в «личное здравоохранение» и выше оценивают влияние поведенческих факторов риска на собственное здоровье.

На сегодняшний день значительная часть населения не готова к полноценному контролю своего здоровья и факторов, его определяющих, в силу отсутствия определенных (базисных) знаний о показателях нормально функционирующего организма.

*Область применения:* общественное здоровье и здравоохранение, профилактическая медицина.

### Features of health care of people with higher education

*V.I. Ivanova, M.V. Schaveleva, A.P. Romanova*

The article analyzes the responses of 2 groups: physicians and people with higher non-medical education were asked about their health and the prevalence of certain behavioral risk factors. The significant part of the population, including people with higher education is not ready for full control over their health and the risk factors. They do not have basic knowledge of normal parameters of their organism functioning. Doctors estimate the influence of be-

havioral risk factors on health more than other people with higher education.

*Field of application:* public health and health care, preventive medicine.

УДК 616.132-018.74-091:616.153.915]-092.9

### Морфологические изменения эндотелиоцитов в мазках-отпечатках аорты крыс в различные сроки экспериментальной дислипидемии

*С.Г. Криворот, Т.Э. Владимирская, И.А. Швед*

**Рубрика:** 76.35.33

*НИИ:* «Разработать комплекс морфологических и биохимических критериев оценки дисфункции эндотелиоцитов аорты и коронарных артерий на ранних стадиях атерогенных нарушений (экспериментальное исследование)».

*Сроки выполнения НИИ:* 2011–2013 гг.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф. И.А. Швед, канд. биол. наук Т.Э. Владимирская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Эндотелий играет важную роль во многих физиологических и патофизиологических процессах сосудистой стенки. Морфологические признаки повреждения эндотелия все еще недостаточно раскрыты в литературе.

*Цель* — изучение гетерогенности эндотелия стенки аорты в условиях экспериментальной дислипидемии.

Для анализа гетерогенности эндотелия в различные сроки атерогенной диеты (15, 30, 60, 90 и 180 сут) применялись цитологический и морфометрический методы исследования ядер эндотелиальных клеток (ЭК). Исследуемый сосуд экспериментальных животных (крыс) тщательно промывали в солевом фосфатном буфере и получали мазки-отпечатки с интимальной поверхности сосуда, препараты окрашивали по Паппенгейму, изучение их и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа Leica DMLS.

При цитологическом исследовании непораженных участков аорт крыс в большинстве случаев в клетках эндотелия выявлялись типичные ядра, имеющие округлую или овальную форму. На 15-е сут атерогенной диеты отмечено наличие ЭК в виде пластов и единичных клеток. Форма и размеры ядер варьируют: ядра округлой, овальной, изогнутой формы, гиперхромные. Встречаются ядра с явлениями митоза и «голаядерные» ЭК. На 30-е сут эксперимента в отдельно лежащих ЭК и их группах появляются одноядерные клетки с крупными, перекрученными ядрами, с перетяжками и без. Хроматин равномерный компактный по всей площади, отдельные ядра содержали конденсированный хроматин. Ядрышки не просматривались, цитоплазма умеренная, местами скудная, контуры размыты, границы ее нечеткие, неровные. На 60-е сут эксперимента появлялись двуядерные ЭК, с компактным хроматином, отмечались борозды через все ядро, ядра бобовидной формы. Хроматин в большинстве клеток располагался равномерно, в некоторых ядрах – глыбчатый. На сроке 90 сут в отдельных местах мазка-

отпечаткапооявлялисьЭКс дегенеративными изменениями ядер. Цитоплазма при этом густая, интенсивно окрашена. Встречались единичныеЭК с признаками апоптоза (конденсация хроматина, округление ядра, фрагментация на отдельные апоптотические тельца). На 180 сут хроматин в ядрах, как правило, глыбчатый, наблюдались клетки с конденсированным ядром и цитоплазмой, которая в большинстве клеток четко очерчена, отмечалось появление вакуолей в цитоплазме клеток как отдельно лежащих, так и в пластах.

Морфометрическое исследование мазков-отпечатков аорт показало, что площадь ядер была достоверно выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем на 15, 30, 60, 90 сут эксперимента. На 180 сут отмечалось резкое уменьшение площади ядра в ЭК с приближением значений к контрольным ( $p > 0,05$ ). Отмечена умеренная обратная связь между увеличением срока эксперимента и сокращением площади ядра ( $r = -0,38$ ,  $p < 0,05$ ).

Установлено, что атерогенная диета в течение 15, 30, 60 и 90 сут сопровождается достоверным увеличением площади ядра ЭК у крыс по сравнению с контролем с максимальной величиной на 90 сут эксперимента, что может свидетельствовать о включении компенсаторных механизмов в ответ на утрату ЭК в результате их гибели по типу апоптоза.

*Область применения:* кардиология, патофизиология, клиническая лабораторная диагностика.

#### **Morphological changes of endotheliocytes in touch smears of rat aorta during various periods of experimental dyslipidemia**

*S.G. Krivorot, T.E. Vladimirskaia, I.A. Shved*

The Nuclear area was significantly ( $p < 0.05$ ) higher in comparison with the control one after atherogenic diet during 15, 30, 60 and 90 days of experiment. It can be the evidence of compensatory mechanisms in response to the loss of endothelial cells because of their apoptotic death.

*Field of application:* cardiology, pathophysiology, clinical laboratory diagnostics

УДК 616.314.18-026.613:616.314-74

#### **Способ изготовления цветокорректирующего винира с воссозданием цвета пульпы**

*И.К. Луцкая, Н.В. Новак, И.Г. Чухрай, Е.И. Марченко*

**Рубрика: 76.29.55**

*НИИР:* «Разработать и внедрить в практику методы эстетического восстановления твердых тканей постоянных зубов с полостями кариозного и некариозного происхождения».

*Сроки выполнения НИИР:* 01.01.2011 — 01.01.2013.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. И.К. Луцкая.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучение оптических характеристик тканей зуба, включающих влияние отраженного от пульпы света на формирование оттенков цвета зубов пациен-

тов различного возраста и разработка нового научно обоснованного способа изготовления цветокорректирующего винира с воссозданием цвета пульпы.

Результаты изучения коэффициентов диффузного отражения от поверхности депульпированных зубов и зубов с имитацией пульпы пациентов разных возрастных групп свидетельствуют о том, что твердые ткани зубов пропускают отраженный от пульпы свет, который участвует в формировании суммарного цвета зуба, влияет на интенсивность и оттенок его цвета. Коэффициент диффузного отражения зубов зависит от выраженности возрастных изменений тканей зуба, степени минерализации эмали и дентина, размеров полости и толщины стенки зуба. При прочих равных условиях зубы с «искусственной» пульпой имеют показатели коэффициентов отражения больше, чем эти же зубы без красителя ( $p < 0,001$ ). Наибольшие значения коэффициентов для таких зубов смещены в длинно-волновую область спектра — 575–625 нм, соответствующую красно-коричневому оттенкам. Различия нивелируются при уменьшении объема полости и утолщении стенок зуба. Чем старше пациент и больше степень минерализации эмали и дентина, тем существеннее вклад, вносимый красным светом, отраженным от пульпы, в оттенки цвета зуба (при неизменной полости зуба). Результаты исследования влияния пульпы на параметры отражения света от поверхности зубов пациентов различного возраста имеют не только научную новизну, но и практическую значимость. На их основе разработан способ изготовления цветокорректирующего винира с воссозданием цвета пульпы (патент на изобретение Республики Беларусь № 14860 «Способ эстетической реставрации зуба»).

При восстановительных работах на депульпированных зубах, которые могут приобретать темные насыщенные оттенки и терять естественный блеск, пациенту делают прицельный рентгеновский снимок с целью уточнения качества пломбировки корневых каналов в реставрируемом зубе, а также для измерения ширины и протяженности полости в симметричном зубе. В дальнейшем при выраженной полости зуба в соседнем витальном зубе в депульпированном зубе планируют воссоздать пульпу розовыми оттенками фотополимера. После снятия налета и определения цвета удаляют старый пломбировочный материал, препарировывают твердые ткани до истончения вестибулярной поверхности на толщину винира. Всю пигментированную вестибулярную поверхность реставрируемого зуба перекрывают опакующим композитом, имеющим светлый оттенок для предотвращения отражения света от измененных в цвете тканей. В центральной и пришеечной области зуба согласно проекции пульпы наносят фотополимерный материал красного цвета, имитируя пульпу зуба. Следующим слоем — опакующим фотополимером восполняется утраченный дентин. Опаковой основой восстанавливают объем утраченного дентина, далее вестибулярную поверхность покрывают эмалевым композитом. Выполненная таким методом эстетическая реставрация воссоздает оптические свойства и цвет зуба, при-

суший зубному ряду конкретного пациента.

Разработанный метод цветокоррекции зубов внедрен в работу стоматологических учреждений Республики Беларусь, полученные научные данные включены в учебные программы кафедры терапевтической стоматологии БелМАПО, используются в учебном процессе кафедр БелМАПО, БГМУ и ВГМУ.

#### **Method of creation of color-corrective veneer with the reconstruction of pulp color**

*I.K. Lutskaya, N.V. Novak, I.G. Chukhray, E.I. Marchenko*

The new method of creation of color-corrective veneer with the reconstruction of pulp color is presented in the article. It is based on scientific research of optical properties of teeth and the influence of light reflected from pulp on formation of tooth color.

*Field of application:* stomatology, the system of the higher medical and postgraduate education.

УДК 616.314.17-008.1-036.12-08:616.1/4

#### **Метод лечения хронического генерализованного пародонтита, протекающего на фоне общесоматической патологии**

*И.Г. Чухрай, Е.И. Марченко, Н.В. Новак, И.Л. Бобкова*

**Рубрика: 76.29.55**

*НИР:* «Разработка препаратов и высокочувствительных лазерно-оптических методов медицинской диагностики биотканей, определение критериев эффективности терапевтического воздействия факторов физической природы; создание научной базы лечебного применения препаратов и лазерно-оптической аппаратуры нового поколения».

*Сроки выполнения НИР:* 01.01.2011 — 31.12.2013.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, доц. Н.В. Новак.

*Организация-соисполнитель:* «Институт физики им. Б.И. Степанова» НАН Беларуси.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — исследование роста культуры лактобактерий, входящих в состав пробиотического лекарственного средства «Диалакт» (УП «Диалек», Республика Беларусь), под влиянием низкоинтенсивного красного и инфракрасного лазерного излучения и разработка нового научно обоснованного способа лечения хронического генерализованного пародонтита, протекающего на фоне общесоматической патологии.

Изучение роста культуры лактобактерий под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ) спектральных областей ~ 0,65, ~ 0,81, ~ 1,3 и ~ 2 мкм в дозе облучения 0,6 Дж/см<sup>2</sup> выявило селективность стимулирующего воздействия лазерного излучения на рост культуры *L. acidophilus* по отношению к длине волны. Зарегистрировано статистически значимое увеличение количества колоний лактобактерий при облучении пробиотической культуры низкоинтенсивным

лазером с длиной волны 0,65 мкм при плотности потока мощности 15 мВт/см и дозе облучения 0,6 Дж/см<sup>2</sup>.

Результаты изучения влияния излучения низкоинтенсивного лазера на культуру *L. acidophilus* имеют не только научную новизну, но и практическую значимость. На их основе разработан способ лечения хронического генерализованного пародонтита, протекающего на фоне общесоматической патологии (патент на изобретение Республики Беларусь № 16133 от 10.04.2012 «Использование пробиотика и низкоинтенсивного лазерного излучения в терапии хронического пародонтита у пациентов с общесоматической патологией»).

При хроническом генерализованном пародонтите, протекающем на фоне общесоматической патологии, отмечается резкое снижение количества лактобактерий в содержимом пародонтального кармана. Разработанный нами новый метод лечения хронического пародонтита у пациентов с соматической патологией, включающий традиционную терапию в сочетании с местным использованием пробиотика и НЛИ, позволяет повысить концентрацию *L. acidophilus* в содержимом пародонтальных карманов до нормальных значений, что коррелирует с улучшением клинических показателей состояния тканей пародонта.

Способ реализуется следующим образом. После мотивации пациента, обучения индивидуальной гигиене полости рта и проведения профессиональной гигиены в каждый пародонтальный карман на ватных турундах вводят лекарственное средство «Диалакт» в разведении -3 (10<sup>6</sup> КОЕ/мл) с экспозицией 5 мин трехкратно. Общее время воздействия пробиотика в области одного кармана составляет 15 мин. После извлечения последней турунды осуществляют облучение. Излучатель — лазерный диод (номинальная длина волны излучения в максимуме — 650 нм, мощность — 5 мВт), генерирующий в непрерывном режиме. Методика облучения контактная. Физические параметры: низкоинтенсивное лазерное излучение в красном диапазоне спектра, мощность — 5 мВт, ППМ ~ 15 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция — 40 с. Курс лечения — 10 сеансов.

#### **Method of treatment of chronic generalized periodontitis in combination with the somatic pathology**

*I.G. Chukhray, E.I. Marchenko, N.V. Novak, I.L. Bobkova*

The paper presents a new method of treatment of chronic generalized periodontitis combined with the somatic pathology. It is based on scientific studies of the culture of lactobacilli under the influence of low-intensity red and infrared laser radiation.

*Field of application:* stomatology, the system of the higher medical and postgraduate education.

УДК 616.329/.33-018.73-001.48-072.1

### Метод эндоскопического лазерного гемостаза у пациентов с синдромом Мэллори–Вейса

*А.В. Воробей, Е.А. Матвеева, Н.А. Лагодич,  
Т.Э. Владимирская*

**Рубрика: 76.29.39**

*НИИР:* «Совершенствование и разработка малоинвазивных способов диагностики, лечения и профилактики в абдоминальной и гнойной хирургии».

*Сроки выполнения НИИР:* 2011–2013 гг.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.В. Воробей.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Синдром Мэллори–Вейса (СМВ) относится к числу остро развивающихся заболеваний и характеризуется выраженным пищеводно-желудочным кровотечением из острых продольных разрывов слизистой оболочки абдоминального отдела пищевода или кардии.

В настоящее время экстренная эндоскопия является основным методом лечения СМВ. Обладая достаточно высокой эффективностью, данный метод позволяет осуществить временный гемостаз у подавляющего числа пациентов. Разработаны различные методики эндоскопического воздействия на источник кровотечения: инъекционный метод, электрокоагуляция, лазерная и аргоно-плазменная коагуляция, клипирование, лигирование. Тем не менее в доступной литературе встречаются разные мнения о степени эффективности этих методов эндоскопического гемостаза, нет данных о влиянии различных способов гемостаза на дальнейшую эпителизацию слизистой оболочки в месте разрыва. В связи с этим нами была поставлена задача провести анализ особенностей лазерного воздействия на эпителизацию поврежденной в эксперименте слизистой оболочки пищеводно-желудочного перехода кроликов и сравнить его с электрокоагуляционным и инъекционным воздействием препарата этанола 70%.

*Цель* — анализ особенностей репарации поврежденной в эксперименте слизистой оболочки пищеводно-желудочного перехода кроликов в зависимости от метода гемостаза.

*Сущность:* выполненное нами экспериментальное исследование доказало, что наиболее быстрая и полная регенерация тканей при моделировании кровотечения из травматического разрыва кардиоэзофагеальной слизистой оболочки происходит, когда гемостаз выполняется бесконтактным методом, а именно лазерной коагуляцией. Преимущество имеет лазер с длиной волны 1440 нм. Наименее благоприятное течение репарации по данным морфологического исследования происходит после гемостаза, выполненного склерозантом –70% этанолом. Морфологические изменения характеризуются обширной зоной некроза с распространением повреждения на мышечную оболочку вплоть до формирования ее восковидного некроза и отсутствием к 7-м сут каких-либо признаков репарации. Учитывая вышесказанное нами был разработан и внедрен в кли-

ническую практику метод эндоскопического лазерного гемостаза у пациентов с синдромом Мэллори–Вейса. При этом новый метод обоснован патоморфологическим анализом полученных в экспериментальном исследовании препаратов. Кроме того, при использовании лазерного излучения для остановки кровотечения можно отметить следующие несомненные преимущества по сравнению с электрокоагуляцией:

1. Бесконтактный способ воздействия: во-первых, он исключает «прилипающий» момент во время коагуляции, когда вместе с электродом с поверхности кровоточащего участка удаляется коагуляционный струп; во-вторых, исключается механический компонент воздействия на стенку органа, предотвращая его перфорацию, особенно при сильном прижатии.

2. Возможность дозирования необходимой для остановки кровотечения энергии.

3. В отличие от электрокоагулятора лазер хорошо работает в водной среде, которая является хорошим проводником для лазерного излучения. Подачу лазерной энергии можно осуществлять одновременно с подачей воды через рабочий канал эндоскопа, что позволяет лучше визуализировать кровоточащий участок (сосуд) и точно в цель направлять луч для адекватной остановки кровотечения.

4. При использовании лазерного излучения вследствие испарения жидкости из тканей отмечаются сморщивание и уменьшение в размерах дефектов повреждений, что приводит к сдавлению и тромбированию сосудов.

Предлагаемая методика обеспечивает наиболее благоприятное течение репарации слизистой оболочки пищевода и кардии. Лучшая визуализация места кровотечения и отсутствие «прилипающего» момента во время коагуляции создает удобство в работе врача-эндоскописта.

*Новизна:* впервые выполнено комплексное морфологическое исследование с анализом особенностей репарации поврежденной в эксперименте слизистой оболочки пищеводно-желудочного перехода кроликов в зависимости от метода гемостаза. С учетом полученных данных предложен новый метод эндоскопического лазерного гемостаза у пациентов с синдромом Мэллори–Вейса.

*Преимущества предлагаемого способа:* предлагаемая методика эндоскопического лазерного гемостаза обеспечивает наиболее благоприятное течение репарации слизистой оболочки пищевода и кардии. Предложенная авторами методика эндоскопического гемостаза с использованием современной отечественной лазерной установки удобна для врача-эндоскописта, имеет несомненные преимущества по сравнению с другими методами (например, электрокоагуляцией) и позволяет добиться эффективного гемостаза с минимальной травмой для пациента.

*Вид патентной защиты:* уведомление о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение «Способ моделирования синдрома Мэллори–Вейса» а20131190 от 14.10.2013.

*Область применения:* хирургия.

*Рекомендации по использованию:* разработана инструкция по применению «Метод эндоскопического лазерного гемостаза у пациентов с синдромом Мэллори–Вейса» № 080-0813 от 05.10.2013.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении разработанного метода в клиническую практику.

#### **Method of endoscopic laser hemostasis in patients with Mallory–Weiss syndrome**

A.V. Vorobey, E.A. Matveeva, N.A. Lagodich,  
T.E. Vladimirskaia

We conducted an experimental study, which proved that the most rapid and complete regeneration of the tissues after simulation of bleeding with traumatic rupture of cardioesophageal mucosa takes place in case of a non-contact method of hemostasis, namely laser coagulation. A laser with a wavelength of 1440 nm is more advantageous. The offered method, implemented in clinical practice, provides the most favorable course of repair of the mucous membrane of the esophagus and cardia. The best visualization of bleeding and the absence of "sticking" point in time of coagulation creates comfort for endoscopists.

*Novelty:* for the first time we made a comprehensive study of the morphological analysis of the features of the damaged mucosa repair in the experiment of esophageal-gastric junction of rabbits, depending on the method of hemostasis.

*Field of application:* surgery.

*Offers for cooperation:* advice when introducing this method into clinical practice.

УДК: 616.36-018.091-085.849.19

#### **Особенности микроскопического строения ткани печени в очаге лазерной коагуляции (экспериментальное исследование)**

И.А. Швед, Т.Э. Владимирская, А.В. Воробей,  
О.П. Шорец, С.В. Александров

**Рубрика: 76.29.34**

*НИР:* «Разработать оптимальные режимы использования высокоинтенсивного лазерного излучения для минимизации повреждений печени».

*Сроки выполнения НИР:* 2011–2013 гг.

*Научные руководители:* д-р мед. наук, проф. И.А. Швед, д-р мед. наук, проф. А.В. Воробей.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — оценить особенности микроскопического строения ткани печени после лазерной коагуляции в зависимости от режимов лазерного излучения и в динамике, определить наиболее оптимальный режим лазерной коагуляции.

Исследования проведены на печени 36 половозрелых кроликов-самцов, массой 3,0–3,5 кг, содержащихся в стандартных условиях вивария НИЛ БелМАПО. Для лазерной коагуляции ткани печени использовался

высокоэнергетический импульсный волновой лазер МУЛ-1, который генерирует три длины волны: 1064, 1320 и 1440 нм.

Изучены в эксперименте процессы регенерации ткани печени в ранние (3 и 7 сут) и поздние (14 и 30 сут) сроки после лазерной коагуляции и в зависимости от длины волны лазерного луча (группа 1, 1064 нм; группа 2, 1320 нм; группа 3, 1440 нм). Впервые выявлены общие закономерности и особенности формирования очага лазерного повреждения для всех использованных режимов.

Микроскопическая структура ткани печени в очаге лазерного повреждения (ЛП) и перифокальных отделах была сходной во всех трех группах, однако отмечались некоторые особенности регенераторных процессов в зависимости от использованного режима лазерной коагуляции и срока наблюдения.

Через 3 сут после воздействия лазера на печень очаг ЛП во всех группах включал: деструктуризацию капсулы печени, зону vaporизации/коагуляции ткани печени, перифокально — не прямой (вторичный) колликвационный некроз гепатоцитов в сочетании с зернисто-глыбчатым их распадом и валом гепатоцитов, минимальным диффузным серозно-гнойным воспалением. Во всех группах отмечалось наличие vaporизационных полостей (ВП), оптически пустых или с накоплением в просвете фибрина, эритроцитов и преимущественно серозно-гнойного экссудата. Прослеживалась начинающаяся инкапсуляция зоны очага ЛП с минимальным серозно-продуктивным воспалением. Перифокально-дистанционные изменения включали зернистую (все группы), реже баллонную (группа 3) дистрофию и сегментарный некроз гепатоцитов (все группы); коагуляцию с vaporизацией волокнисто-клеточного компонента и трубчатых структур портальных трактов. Прослеживалась в группе 3, относительно широкая полоса карбонизированной ткани печени по наружной поверхности зоны vaporизации/коагуляции, сплошная или дискретная.

Через 7 сут после воздействия на печень лазера отмечались: неполная регенерация капсулы печени в группах 1 и 2 и начинающееся восстановление ее в группе 3; частичная (группы 2 и 3) или субтотальная элиминация зоны vaporизации/коагуляции (группа 1, сохранялись единичные ВП), полное исчезновение гнояного экссудата в ВП. Визуализировали констрикцию зоны вторичного колликвационного некроза гепатоцитов и элиминация воспалительной инфильтрации; более выраженная инкапсуляция и «отшнуровывание» очага ЛП, образование в группах 1 и 2 ложных долек или инкапсуляция гипертрофированных гепатоцитов с накоплением в их цитоплазме и макрофагах желчного пигмента, сохранение перифокально-дистанционных изменений в группах 2 и 3, начинающееся восстановление (регенерация) портальных трактов в группе 1.

Через 14 сут после воздействия на печень лазерным лучом во всех 3 группах отмечены некоторые особенности регенераторного процесса, в частности, формирование (регенерация) капсулы печени. Выявлялась тотальная (группа 1) или сегментарная (группы 2 и

3) элиминация зоны вапоризации с констрикцией ВП. Зона вторичного перифокального некроза – в состоянии констрикции, фрагментации, выраженной инкапсуляции с начинающейся регенерацией гепатоцитов наблюдалась преимущественно в группе 1, тогда как в группах 2 и 3 она оставалась достаточно объемной. Дистанционные изменения включали уменьшение дистрофии гепатоцитов, регенерацию последних и портальных трактов в группах 1 и 2, в группе 3 — сохранение их на уровне 7-дневного срока наблюдения.

Через 30 сут после воздействия выявлялись фиброзные и салниковые спайки в группах 2 и 3; отмечалась констрикция очага ЛП и полное закрытие его густоклеточной фиброзной тканью (ФТ) в группе 1 и отсутствие в группе 3 (сформирован посткоагуляционный рубец), сегментарное закрытие очага ФТ в группе 2, минимальное продуктивное воспаление в группах 2 и 3. В перифокально-дистанционных отделах имела место регенерация портальных трактов (все 3 группы), печеночных долек и гепатоцитов (группа 1), сохранялась слабая (группа 2) или умеренная (группа 3) зернистая дистрофия.

Морфометрическое исследование показало уменьшение глубины зоны вапоризации/коагуляции ( $p < 0,05$ ) после воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 1064 нм (в группе 1; через

3 сут) по сравнению с 1320 нм (группа 2) и 1440 нм (группа 3).

Таким образом, по глубине зоны вапоризации/коагуляции ткани печени, раннему сроку (7 сут) ее элиминации, динамике изменений и структуре ткани очага повреждения и перифокальных отделов наиболее оптимальным в режиме коагуляции является лазерный луч с длиной волны 1064 нм.

В результате морфологических исследований выявлено, что отечественный трехволновой аппарат МУЛ-1 в режиме коагуляции с длиной волны 1064 нм соответствует импортным аналогам.

#### **Features of the microscopic structure of the liver tissue after laser coagulation (experimental study)**

*I.A. Shved, T.E. Vladimirskaia, A.V. Vorobey,  
O.P. Shorets, S.V. Aleksandrov*

According to the depth of the zone of vaporization / coagulation of the liver tissue, the earliest deadline (7 days) of its elimination, the dynamics of changes in the structure of tissue lesion laser beam with a wavelength of 1064 nm is the most optimal.

Domestic devise MUL-1 corresponds to foreign analogs.

*Field of application: surgery.*

## БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК 616.33/342-002.2/44:616.98:[616-018.2]-003.96

**Адаптационно-компенсаторные реакции  
в структуре вегетативного обеспечения у лиц  
призывного возраста в ответ на инфекцию *H. pylori*  
в зависимости от наследственных нарушений  
соединительной ткани**

А.С. Рудой, А.А. Бова, А.М. Урываев, А.Г. Горустович

**Рубрика: 76.29.34**

**НИР:** «Оценка функционального состояния пищеварительной системы у мужчин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани».

**Сроки выполнения НИР:** январь 2009 г. — январь 2014 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук А.С. Рудой.

**Источник финансирования:** госбюджет.

**Цель** — изучить характер вегетативной регуляции при хроническом гастрите в зависимости от инфицированности *H. pylori* на фоне наследственных нарушений соединительной ткани у лиц молодого возраста.

**Дизайн исследования:** в результате простого одномоментного исследования обследовано 217 мужчин (средний возраст 20,6±1,25 года) с морфологически верифицированным хроническим гастритом. У всех обследованных на основании фенотипического осмотра определены диспластические синдромы и фенотипы с учетом предполагаемого молекулярно-генетического дефекта соединительной ткани, предопределяющего механизмы развития патологического процесса. В 1-ю группу включены пациенты с повышенной диспластической стигматизацией (3-5 внешних фена; n=65); во 2-ю — с системным вовлечением соединительной ткани и делением их на две подгруппы: 2-я А — с первичным пролапсом митрального клапана и гипермобильным фенотипом (n=27); во 2-ю Б группу с марфаноподобным и неклассифицируемым диспластическими фенотипами с преимущественным вовлечением костно-мышечной системы (n=28). Группу сравнения (n=97) составили лица с 1–2 фенами. Для распознава-

ния диспластических синдромов и фенотипов использовались алгоритм и автоматизированная информационная система диагностики, разработанные с учетом международных критериев диагностики. В частности, использовали Международные рекомендации диагностики синдрома Марфана – Пересмотренные Гентские критерии / **Therevised Ghent nosology for the Marfan syndrome (Loeys B. et al., 2010)**, **Международные рекомендации диагностики синдрома Элерса–Данло** — Вилль-франшские критерии/Villefranche criteria (Beighton P. et al., 1998), **Международные рекомендации диагностики синдрома гипермобильности суставов** — Брайтонские критерии (1998) с последующей их ревизией R.Grahame (2000). Анализ варибельности сердечного ритма проводился исходно в положении лежа (в состоянии расслабленного бодрствования после 15 мин адаптации) и в условиях активной ортостатической пробы в соответствии с Рекомендациями рабочей группы Европейского кардиологического общества и Североамериканского общества стимуляции и электрофизиологии на аппаратно-программном комплексе ВНС-спектр (фирма «Нейро-Софт», Иваново). Морфологическую оценку полученных биоптатов слизистой оболочки антрального отдела желудка выполняли в соответствии с модифицированной Сиднейской системой. Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» (Version 6, Stat.SoftInc., USA) с применением методов максимального правдоподобия, многофакторного дисперсионного анализа. Достоверность различий оценивали при помощи **t-критерия Стьюдента с уровнем значимости p<0,05**.

С целью изучения общих тенденций изменений вегетативного баланса были проанализированы изменения показателей спектральной мощности варибельности ритма сердца (мс<sup>2</sup>/Гц). При анализе показателей варибельности ритма сердца в 1 и 2-й группах отмечено снижение общей мощности спектра нейрогуморальной регуляции (ГРранг) в сравнении с группой сравнения (p<0,3) (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика групп по результатам ВРС

Показатель	Количество	Группа контроля		С признаками ННСТ								
		X	m <sub>x</sub>	Количество	1-я группа		Количество	2-я А группа		Количество	2-я Б группа	
					X	m <sub>x</sub>		X	m <sub>x</sub>		X	m <sub>x</sub>
ГРранг	57	8,51	4,8	46	5,91*	6,72	21	6,43	4,65	22	6,55	16,35
LF	49	11431	17075	40	14809	22289	18	20385	22009	15	17752	19008
LF/HF	54	0,99	0,59	44	1,21	0,7	20	1,06	0,62	21	1,18	0,67
LF/HF1	29	2,63	2,83	28	2,14	3,7	15	2,29	3,41	19	2,21	2,03
% VLF	56	22,77	14,47	46	23,88	17,29	19	19,35	14,07	22	18,51	12,26
% HF	56	42,65	14,56	46	37,85*	12,69	19	40,47	11,22	22	39,45	12,32
% HF <sub>1</sub>	29	31,38	16,13	28	35,85	20,87	15	41,49	18,08	19	33,19	16,08
% LF	48	32,23	11,77	40	36*	14,51	16	38,63*	10,36	15	39,21*	12,17
ИН <sup>1</sup>	24	150	180,8	21	135,4	104,8	13	247,8	331,9	16	102,7	60,65

**Примечание:** \*p<0,05 достоверность различий между показателями группы контроля; <sup>1</sup> — значения в баллах, высчитанные автоматически на аппаратно-программном комплексе ВНС-спектр (фирма «Нейро-Софт»).

Анализируя спектральные показатели variability ритма сердца в базальных условиях, следует отметить наличие тенденции преобладания влияний симпатического отдела вегетативной нервной системы у пациентов с ассоциированными наследственными нарушениями соединительной ткани ( $p < 0,1$ ). Высокочастотные колебания сердечного ритма (HF), отражающие парасимпатическую активность, не различались ( $p < 0,2$ ) (табл. 1). При этом преобладание мощности высокочастотных колебаний сердечного ритма в контроле близкое к 43% от суммарной мощности спектра, рассматривалось как показатель резкого повышения ваготонических влияний. При анализе спектра волн очень медленного порядка (VLF, %), отражающих уровень влияния высших вегетативных центров на подкорковые структуры, значимых различий не получено ( $p < 0,2$ ) (табл. 1). Следует отметить, что анализ variability ритма сердца проводился при обработке коротких записей (5 мин) в связи с чем интерпретация выводов о генезе волн низкой частоты в работе носит лишь предположительный характер. Отмечено статистически значимое повышение до  $39,21 \pm 12,17\%$  ( $p < 0,05$ ) низкочастотных колебаний сердечного ритма (LF), отражающих симпатическую активность, у пациентов всех групп с фоновыми наследственными нарушениями соединительной ткани (табл. 1).

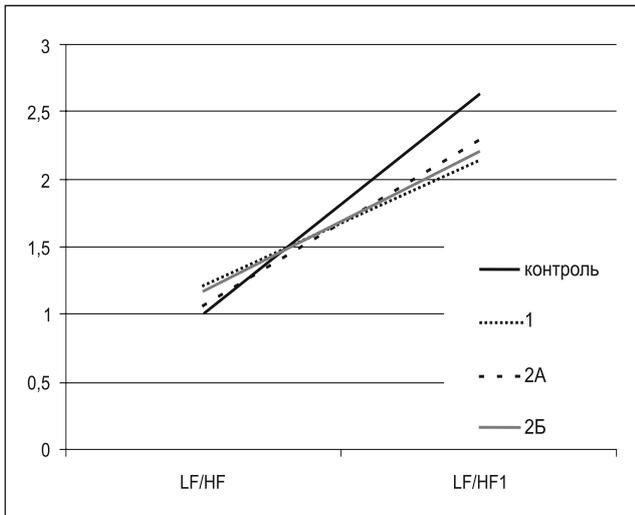


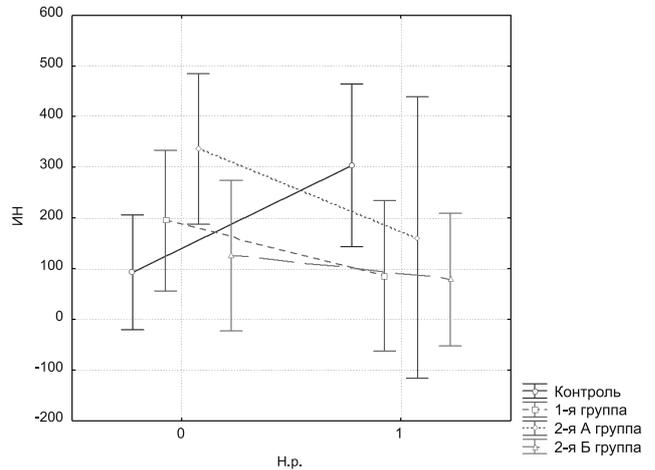
Рис. 1. Динамика симпатовагального индекса в покое и при ортопробе

Баланс симпатических и парасимпатических влияний имел тенденцию ( $p < 0,1$ ) к увеличению в 1 и 2-й Б группе ( $1,21 \pm 0,7$  и  $1,18 \pm 0,67$  соответственно) в сравнении с группой сравнения ( $0,99 \pm 0,59$ ). В ортопробе отмечена тенденция ( $p < 0,09$ ) к менее выраженному приросту симпатовагального индекса LF/HF в 1-й (на 76%), 2-й А (на 116%) и 2-й Б (на 87%) группах от первоначального значения в сравнении с группой сравнения (на 165%), указывая на снижение вегетативной реактивности и адаптационных резервов у пациентов с наследственными нарушениями соединительной ткани (рис. 1).

Указанное обстоятельство косвенно свидетельствовало как о снижении вегетативной реактивности у пациентов с наследственными нарушениями соединительной

ткани, так и об уменьшении адаптационных резервов организма, особенно у лиц с гипермобильным фенотипом. В горизонтальном положении статистических различий индекса напряжения в группах исследуемых пациентов не выявлено (табл. 1).

При проведении многофакторного дисперсионного анализа зависимости индекса напряжения от контаминации слизистой оболочки *H. pylori* был выявлен его значительный 3-кратный достоверный рост в группе контроля в ответ на инфекцию в отличие от групп сравнения, в которых он, напротив, неадекватно снижался ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). Последнее обстоятельство указывает, что вегетативное обеспечение 2 группы, характеризующееся избыточной активацией симпатического отдела вегетативной нервной системы с отсутствием повышения его модулирующего влияния в динамике при ортопробе, указывает на снижение адаптационных резервов. В контроле, напротив, рост индекса напряжения характеризовал адекватную реакцию на контаминацию слизистой оболочки *H. pylori* на фоне сохраненных адаптационно-компенсаторных возможностей.



0 — отсутствие *H. pylori*; 1 — наличие *H. pylori*; вертикальные столбцы равны 0,95 ДИ:  $(F(3,50)=2,4218, p < 0,05)$

Рис. 2. Зависимость индекса напряжения от *H. pylori*-инфекции

В частности, значимые линейные эффекты наследственных нарушений соединительной ткани и *H. pylori*-инфицированности объясняли основную часть дисперсии показателя-отклика — индекса напряжения — на 16,24% ( $F=2,5; p < 0,05$ ). Доля ошибок (случайных факторов) на дисперсию признака составила 83,76% ( $p < 0,001$ ) (табл. 2).

Факторы		Kj, %	F	p
I. Контролируемые факторы	354563	16,24	-	-
ННСТ	26583	1,67	0,33	0,72
<i>H. pylori</i>	1894	0,09	0,04	0,83
<i>H. pylori</i> и ННСТ	326085	14,94	4,08	0,023
II. Неконтролируемые случайные факторы и ошибки	1473644	83,76	36,84	0,001
Все факторы	2182769	100	-	-

Примечание: p — уровень значимости; SS — сумма квадратов отклонений параметра; Kj, % — степень влияния контролируемых и неконтролируемых факторов; F — критерий Фишера.

1. Сравнительное снижение общей мощности спектра у лиц с наследственными нарушениями соединительной ткани отражало имеющееся ухудшение общего текущего функционального состояния организма.

2. Вегетативное обеспечение в 1 и 2-й Б группах, характеризующееся избыточной активацией симпатического отдела вегетативной нервной системы с отсутствием повышения его модулирующего влияния в динамике при ортопробе, указывало на снижение адаптационных резервов. В контроле, напротив, рост индекса напряжения характеризовал адекватную реакцию на контаминацию слизистой оболочки желудка *H. pylori* на фоне сохраненных адаптационно-компенсаторных возможностей.

*Область применения:* гастроэнтерология, внутренние болезни.

*Рекомендации по использованию:* для применения при раннем скрининге срыва адаптационно-компенсаторных реакций на основании анализа клинических признаков ННСТ (определенных диспластических синдромов и фенотипов) и разработки тактики лечения инфекции *H. pylori*.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.

#### **Adaptive response in the structure of autonomic system procuring in conscription age people in response to the infection of *H. pylori* depending on the inherited connective tissue disorders**

*A.S. Rudoy, A.A. Bova, A.M. Uryvaev, A.G. Gorustovich*

Object of research: 20-23-year-old men with chronic gastritis. Purpose – to study variability of heart rhythm, depending on the prevalence of *H. pylori* against the background of heritable disorders of connective tissue. Dispersive analysis proves the influence of heritable disorders of connective tissue and *H. pylori* on character variability of heart rhythm in the form of absence of adequate growth of tension-time index (positive influences of sympathoadrenal functions) and the lack of reactivity to *H. pylori*.

*Field of application:* gastroenterology, internal diseases.

*Recommendations for use:* the data can be recommended for use in screening for early failure of adaptive-compensatory reactions on the base of clinical signs of HDCT (with defined dysplastic syndromes and phenotypes).

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 616.72-002.77-06:616.12-008.1

#### **Кардиоваскулярный риск у пациентов с ревматоидным артритом**

*Н.П. Митьковская, Т.А. Курак, Л.Л. Авдей, Е.Г. Оганова, Т.В. Ильина, Э.И. Шкробнева, Ж.Н. Кот*

**Рубрика: 76.29.29**

*НИР:* «Коронарный атеросклероз у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой: клинические, биохимические и структурно-функциональные особенности».

*Сроки выполнения НИР:* 01.01.2009 — 31.12.2012.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Н.П. Митьковская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — определить влияние факторов кардиоваскулярного риска и маркеров системного воспаления на развитие атеросклеротического процесса при ревматоидном артрите (РА).

*Объекты исследования:* пациенты с РА, сердечно-сосудистая система, кардиоваскулярные факторы риска, маркеры системного воспаления, мозговой натрийуретический пептид (МНУП).

*Методы исследования:* клинические, инструментальные (мультиспиральная компьютерная томография, МСКТ) со скринингом кальциноза, стресс-эхокардиография с физической нагрузкой (тредмил-тест), ультразвуковое исследование (УЗИ) сонных артерий, лабораторные, статистические.

*Сущность достижения:* для пациентов с РА на фоне терапии метотрексатом в сравнении с показателями сопоставимых по кардиоваскулярным факторам риска лиц без РА характерна большая распространенность атеросклеротического поражения артерий коронарного и каротидного бассейнов. Предикторами этого поражения являются показатели воспалительной активности (уровни высокочувствительного С-реактивного белка, СРБ), индекс **Disease Activity Score, DAS 28**), содержание МНУП, возраст и наличие артериальной гипертензии (АГ). Применение усовершенствованного диагностического алгоритма, включающего скрининг коронарного кальция и УЗИ сонных артерий с учетом выявленных предикторов развития атеросклеротического поражения сосудов, при обследовании пациентов с РА позволит оптимизировать подходы к стратификации сердечно-сосудистого риска на доклинических стадиях развития коронарного атеросклероза.

*Описание количественных характеристик метода:* анализ данных МСКТ со скринингом коронарного кальция продемонстрировал более высокий кальциевый индекс (КИ) в подгруппе пациентов со средней активностью РА по сравнению с показателями лиц без РА (объемный КИ, мм<sup>3</sup> 17 (0–47), 0 (0–2),  $p < 0,05$ ; КИ по методу Агатстона, ед. 15 (0–83), 0 (0–2),  $p < 0,05$ ; массовый КИ, мг 2 (0–7), 0 (0–0),  $p < 0,01$ ). С помощью регрессионного анализа установлено, что показатель активности артрита DAS 28 и уровень высокочувствительного СРБ (стандартизованные коэффициенты 0,45 и 0,17 соответственно, характеристика полученной регрессионной модели:  $\chi^2=16,41$ ,  $p=0,0003$ ), а также возраст и артериальное давление (стандартизованные коэффициенты 0,11 и 1,59 соответственно, характеристика полученной регрессионной модели:  $\chi^2=20,99$ ,  $p=0,0000$ ) обладали максимальной информативностью в детерминировании кальцификации венечных артерий (КИ > 0). С повышением уровней высокочувствительного СРБ у пациентов с РА достоверно возрастала вероятность выявления более выраженного коронарного кальциноза (КИ > 100) (стандартизованные коэффициенты 1,18 и 1,17 соответственно, характеристика полученной регрессионной модели:  $\chi^2=25,72$ ,  $p=0,0000$ ).

Для пациентов с РА установлены более низкие значения объема выполненной работы по результатам теста с физической нагрузкой ( $6,51 \pm 2,56$  MET,  $8,11 \pm 1,54$  MET,  $p < 0,05$ ), увеличение относительной частоты встречаемости низкой толерантности к физической нагрузке ( $18,52$  и  $0\%$ ,  $\chi^2 = 5,51$ ,  $p < 0,05$ ), не связанной с функциональными ограничениями вследствие поражения суставов и стресс-индуцированных нарушений локальной сократимости левого желудочка (НЛС ЛЖ) ( $33,33$  и  $0\%$ ,  $\chi^2 = 10,8$ ,  $p < 0,01$ ) по сравнению с аналогичными показателями лиц без РА. Многофакторный анализ данных показал, что у пациентов с РА, имеющих более высокие уровни высокочувствительного СРБ и МНУП, возрастает вероятность диагностирования НЛС ЛЖ (стандартизованный коэффициент  $0,24$ , характеристика полученной регрессионной модели:  $\chi^2 = 5,52$ ,  $p = 0,0188$  и стандартизованный коэффициент  $0,62$ , характеристика полученной регрессионной модели:  $\chi^2 = 18,06$ ,  $p = 0,0000$  соответственно).

Наличие РА характеризовалось большей толщиной комплекса интима-медиа общей сонной артерии ( $0,90$  ( $0,80-1,00$ ),  $0,80$  ( $0,70-0,85$ ),  $p < 0,001$ ) и увеличением доли лиц, имеющих атеросклеротические бляшки в сонных артериях, в подгруппах с низкой и средней активностью РА ( $44$  и  $10,53\%$ ,  $\chi^2 = 9,31$ ,  $p < 0,01$  и  $51,35$  и  $10,53\%$ ,  $\chi^2 = 14,69$ ,  $p < 0,001$ ) по сравнению с аналогичными показателями лиц без РА. При многофакторном анализе установлено влияние активности РА, оцененной с помощью индекса DAS 28 (стандартизованный коэффициент  $1,25$ , характеристика полученной регрессионной модели:  $\chi^2 = 22,16$ ,  $p = 0,0000$ ), и АГ на развитие каротидного атеросклероза.

*Новизна:* усовершенствован алгоритм ранней диагностики коронарного атеросклероза и оптимизированы подходы к стратификации сердечно-сосудистого риска у пациентов с РА с учетом возможностей современных инструментальных технологий и выявленных предикторов атеросклеротического поражения сосудов. Отечественных и зарубежных аналогов не найдено.

Преимущества достижения: новый подход к ранней диагностике атеросклеротического поражения артерий у пациентов с РА позволит снизить экономические затраты, опосредованные предоставлением лечебно-профилактической помощи данному контингенту при развитии кардиоваскулярных осложнений.

*Область применения:* учреждения практического здравоохранения.

*Рекомендации по использованию:* внедрение в клиническую практику усовершенствованного диагностического алгоритма в рамках программы контроля коронарного атеросклероза у пациентов с РА.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по указанной тематике.

### Cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis

*N.P. Mitkovskaya, T.A. Kurak, L.L. Avdey, E.G. Oganova, T.V. Ilijina, E.I. Shkrebnova, Z.N. Kot*

Objective: to determine the effect of cardiovascular risk factors and markers of inflammation on the development of atherosclerotic process in patients with rheumatoid arthritis (RA). Methods: patients with RA, age, sex and cardiovascular risk factors and patients without RA. There were used clinical, instrumental (multispiral computed tomography with screening of coronary calcium, stress echocardiography with treadmill test, ultrasonography of the carotid arteries), laboratory and statistic methods. Results: a greater prevalence of atherosclerotic lesions of coronary and carotid arteries was observed in patients with RA treated with methotrexate compared with the indicators of age, sex and cardiovascular risk factors in patients without RA, predicted by the indicators of inflammatory activity (levels of high-sensitivity C-reactive protein, index DAS 28), the content of brain natriuretic peptide, age and the presence of hypertension. Diagnostic algorithm which includes coronary calcium screening and carotid ultrasonography, taking into account the manifested predictors of atherosclerotic vascular disease, will improve the approaches to cardiovascular risk stratification in preclinical stages of coronary atherosclerosis development.

*Field of application:* practical public health institutions.

*Offers for cooperation:* joint research on this topic.

УДК 616.146.2-053.8

### Количественные показатели почечных вен взрослого человека

*М.Б. Парфенович, П.Г. Пивченко*

**Рубрики: 34.41.02; 76.29.43**

*НИР:* «Видовые закономерности строения ряда органов разных систем в онтогенезе человека и животных в норме и под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды».

*Сроки выполнения НИР:* март 2008 г. — декабрь 2014 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. П.Г. Пивченко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучить половые и возрастные особенности количественных характеристик почечных вен у взрослого человека.

Материалом для исследования послужили сосуды левых и правых почек от 152 трупов человек, в т. ч. 76 мужчин и 76 женщин. Всего изучено 304 препарата от лиц в возрасте от 45 до 89 лет, умерших от заболеваний, не связанных с патологией почек. Материал распределен согласно классификации ВОЗ по возрастным группам: от 45 до 59 лет — зрелый возраст, от 60 до 74 — пожилой возраст, от 75 до 89 лет — старческий возраст. От умерших зрелого возраста изучено 40 почек мужчин и 22 женщин; пожилого возраста — 70 и 82; старческого возраста — 42 и 48 соответственно.

В результате исследования установлена ширина правой —  $9,9$  ( $8,2-12,6$ ) мм и левой почечной вены —  $12,7$  ( $11,2-14,6$ ) мм. Ширина правой почечной вены у всех лиц мужского пола составила  $9,7$  ( $8,3-12,7$ ) мм, женского —  $10,4$  ( $8,2-12,6$ ) мм; ширина левой почечной

вены у всех лиц мужского пола — 12,7 (11,5–14,6) мм, у всех лиц женского пола — 12,8 (10,6–15,2) мм.

При исследовании в целом по возрастным группам ширина почечной вены у лиц зрелого возраста справа составила 10,0 (7,7–12,4) мм, слева — 13,4 (12,3–14,6) мм, у лиц пожилого возраста справа — 9,8 (8,4–12,2) мм и слева — 12,7 (10,8–14,6) мм; в старческом возрасте ширина почечной вены справа — 11,7 (8,9–13,0) мм и слева — 13,0 (11,7–14,8) мм.

При измерении ширины почечных вен по возрастным группам установлено, что у мужчин зрелого возраста показатель справа составил 9,5 (7,9–12,4) мм, слева — 13,3 (12,0–14,5) мм; в пожилом возрасте справа — 9,8 (8,7–12,9) мм, слева — 12,8 (11,2–14,7) мм; у мужчин старческого возраста этот параметр справа равен 11,4 (9,2–12,8) мм, слева — 12,7 (11,9–14,7) мм.

Ширина почечной вены по возрастным группам у женщин распределилась следующим образом: зрелый возраст справа — 11,3 (7,3–12,5) мм, слева — 13,9 (12,6–15,8) мм. Этот показатель у женщин пожилого возраста составляет справа — 9,8 (8,2–11,8) мм, слева — 12,3 (9,6–14,3) мм; у женщин старческого возраста справа — 12,3 (8,5–13,1) мм, слева — 13,4 (10,4–15,5) мм.

Результаты исследования показали, что углы, образованные почечными венами в местах их впадения в нижнюю полую вену, характеризуются как индивидуальными, так и половыми различиями. В зависимости от величины угла впадения можно выделить три варианта положения почечных вен: нисходящее (угол открыт краниально), горизонтальное и восходящее (угол открыт каудально).

Установлено, что у мужчин почечные вены справа имели, главным образом, нисходящее направление — 64,9% случаев, горизонтальное — в 35,1% наблюдений. Слева их вариации несколько отличаются: в 69,0% случаев левые почечные вены имели нисходящее направление, в 28,6% — горизонтальное и в 2,4% — восходящее.

У мужчин при нисходящем направлении справа величина углов колебалась в пределах 34–81°, слева — 33–79°. При восходящем направлении почечных вен максимальный угол (слева) был равен 116° — одно наблюдение.

У женщин нисходящее направление почечных вен установлено в 70,3% случаев и горизонтальное — в 29,7%; слева соответственно — 70,7 и 29,3% случаев. При нисходящем направлении почечных вен у женщин минимальный угол как справа, так и слева составлял примерно 39°.

Результаты исследования показали, что в 85,4% случаев венозный отток от почек осуществлялся через одиночные вены. В 14,6% наблюдений было выявлено удвоение почечных вен. Причем как у мужчин, так и у женщин двойные почечные вены чаще выявляются справа. Почечные вены в 88% случаев формируются притоками рядом с органом (экстраоргано) и в 12% они наблюдаются уже в воротах почки (интраорганоформирование).

Таким образом, исследование позволило предста-

вить базу морфометрических характеристик почечных вен взрослого человека в разные возрастные периоды в зависимости от пола. Эти данные свидетельствуют о наличии диссимметрии ширины почечных вен, углов и их впадения, а также об индивидуальных, половых и возрастных особенностях.

*Область применения:* анатомия человека, ангиология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в учебном процессе по анатомии человека, в хирургии, нефрологии при инструментальной диагностике сосудов почек.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной проблеме.

### Quantitative indices of renal veins in adults

*M.B. Parfenovich, P.G. Pivchenko*

*The purpose of work was to study gender and age characteristics of the quantitative indices of renal veins in adults.*

The study made it possible to present the base of morphometric characteristics of renal veins in adults in different age periods, depending on the gender. These findings suggest the presence of width asymmetry of renal veins, angles, and their confluence, as well as the individual, sex and age characteristics.

*Field of application:* human anatomy, angiology.

*Recommendations for use:* the results of the study can be used in surgery and nephrology.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 611.37:599.238

### Морфологическая и морфометрическая характеристика поджелудочной железы белой крысы в норме

*Т.П. Пивченко*

**Рубрика: 34.41.02**

*НИИР:* «Видовые закономерности строения ряда органов различных систем в онтогенезе человека и животных в норме и под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды».

*Сроки выполнения НИИР:* 12.03.2008 — 31.12.2014.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. П.Г. Пивченко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — исследовать морфологию и морфометрические характеристики поджелудочной железы (ПЖ) белой крысы в норме.

Для достижения цели ПЖ изучена у 18 беспородных белых крыс массой от 220 до 300 г (макротомически 12 и гистологически 6 животных).

Установлено, что макроскопически у взрослой белой крысы ПЖ располагается между листками большого сальника в глубине брюшной полости на уровне тел краниальных поясничных позвонков (L1-L2), занимает поперечное положение между 12-перстной киш-

кой (справа) и селезенкой (слева). Ее длина колеблется от 27 до 32 мм ( $29,4 \pm 1,1$  мм), масса у самцов составляет от 0,9 до 1,1 г ( $0,96 \pm 0,03$  г), у самок — от 0,9 до 1,2 г ( $1,03 \pm 0,05$  г).

Макроскопически орган имеет вид грозди, состоящей из большого числа уплощенных округлой, овальной, листовидной формы долек; их размеры колеблются от  $0,8 \times 2$  до  $4 \times 6$  мм.

По синтопии в ПЖ можно условно выделить справа налево дуоденальную, желудочно-печеночную, селезеночную части.

При сравнении анатомии поджелудочной железы белой крысы и человека можно считать, что дуоденальная часть органа белой крысы соответствует головке, желудочно-печеночная — телу и селезеночная — хвосту поджелудочной железы человека.

Гистологически паренхима ПЖ состоит из 2-х различных по функции и структурной организации отделов: 1) экзокринного и 2) эндокринного.

Экзокринный отдел составляет основную массу органа и представлен ацинусами, вставочными, межацинозными, внутريدольковыми, междольковыми и главными протоками. Дольки состоят из большого числа ацинусов, которые имеют округлую и овальную форму, размеры от  $36 \times 36$  до  $51 \times 75$  мкм; они включают по 6–12 (в среднем  $7,9 \pm 0,3$ ) экзокринных клеток (на 1 срез). Каждый ацинус окружен тонкой капсулой. Экзокриноциты имеют пирамидальную форму, их цитоплазма содержит зернистость в виде гранул различной величины, размеры и количество которых нарастают по направлению к апикальному полюсу (зимогенная зона) клетки. Ядра ациноцитов всегда расположены в основании клетки (гомогенная зона), содержат от 2 до 4 ядрышек различной величины. Экзокриноциты имеют относительно крупные размеры тела от  $9 \times 15$  до  $18 \times 21$  мкм ( $1784 \pm 10,5$  мкм<sup>3</sup>), ядра от  $5 \times 6,6$  до  $6,9 \times 7,5$  мкм ( $136,3 \pm 6,1$  мкм<sup>3</sup>). Вставочные отделы (протоков) являются продолжением слоя экзокриноцитовацинуса, они располагаются в ацинусе сбоку, прилегая к панкреатоцитам, или же соединены с его центральным отделом. Длина вставочных отделов колеблется от 6 до 12 мкм, диаметр — от 6 до 9 мкм ( $6,7 \pm 0,2$  мкм,  $p \leq 0,05$ ). Вставочные протоки, соединяясь, образуют межацинозные протоки диаметром от 11 до 27 мкм (в среднем  $17,6 \pm 0,7$  мкм,  $p \leq 0,05$ ). Эти протоки выстланы однослойным кубическим эпителием, окружены незначительной прослойкой рыхлой соединительной ткани. Межацинозные протоки, сливаясь, формируют внутридольковые протоки, диаметр которых колеблется от 21 до 48 мкм (в среднем  $35,1 \pm 1,8$  мкм,  $p \leq 0,05$ ). Эти протоки, соединяясь, образуют более крупные междольковые протоки, диаметром от 21 до 48 мкм ( $35,1 \pm 1,8$  мкм,  $p \leq 0,05$ ), которые образуют междольковые протоки. Последние собираются в главные протоки, которые имеют широкий просвет, толстую соединительно-тканную оболочку; их слизистая оболочка покрыта призматическим эпителием и содержит много бокаловидных клеток. Диаметр главных протоков от дуоденальной части органа колеблется в преде-

лах  $0,4–0,5$  мм, от желудочно-печеночной —  $0,8–1,2$  мм.

Эндокринный аппарат ПЖ белой крысы представлен островками, состоящими из эндокринных клеток — инсулоцитов. Островки располагаются в центральном отделе или на периферии дольки; они имеют разную форму, более часто обнаруживаются в селезеночной части органа. Размер островков колеблется от  $30 \times 40$  до  $255 \times 260$  мкм, в их толще отмечается большое количество капилляров диаметром от 6 до 10 мкм. Размеры эндокриноцитов колеблются от  $9 \times 9$  до  $12 \times 15$  мкм ( $658 \pm 14,4$  мкм<sup>3</sup>), их ядер от  $4,5 \times 4,5$  до  $6 \times 6$  мкм ( $76,6 \pm 3,6$  мкм<sup>3</sup>). Эндокриноциты рансеас имеют округлую или овальную форму, центрально расположенное ядро содержит 1 ядрышко; в цитоплазме по всей площади отмечается равномерное распределяющее мелкой зернистости. Основная масса клеток в островках имеет интенсивную фиолетовую окраску (В-клетки), небольшое количество инсулоцитов, расположенных по периферии островков, имеет более светлую окраску цитоплазмы и ядра (А-клетки).

В поджелудочной железе в значительном количестве в междольковых промежутках или вблизи островков обнаруживаются микроганглии, содержащие от 3 до 12 нейроцитов, имеющих меньшие размеры по сравнению с экзо- и эндокриноцитами: объем их тела в среднем  $475,5 \pm 4,7$  мкм<sup>3</sup> (от  $4,5 \times 9$  до  $9 \times 12$  мкм), ядра  $24,4 \pm 2$  мкм<sup>3</sup> ( $p \leq 0,05$ ) (от  $3 \times 3$  до  $4,5 \times 4,5$  мкм).

Таким образом, в результате исследования сформирована база данных морфологических и морфометрических характеристик экзо- и эндокринного аппарата поджелудочной железы белой крысы в норме.

*Область применения:* экспериментальная медицина.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах анатомии и гистологии, в качестве морфологической и морфометрической базы при моделировании патологии поджелудочной железы.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной тематике.

### Morphological and morphometric characteristics of pancreas in normal white rat

*T.P. Pivchenko*

Pancreatic disease is a common pathology.

The purpose of the study was to investigate the morphology and morphometric characteristics of the white rat pancreas.

There were studied 18 white mongrel rats with the weight 220–300g.

The obtained data prove pancreatic homology of white rat and human.

*Field of application:* experimental medicine.

*Recommendations for use:* the results of the study can be used in the educational process in the departments of anatomy and histology; as morphological and morphometric basis for pancreas modeling.

УДК [611.329+611.33]-018:616.33-072.1-073.756.8

**Особенности морфологического строения  
пищеводно-желудочного перехода взрослого  
человека при фиброгастроуденоскопии  
и компьютерно-томографическом исследовании**

*П.Г. Пивченко, Е.Н. Шестакович*

**Рубрика: 34.41.02**

*НИР:* «Закономерности структурно-функциональной организации пищеводно-желудочного перехода в онтогенезе человека».

*Сроки выполнения НИР:* ноябрь 2008 г. — июнь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. П.Г. Пивченко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — исследование анатомии и морфометрических характеристик пищеводно-желудочного перехода взрослого человека с помощью фиброгастроуденоскопии и компьютерной томографии.

В последние годы резко возрос клинический интерес к пищеварительной системе в связи с распространением такой патологии, как гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ). Ее рост отмечен как среди взрослых, так и детей и характеризуется наличием таких серьезных осложнений, как пищевод Баррета, стриктура пищевода и др. Клинические проявления ГЭРБ, по мнению большинства авторов, связаны с нарушением функции замыкательного аппарата, расположенного в области перехода пищевода в желудок. Именно поэтому изучение закономерностей развития и строения пищеводно-желудочного перехода представляет собой одно из важнейших направлений научных исследований.

Нами проанализированы данные, полученные при фиброгастроуденоскопии 19 человек (11 мужчин и 8 женщин) в возрасте от 21 года до 55 лет, у которых по данным анамнеза и ФГДС заболевания желудка исключались. Исследование проведено с использованием оптического эндоскопа типа «Olympus» на базе УЗ "9-я городская клиническая больница" г. Минска.

Для установления протяженности перехода слизистой оболочки пищевода в слизистую оболочку желудка (Z-линия) измеряли расстояние от верхних резцов до Z-линии (L1) и входа в желудок (L2). Величину протяженности Z-линии (L3) высчитывали как разницу между L2 и L1.

Исследуемую группу при компьютерной томографии составили лица в возрасте 21–50 лет, не имевшие в анамнезе патологии пищеварительного тракта. Изучались данные томографии 26 человек (8 человек с долихоморфным типом телосложения, 7 — с мезоморфным и 11 — с брахиморфным).

Исследование проводилось натощак, непосредственно перед анализом перорально вводилось 450 мл 2% раствора сульфата бария.

На спиральном компьютерном томографе «HISpeedCT/I» типа «GeneralElectric» получены КТ-срезы толщиной 2–3 мм в аксиальной (горизонталь-

ной) плоскости с последующей фронтальной и сагитальной реконструкцией изображения. Полученные данные оценены с помощью программы «CentricityDICOMViewer».

Проведена морфометрия брюшной части пищевода (БЧП): измерена величина кардиальной вырезки, длина брюшной части пищевода, ширина на уровне диафрагмы, в брюшной полости, в области кардиального отверстия желудка.

В результате исследования установлено, что морфологические и морфометрические параметры структур ПЖП имеют половые и индивидуальные особенности, что представлено в табл. 1:

Таблица 1  
Половые и индивидуальные особенности  
морфометрических показателей ПЖП  
взрослого человека

Наименование показателей	Тип телосложения		
	долихоморфный	мезоморфный	брахиморфный
D1, мм	10,8 ± 0,65	11,95 ± 0,85	12,43 ± 0,73
D2, мм	11,51 ± 0,81	14,09 ± 0,97	14,67 ± 1,45
D3, мм	11,13 ± 1,01	13,03 ± 1,02	12,63 ± 1,34
L, мм	17,54 ± 1,12	16,37 ± 1,18	15,82 ± 3,18
α, °	97,19 ± 8,6	89,35 ± 10,83	104,9 ± 10,2

Анализ данных, полученных при исследовании ПЖП методом спиральной компьютерной томографии, показал, что минимальная ширина БЧП зарегистрирована в диафрагмальном отверстии пищевода во всех группах исследованных и варьировала от 10,8±0,65 мм (долихоморфный тип телосложения) до 12,43±0,73 мм (брахиморфный). В области кардиального отверстия ширина БЧП составила 11,13±1,01 мм для долихоморфов, 13,03±1,02 мм для мезоморфов и 12,63±1,34 мм для брахиморфов. Максимальная ширина БЧП отмечена в брюшной полости (измерялась в средней точке длины БЧП) и составила 11,51±0,81, 14,09±0,97 и 14,67±1,45 мм для долихо-, мезо- и брахиморфов соответственно. Выявлена зависимость длины БЧП и роста человека (коэффициент корреляции 0,6). Максимальные показатели длины отмечены для долихоморфов, минимальные — для брахиморфов. Величина кардиальной вырезки (угол Гиса) для брахиморфов составила 104,9±10,2°, для долихоморфов — 97,19±8,6° и для мезоморфов — 89,35±10,83°.

При проведении фиброгастроуденоскопии нами установлено, что Z-линия у мужчин расположена выше кардиального отверстия на 3,38±0,73 см, у женщин — выше кардиального отверстия на 1,8±0,42 см.

Минимальные показатели ширины брюшной части пищевода в диафрагмальном отверстии, а также в области кардиального отверстия позволяют предположить участие диафрагмы и нижнего пищеводного сфинктера как дополнительных факторов, препятствующих развитию ГЭРБ. Более короткая длина БЧП и больший угол Гиса у брахиморфов предполагают вероятность более частого проявления симптомов ГЭРБ по сравнению с лицами мезо- и долихоморфного телосложения.

Более низкое расположение Z-линии у женщин, чем у мужчин, позволяет отнести их к группе риска развития гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (на основе данных ФГДС).

*Область применения:* гастроэнтерология, хирургия, онкология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут использоваться в качестве морфологического обоснования функциональных расстройств ПЖП, патогенеза гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, ее диагностики, лечения и профилактики.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной теме.

### Features of morphological structure of the esophageal-gastric junction in adults with fibrogastroscopy and computer-tomographic research

*P.G. Pivchenko, E.N. Shestakovich*

There were studied 26 patients: 8 — with dolihomorphic body type, 7 — with mesomorphicone and 11 — with brachymorphic one. Fibrogastroscopy was done in 19 patients. It was established that the maximal values of the length of abdominal part of esophagus, the angle of it and the high level of Z-line location were observed in men with dolihomorphic body type; the minimal length of abdominal part of esophagus, obtuse angle of it and low Z-line are typical for women with brachymorphic body type.

*Field of application:* gastroenterology, surgery, oncology.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 617. 528-001-026.86-085. 84

### Применение чрескожной электронейростимуляции при лечении токсического повреждения нижнего альвеолярного нерва

*И.О. Походенько-Чудакова, К.В. Вилькицкая*

**Рубрика: 76.29.55**

*НИР:* «Оптимизация комплексных методов реабилитации пациентов в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии».

*Сроки выполнения НИР:* III кв. 2010 г. — III кв. 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. И.О. Походенько-Чудакова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Ретроспективный анализ обращений пациентов по поводу временных или постоянных нейросенсорных нарушений нижнего альвеолярного нерва после стоматологических манипуляций выявил стойкие повреждения у 19,6% обследованных. При этом парестезия, развившаяся в результате эндодонтического лечения, была констатирована в 35,3% наблюдений.

Результаты рефлексотерапии в составе комплекса лечебно-реабилитационных мероприятий у пациентов после микрохирургической декомпрессии нижнего альвеолярного нерва при травматическом токсиче-

ском повреждении свидетельствуют об эффективности и целесообразности ее использования с целью купирования парестезии и болевого синдрома.

*Цель* — разработать способ лечения токсического повреждения нижнего альвеолярного нерва с применением чрескожной электронейростимуляции, предполагающий устранение нейросенсорных нарушений лабиоментальной области.

Под наблюдением находились 15 пациентов с травматическим токсическим повреждением нижнего альвеолярного нерва. Способ лечения токсического повреждения *n. alveolaris inferior*, разработанный на кафедре хирургической стоматологии УО «Белорусский государственный медицинский университет», был использован в составе комплекса реабилитационных мероприятий у 7 пациентов, составивших группу 1. Группа 2 включала 8 человек, которым применялся стандартный комплекс реабилитации.

Курс чрескожной электронейростимуляции проводили с помощью аппаратов типа ДиаДЭНС при отсутствии противопоказаний в соответствии с общими принципами рефлексотерапии. Для воздействия были определены следующие каналы тела: легких (P), толстой кишки (GI), желудка (E), сердца (C), тонкой кишки (IG), трех обогревателей (TR), желчного пузыря (VB), заднесрединного меридиана (VG) — с соответствующими акупунктурными точками (АТ) широкого спектра действия (общими): P7, GI4, GI10, GI11, E36, E44, C7, VB20, VG27; а также локальными (местными) — GI18, GI20, E3, E4, E5, E6, E7, E10, C1, IG18, IG19, TR4, TR6, TR16, TR17, TR21; внемеридианными — PC13, PC18, PC27. Курс состоял из 10 ежедневных процедур продолжительностью до 30 мин. Раздражение наносили последовательно симметрично на правой и левой стороне. Во время одной процедуры проводили воздействие не более чем на 3 АТ (одну широкого спектра действия и две локальные) с экспозицией в течение 5 мин вначале на здоровой стороне, а затем симметрично на стороне повреждения *n. alveolaris inferior*. При проведении курса одни и те же АТ не использовали повторно в течение двух следующих подряд процедур. При сохранении участков парестезии лабиоментальной области или болевого синдрома в зоне иннервации *n. alveolaris inferior* после первого курса электронейростимуляции назначали второй через 7–10 дней, а третий — через 20–21 день.

Эффективность применения чрескожной электронейростимуляции в составе комплексной реабилитации пациентов с токсическим повреждением *n. alveolaris inferior* оценивали на основании степени восстановления чувствительности в области кожи нижней губы и подбородка на стороне травматизации и путем расчета показателя NNT, являющегося значением, обратным абсолютному сокращению риска или увеличению числа пациентов, которых нужно лечить, чтобы получить результат по сравнению с контролем.

Применение предложенного способа лечения токсического повреждения *n. alveolaris inferior* позволило получить положительные результаты в группе 1 у 5

пациентов. В то же время в группе 2 восстановления чувствительности в области кожных покровов нижней губы и подбородка на стороне повреждения не отмечено. Все указанное определяет клиническую эффективность предложенного способа как гипотетически высокую (NNT = 1,41).

Полученные результаты позволяют рекомендовать чрескожную электронейростимуляцию в качестве метода выбора при травматическом токсическом повреждении нижнего альвеолярного нерва.

*Область применения:* челюстно-лицевая хирургия, стоматология, медицинская реабилитация.

*Рекомендации по использованию:* может быть использован для сокращения и устранения нейросенсорных нарушений в лабиоментальной области у пациентов с токсическим повреждением нижнего альвеолярного нерва.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной тематике.

### **Use of transcutaneous electric neurostimulation in the treatment of toxic injury of the inferior alveolar nerve**

*I.O. Pohodenko-Chudakova, K.V. Vilkitskaya*

The aim of the work was to develop a method of treatment of toxic injury of the inferior alveolar nerve with the use of transcutaneous electric neurostimulation which eliminates these neurosensory disorders in the labiomental region.

We examined 15 patients with traumatic toxic injury of inferior alveolar nerve. We applied this method for 7 patients of the group 1. Group 2 consisted of 8 patients that had standard complex rehabilitation treatment. The efficiency of application of transcutaneous electric neurostimulation in the complex rehabilitation of patients with toxic injury of inferior alveolar nerve was evaluated on the base of the degree of sensitivity reduction in the area of innervation of the inferior alveolar nerve and calculating the NNT indices. So, we determined the clinical effectiveness of the offered method as hypothetically high (NNT=1,41).

*Field of application:* oral and maxillofacial surgery and stomatology, medical rehabilitation.

*Recommendations for use:* it can be used for reduction and elimination of neurosensory disorders in the labiomental region in patients with toxic injury of inferior alveolar nerve.

*Offers for cooperation:* common research on the problem.

УДК 616-089.843:616.1-008.1

### **Проспективная оценка кардиоваскулярного риска у реципиентов трансплантатов органов и тканей в отдаленном послеоперационном периоде**

*Н.П. Митьковская, О.О. Руммо, Е.А. Григоренко*

**Рубрика: 76.29.46, 76.29.30**

*НИР:* «Разработать и внедрить алгоритм оценки

кардиоваскулярного риска при трансплантации органов и тканей».

*Сроки выполнения НИР:* 01.04.2011 — 31.12.2014.

*Научный руководитель:* д-р мед.наук, проф. Н.П. Митьковская.

*Организация-соисполнитель:* УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Невысокая прогностическая ценность традиционных факторов риска, позволяющих выявить вероятность развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий лишь в 50% случаев определила интерес и практическую значимость оценки кардиоваскулярного риска у лиц, имеющих коморбидные состояния и ятрогенные факторы риска.

*Цель* — разработать и внедрить алгоритм оценки кардиоваскулярного риска при трансплантации органов и тканей.

Участниками исследования стали 148 пациентов Республиканского центра трансплантации органов и тканей УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска: 24 реципиента, перенесших ортотопическую трансплантацию печени, 75 пациентов, перенесших трансплантацию почки, 12 пациентов после трансплантации костного мозга более 12 мес. назад (отдаленный послеоперационный период), 37 пациентов из листа ожидания (реципиенты трансплантатов печени, почек). Группа сравнения была сформирована из 20 человек, сопоставимых по возрасту и половому составу с реципиентами трансплантатов органов и тканей, имеющих артериальную гипертензию I–II степени и метаболический синдром. Выполнены исследования, определяющие структурно-функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у обследуемых (ЭКГ, ЭхоКГ, доплерЭхоКГ, скрининг коронарного кальция). Определены уровни маркеров кардиометаболического риска (ФНО- $\alpha$ , Д-димеры, гомоцистеин, BNP) в крови реципиентов донорских органов в отдаленном послеоперационном периоде. Проведена комплексная оценка взаимосвязи между структурно-функциональными изменениями сердечно-сосудистой системы (увеличение индекса массы миокарда левого желудочка, диастолическая дисфункция левого и правого желудочков), биохимическими показателями кардиометаболического риска (уровень NT-proBNP, ФНО- $\alpha$ , гомоцистеина), нарушениями системы гемостаза (АЧТВ, протромбиновое время, фибриноген), тромбоцитарного звена, отдельными маркерами развития гемостазиологических осложнений (Д-димер, фактор Виллебранда, антитромбин III, протеин С).

Проведенное исследование с последующим многофакторным дискриминантным анализом признаков, влияющих на структурно-функциональные изменения миокарда у реципиентов трансплантатов органов и тканей, позволило определить, что в отдаленном послеоперационном периоде у реципиентов трансплантатов органов несмотря на заместительную терапию основного заболевания отмечаются значительные изменения структурно-функциональных показателей сердечно-сосудистой системы и биохимических маркеров карди-

оваскулярного риска.

Доля лиц с нормальной геометрической моделью левого желудочка в группе реципиентов трансплантатов почки через 12 мес. после трансплантации была достоверно ниже, чем в группе лиц, находящихся в листе ожидания ( $31,28 \pm 4,36$  и  $54,12 \pm 7,09$  на 100 обследованных,  $p < 0,05$ ). В структуре ремоделирования у реципиентов почки при сопоставлении с группой сравнения преобладала эксцентрическая гипертрофия миокарда ЛЖ ( $61,24 \pm 5,17$  и  $34,52 \pm 3,19$  на 100 обследованных,  $p < 0,01$ ), отмечалось нарушение его диастолической функции ( $E/A_{\text{МК}} 0,91 \pm 0,04$  и  $1,08 \pm 0,03$  м/с,  $p < 0,05$ ). Также в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов, перенесших трансплантацию печени в отличие от лиц из листа ожидания было отмечено нарушение диастолической функции правого желудочка ( $E/A_{\text{ТК}} 1,07 \pm 0,04$  и  $0,64 \pm 0,07$  м/с,  $p < 0,05$ ).

Развитие гипертрофии левого желудочка, определяемое при повышении индекса массы миокарда, у реципиентов трансплантатов печени и почек сопровождалось увеличением кальциноза коронарных артерий ( $7,49 \pm 1,26$  и  $72,18 \pm 4,15$  ед.,  $p < 0,05$ ;  $87,32 \pm 12,04$  и  $134,52 \pm 23,19$  ед.,  $p < 0,05$  соответственно).

Основными биохимическими маркерами, отражающими наличие эндотелиальной дисфункции и миокардиального стресса, в группе реципиентов трансплантатов почки является уровень гомоцистеина ( $27,18 \pm 4,32$  и  $8,32 \pm 1,04$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ), у реципиентов донорской печени — уровень фактора Виллебранта и Д-димеров ( $134,58 \pm 21,14$  и  $194,23 \pm 14,32\%$ ,  $p < 0,05$ ;  $732,18 \pm 41,37$  и  $408,27 \pm 21,84$  нг/мл,  $p < 0,05$  соответственно).

Определение уровня NTproBNP для стратификации кардиоваскулярного риска при обследовании реципиентов трансплантатов органов в отдаленном послеоперационном периоде является неинформативным и помимо общей популяции показано лишь у реципиентов костного мозга ( $n=12$ ,  $\lambda=0,12637$ ,  $F(5,14)=17,063$ ,  $p < 0,001$ ).

*Область применения:* кардиология.

*Предложения по сотрудничеству:* внедрение разработанного алгоритма оценки кардиоваскулярного риска в зарубежных центрах трансплантации органов и тканей.

### **Prospective evaluation of cardiovascular risk in recipients of transplants of organs and tissues in the postoperative period**

*N.P. Mitkovskaya, O.O. Rummo, E.A. Grigorenko*

The presence of cardiovascular risk factors in the general population and in those who need organ and tissue transplantation may have different effects in terms of their intensity on long-term prognosis. The aim of the study was the investigation of the cardiovascular system status in organ and tissue recipients with or without cardiovascular history, assessment of complication risk, and determination of biochemical markers of coronary atherosclerosis progression in potential recipients on the waiting list.

УДК 616. 31-085.211-026.86-084/085-814.1

### **Профилактика токсических реакций на местные анестетики при помощи рефлексотерапии**

*И.О. Походенько-Чудакова, Е.В. Максимович*

**Рубрика: 76.29.55**

*Тема НИР:* «Оптимизация комплексных методов реабилитации пациентов в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии».

*Сроки выполнения НИР:* II кв. 2012 г. — III кв. 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. И.О. Походенько-Чудакова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка способа профилактики хронической токсичности местных анестетиков, используемых в стоматологической практике, при помощи рефлексотерапии.

Обследовано 150 пациентов в возрасте от 18 до 72 лет, обратившихся за медицинской помощью к врачу-стоматологу-хирургу. На основании данных анкетирования пациентов была определена группа риска развития токсических реакций на местные анестетики, состоящая из 78 пациентов. В нее вошли лица, в анамнезе которых выявлялись: патология гепатобилиарной системы; хронический алкоголизм; токсикозы во время беременности либо резус-конфликт; туберкулез; лечение химиотерапевтическими лекарственными средствами. Из указанного общего числа пациентов группы риска в хирургическом вмешательстве нуждались 54 человека. Пациентам был выполнен биохимический анализ крови с обязательным исследованием печеночных ферментов. Лицам, нуждавшимся в оперативном вмешательстве, он был выполнен дважды (до операции и после нее).

В строгом соответствии с требованиями, изложенными в методических рекомендациях, содержащих перечень показаний и противопоказаний к рефлексотерапии, и с постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 128 от 28.11.2007, была выделена группа 1 (20 человек), в которой с целью профилактики токсических реакций на местные анестетики применяли рефлексотерапию. Остальные 24 пациента составили группу сравнения. Курс рефлексотерапии в группе 1 включал 5 процедур, выполняемых ежедневно. Воздействие осуществляли при помощи аппарата «Витязь АЭТ-01» на ладонную поверхность первой фаланги большого пальца и нижнюю половину ладони на обеих руках по разработанной нами методике.

У пациентов группы 1, которым проводилась электрорефлексотерапия, при выполнении инъекционного местного обезболивания и в ходе операции не отмечали каких-либо жалоб на ухудшение или изменение общего состояния. Кроме того, у данной группы лиц не было выявлено повышения содержания печеночных ферментов при повторном биохимическом анализе крови. В то же время в группе сравнения у 5 человек (20,8%) было констатировано повышение уровня печеночных ферментов и у 3 при выполнении местного обезболивания

отмечено значительное ухудшение общего состояния.

Электрорефлексотерапия может быть использована в качестве простого, доступного способа профилактики токсических реакций на местные анестетики у пациентов на стоматологическом приеме.

*Область применения:* челюстно-лицевая хирургия, стоматология.

*Рекомендации по использованию:* полученные результаты рекомендуется учитывать при применении местных анестетиков как в поликлинике, так и в стационаре.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной проблеме.

### **Prevention of toxic reactions on local anesthetics with acupuncture**

*I.O. Pohodenko-Chudakova, E.V. Maksimovich*

The aim of the research was to develop the method of prevention of chronic toxicity of local anesthetics with acupuncture used in stomatology.

We examined 150 patients and formed the risk group according to the survey data, which described 78 patients who had in their medical history: the pathology of the hepatobiliary system; chronic alcoholism; women with toxicosis during pregnancy or rhesus-conflict; tuberculosis; chemotherapy. 54 of them needed surgical treatment. They were divided into two groups: group 1 (20 patients) had prophylactic electroacupuncture treatment, group 2 (24 patients) was the control one.

During the injection of local anesthetics and surgery we didn't notice the aggravation of the common state for the patients of group 1. The liver enzymes remained on the same level during the repeated biochemical analysis of blood. 5 patients of the control group had the increased level of liver enzymes and 3 patients had significant deterioration of general state. This proves that electroacupuncture can be used as method of prevention of toxic reactions on local anesthetics in dental treatment.

*Field of application:* oral and maxillofacial surgery and stomatology.

*Recommendations for use:* it is recommended to consider the obtained results when applying local anesthetics in clinics and hospitals.

*Offers for cooperation:* joint research on the problem.

УДК 616. 31-089-06-002-084

### **Способ профилактики воспалительных осложнений при операциях в полости рта**

*И.О. Походенько-Чудакова, А.П. Игнатович*

**Рубрика: 76.29.55**

*НИР:* «Оптимизация комплексных методов реабилитации пациентов в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии».

*Сроки выполнения НИР:* IV кв. 2011 г. — III кв. 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. И.О. Походенько-Чудакова.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработать способ профилактики воспалительных осложнений при операциях в полости рта при помощи рефлексотерапии и оценить его эффективность по данным показателя микрокристаллизации ротовой жидкости (РЖ).

Наблюдали 192 пациентов с распространенными амбулаторными хирургическими вмешательствами в полости рта. Группа 1 (59 человек) получала стандартный комплекс лечебно-профилактических мероприятий (полоскание 50 мл водного 0,05% раствора хлоргексидинабиглюконата). Группа 2 (61 пациент) с профилактической целью применяла «Септолете Д» — 1 таблетка. Группе 3 (42 человека) назначали «Септолете Д» и рефлексотерапию. Группа 4 (30 человек) для профилактики использовала только рефлексотерапию. Подбор пациентов в группы 3 и 4 осуществляли в строгом соответствии с показаниями и противопоказаниями к электрорефлексотерапии. Рефлексотерапию/ ДиаДЭНС-терапию проводили выносным точечным электродом в накожной проекции акупунктурных точек (АТ) широкого спектра действия (GI4, GI0, GI11, C7, C9, IG1, TR1, VB20, VG26) и локальных с учетом их соответствия сегменту, где выполнялась операция. Воздействие осуществляли при помощи аппарата ДиаДЭНС-ПК. Суммарная продолжительность воздействия в течение одной процедуры составляла 30 мин. Раздражение осуществляли в комфортном режиме с частотой от 10 до 77 Гц. Курс рефлексотерапии в указанных группах включал 5 процедур (одна — перед операцией и 4 — ежедневно или через день после вмешательства). Об эффективности профилактических мероприятий делали заключение на основании показателя микрокристаллизации РЖ. Данный показатель определяли до операции и через 7 сут после вмешательства. Полученные данные были обработаны статистически с помощью пакета прикладных программ «Statistica 8.0».

За эталон был принят исходный показатель микрокристаллизации общей группы пациентов до применения каких-либо лекарственных средств или методов профилактики и до операции 1,5 (1,4–1,8). На 7-е сут после операции показатель микрокристаллизации РЖ в группе 1 составил 2,1 (2,0–2,5), в группе 2 — 1,7 (1,6–1,9), в группе 3 — 1,5 (1,4–1,7), в группе 4 — 1,8 (1,6–2,0). При этом следует подчеркнуть, что данные групп 1, 2 и 4 достоверно варьировали по отношению к эталону ( $p < 0,05$ ). В группе 3 отличий от показателя нормы не обнаружено ( $p < 0,05$ ). Сравнение результатов исследования указывало на достоверное различие данных групп 2, 3 и 4 по отношению к значениям группы 1 ( $p = 0$ ); группы 2 по отношению к группе 3 ( $p = 0,02$ ); группы 4 по отношению к группе 3 ( $p = 0$ ).

Представленные результаты убеждают в эффективности предложенного способа профилактики воспалительных осложнений при операциях в полости рта, включающего использование рефлексотерапии в комплексе с лекарственными средствами.

*Область применения:* челюстно-лицевая хирургия, стоматология.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной проблеме.

### **Method of prevention of inflammatory complications in oral cavity surgeries**

*I.O. Pohodenko-Chudakova, A.P. Ignatovich*

The aim of work was to develop the method of inflammatory complications prevention in surgeries of the oral cavity with the help of acupuncture and evaluate its effectiveness according to the indices of oral fluid microcrystallization.

We examined 192 patients before and after the common surgical treatment of the oral cavity. Group 1 (59 patients) had the standard prophylactic treatment (50 ml of 0.05% water solution of chlorhexidinebigluconate). Group 2 (61 patients) took «Septolete D» pills. Group 3 (42 patients) took «Septolete D» and had acupuncture. Group 4 (30 patients) had the acupuncture treatment only. We made the conclusion about the effectiveness of prophylactic treatment according to the microcrystallization indices of oral fluid. These indices were determined before the operation and 7 days after the surgery. The obtained results prove the efficiency of the suggested method of inflammatory complications prevention during operations in the oral cavity which include the acupuncture treatment combined with drugs.

*Field of application:* oral and maxillofacial surgery and stomatology.

*Recommendations for use:* it is recommended to consider the obtained results when preparing surgeries in the oral cavity in polyclinics and hospitals.

*Offers for cooperation:* joint research on the problem.

УДК 611.145.16

### **Строение содержимого нижней глазничной щели человека**

*С.Д. Денисов, Ю.А. Гусева, Е.А. Неверовская*

**Рубрика: 34.41.02**

*НИИР:* «Видовые закономерности строения ряда органов разных систем в онтогенезе человека и животных в норме и под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды».

*Сроки выполнения НИИР:* 12.03.2008 — 31.12.2014.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. П.Г. Пивченко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — установить закономерности строения содержимого нижней глазничной щели человека.

Изучено 5 влажных препаратов глазницы на сагитальных распилах головы из коллекции кафедры нормальной анатомии БГМУ.

Использованы следующие методы: 1. Анатомический: а) рассечение кожи по краю глазницы; б) поднадкостничное извлечение глазничного органокомплекса; в) препарирование нижней стенки глазницы. 2. Гистологический: получены серии поперечных и продольных срезов толщиной 10 мкм содержимого ниж-

ней глазничной щели после предварительной фиксации препаратов в растворе 10%-го формалина. Срезы окрашены гематоксилином и эозином.

На срезах определяли: а) состав содержимого нижней глазничной щели; б) выраженность гладкой мышечной ткани.

В результате исследования установлено, что основу содержимого нижней глазничной щели во всех случаях составляет плотная соединительная ткань, что согласуется с данными литературы. Она заполняет щель на всем протяжении, подобно мембране плотно прилегая к краям щели и плотно срастаясь с надкостницей нижней стенки глазницы. В соединительной ткани присутствуют коллагеновые и эластические волокна, она пронизана сосудами и нервами. Между волокнами соединительной ткани во всех случаях выявлена гладкая мышечная ткань (согласно Международной анатомической терминологии, 2003 — глазничная мышца, *m. orbitalis*). Она представлена гладкими миоцитами, окруженными узкой прослойкой рыхлой волокнистой соединительной ткани.

Степень выраженности и расположение гладкой мышечной ткани в рассматриваемых случаях вариабельно. В 3 случаях в передних отделах нижней глазничной щели встречаются лишь одиночные гладкие миоциты, тогда как в задних отделах щели гладкие миоциты объединяются в более или менее обширные пучки и пласты. Полученные результаты подтверждают данные научных источников о расположении глазничной мышцы преимущественно в задних отделах нижней глазничной щели. Гладкомышечные пучки имеют разное направление, но преимущественно они ориентированы продольно вдоль плоскости нижней глазничной щели. В 1 случае гладкомышечные клетки, объединенные в пучки, равномерно распределены на всем протяжении нижней глазничной щели. В 1 случае содержимое нижней глазничной щели составляет почти исключительно плотная соединительная ткань, которая наподобие плотной перепонки перебрасывается между краями нижней глазничной щели, срастаясь с ними. В ее составе встречаются лишь единичные хаотично расположенные гладкомышечные клетки. Этот вариант строения содержимого нижней глазничной щели также описан в литературе. В данном случае это содержимое представляет собой рудимент обширной мышечной перепонки, существующий у животных, у которых глазница не отделена от височной ямки костями, например, у высших хищных позвоночных. У этих животных глазничная мышца образует латеральную стенку глазницы.

В результате исследования выявленные закономерности строения содержимого нижней глазничной щели заключаются в наличии в его составе плотной соединительной и гладкой мышечной ткани. В зависимости от степени выраженности и расположения выделены следующие варианты строения:

– преобладание гладкомышечных пучков в задних отделах нижней глазничной щели и единичные гладкие миоциты в ее передних отделах;

– равномерное расположение хаотично ориентированных гладкомышечных пучков в плотной соединительной ткани на всем протяжении нижней глазничной щели;

– преобладание плотной соединительно-тканной мембраны, заполняющей нижнюю глазничную щель, с единичными гладкими миоцитами в ней.

Наличие в составе содержимого нижней глазничной щели гладкомышечных клеток подтверждает их динамическую роль в оттоке венозной крови и положении глазного яблока в глазнице.

*Область применения:* анатомия человека, гистология, офтальмология.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования рекомендовано использовать в учебном процессе на кафедре нормальной анатомии, гистологии, офтальмологии.

*Предложения по сотрудничеству:* дальнейшие совместные исследования по данной теме.

### Structure of the lower orbital fissure content

*S.D. Denisov, Y.A. Guseva, E.A. Neverovskaya*

*Material of research* — the content of the lower orbital fissure on damp preparations of the orbit at 5 sagittal cuts of head from the collection of the Human Anatomy Department of the Belarusian State Medical University.

*Aim of research* — to establish the regularities of the human lower orbital fissure contents structure. Methods of research: anatomical, histological. *Obtained results and their novelty:* the study revealed that the content of the lower orbital fissure is the dense connective tissue and smooth muscle, the severity and location of it are variable.

*Field of application:* normal anatomy, histology, ophthalmology.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 618.3-06:616.12-008.331.1

### Прегестационные факторы риска гипертензивных осложнений при беременности

*Е.И. Барановская, О.А. Лосицкая, А.Н. Воронецкий*

**Рубрика: 76.29.48**

*НИИР:* «Разработать и внедрить комплексный метод диагностики и лечения позднего гестоза, позволяющий снизить удельный вес репродуктивных потерь, преждевременных родов и досрочных родоразрешений по экстренным показаниям».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2013 г. — декабрь 2015 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Е.И. Барановская.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — исследовать факторы риска развития гестоза и его осложнений с последующей разработкой способа их профилактики.

Обследованы 34 беременные на сроках гестации 30–41 неделя, проживающие в г. Минске и поступившие для лечения или родоразрешения в городской кли-

нический родильный дом № 2 г. Минска. Основная группа (n=20) — беременные с гестационной гипертензией и гестозом на сроках 30–40 недель; группа сравнения (n=14) — здоровые женщины с доношенной беременностью. Статистические данные приведены в виде отношения шансов (OR) и его 95% доверительного интервала (CI), критерия значимости различий для  $\chi^2$  или критерия Фишера. Статистически значимым критерием принят  $p < 0,05$ . Возраст пациенток основной группы составил 28,2 года, группы сравнения — 29,4 года; первобеременных было соответственно 35,0 и 28,6%, первородящих 55,0 и 42,9%. Из сопутствующей соматической патологии диагностированы заболевания: артериальная гипертензия I и II ст. (n=9), малые аномалии развития сердца без нарушений кровообращения (n=2), хронический пиелонефрит (n=2), гипотиреоз медикаментозно скорректированный (n=2), нарушение жирового обмена (n=6). Равные доли пациенток назвали болезни системы кровообращения и обмена веществ у родителей: 55% случаев в основной группе и 50% в группе сравнения, причем один из родителей умер до достижения пенсионного возраста от болезней системы кровообращения соответственно у 3 и 2 пациенток. Все пациентки состояли на диспансерном учете по беременности с I триместра в поликлиниках по месту жительства. Беременность была плановой у меньшей доли женщин — 45% в основной группе и 42,9% — в группе сравнения, в программе прегравидарной подготовки к беременности лишь 4 пациентки (1 и 3 соответственно) принимали фолиевую кислоту в профилактической дозе в течение 1–2 мес. и продолжили ее принимать в I триместре. В I триместре 29 пациенток начали принимать фолиевую кислоту (17 и 12 соответственно), получали ее на протяжении от 2–3 до 10–12 недель после диагностированной беременности на сроках 8–10 недель при взятии на диспансерный учет. В основной группе было 9 женщин с гипертензией, предшествовавшей настоящей беременности и проявившейся в первой половине беременности, и 12 — с гестозом. Наличие и уровень протеинурии, а также других лабораторных критериев степени тяжести гестоза не коррелировали с уровнем артериального давления. Всем пациентам назначали симптоматическую и патогенетическую терапию, но антигипертензивные лекарственные средства получали 11 (55%) беременных основной группы. Риск развития гипертензивных осложнений периода гестации при наличии фоновой патологии значимо возрастал в 4,5 раза (OR=4,5; CI 1,1–18,7;  $p=0,03$ ), в т. ч. при гипертензии до настоящей беременности (OR=9,4; CI 2,0–43,3;  $p=0,03$ ) и нарушении жирового обмена (OR=7,4; CI 1,3–43,3;  $p=0,03$ ). Досрочно родоразрешены 8 (40%) пациенток с гипертензивными расстройствами (OR=8,7; CI 1,8–42,3;  $p=0,03$ ), из которых прегравидарная подготовка с приемом фолиевой кислоты была лишь у одной (OR=16,5; CI 2,5–111,1;  $p=0,01$ ). Показания для досрочного родоразрешения: отсутствие эффекта медикаментозного лечения гестоза с его переходом в более тяжелую степень (4 пациентки) и декомпенсация хронической плацентарной недоста-

точности и хронической гипоксии плода (4 пациентки). Все родившиеся дети живы. В отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных на лечении находилось 7 (35%) детей из основной группы, в т. ч. 6 в связи с респираторными расстройствами и 1 с внутриутробной инфекцией, из группы сравнения — 1 ребенок в связи с интранатальной гипоксией после использования вакуум-экстракции. На искусственной вентиляции легких находилось 4 ребенка из основной группы, причем из 9 женщин, принимавших фолиевую кислоту на протяжении 10 недель и более, лишь у одной матери ребенок нуждался в искусственной вентиляции легких (OR=18,9; CI 3,1–113,7;  $p=0,006$ ). По полученным нами результатам значимыми факторами риска гестоза и гипертензивных осложнений, досрочного родоразрешения, пребывания новорожденного в отделении реанимации и интенсивной терапии с искусственной вентиляцией легких являются соматическая фоновая патология (OR=4,5; CI 1,1–18,7;  $p=0,03$ ); гипертензия до настоящей беременности (OR=9,4; CI 2,0–43,3;  $p=0,03$ ), нарушение жирового обмена (OR=7,4; CI 1,3–43,3;  $p=0,03$ ); отсутствие прегравидарной подготовки с приемом фолиевой кислоты (OR=16,5; CI 2,5–111,1;  $p=0,01$ ) и длительность ее приема менее 10 недель в I триместре (OR=18,9; CI 3,1–113,7;  $p=0,006$ ).

*Область применения:* акушерство и гинекология.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по проблемам гестоза.

### **Pregestational risk factors of hypertensive complications during pregnancy**

*E.I. Baranovskaya, O.A. Lositskaya, A.N. Voronetsky*

The study included 34 pregnant women at 30–41 weeks of gestation, who received treatment or childbirth in the clinical maternity hospital № 2 in Minsk. Objective: to investigate the risk factors for preeclampsia and its complications with subsequent development of ways to prevent them. The main group ( $n=20$ ) — pregnant women with gestational hypertension and preeclampsia, the control group ( $n=14$ ) — healthy women with full-term pregnancy. Identified significant risk factors for preeclampsia and hypertensive complications, forced childbirth, newborn stay in the intensive care unit and intensive care with mechanical ventilation: background somatic pathology (OR=4,5; CI 1,1–18,7;  $p=0,03$ ), hypertension before the current pregnancy (OR=9,4; CI 2,0–43,3;  $p=0,03$ ), disorders of fat metabolism (OR=7,4; CI 1,3–43,3;  $p=0,03$ ); absence of pregravidal preparation using folic acid (OR=16,5; CI 2,5–111,1;  $p=0,01$ ) and duration of receiving folic acid less than 10 weeks in the I trimester (OR=18,9; CI 3,1–113,7;  $p=0,006$ ).

*Field of application:* obstetrics and gynecology.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.2+616.839:[616-018.2-056.7

### **Корреляции параметров внешнего дыхания и вегетативного тонуса у лиц призывного возраста с наследственными нарушениями соединительной ткани**

*А.С. Рудой, А.А. Бова, А.Г. Горустович, А.М. Урываев*

**Рубрика:** 76.29.34

*НИИ:* «Оценка функционального состояния дыхательной системы у мужчин призывного возраста с недифференцированной дисплазией соединительной ткани».

*Сроки выполнения НИИ:* март 2008 г. — январь 2014 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук А.С. Рудой.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — оценить параметры функции внешнего дыхания у лиц молодого возраста и установить, влияют ли определенные фенотипические характеристики ННСТ (диспластические фенотипы) на их особенности.

В результате простого одномоментного исследования выполнена оценка параметров функции внешнего дыхания 203 мужчин (средний возраст  $21,3 \pm 1,15$  года). Деление групп основывается на выделении не- и классифицированных диспластических синдромов и фенотипов с учетом молекулярно-генетического дефекта соединительной ткани, предопределяющего механизмы развития патологического процесса при ненаследственных нарушениях соединительной ткани (ННСТ). Первая группа — пациенты с повышенной диспластической стигматизацией (ПДС) (3–5 внешних фена;  $n=63$ ); 2-я — с системным вовлечением соединительной ткани и делением на две подгруппы: 2-я А — гипермобильный фенотип ( $n=27$ ); 2-я Б — марфаноподобный и неклассифицируемый диспластический фенотип с преимущественным вовлечением костно-мышечной системы ( $n=28$ ). Группу контроля ( $n=85$ ) составили пациенты с 1–2 фенами. Для распознавания диспластических синдромов и фенотипов использовались алгоритм и автоматизированная информационная система диагностики, разработанные с учетом международных критериев диагностики (синдром Марфана, синдром гипермобильности суставов и пр.). Параметры функции внешнего дыхания (ФВД) определяли с помощью автоматизированного спирометра «МАС-1-А» (Республика Беларусь). Анализ вариабельности сердечного ритма (ВРС) проводился исходно в положении лежа (в состоянии расслабленного бодрствования после 15 мин адаптации) и в условиях активной ортостатической пробы в соответствии с Рекомендациями рабочей группы Европейского кардиологического общества и Североамериканского общества стимуляции и электрофизиологии на аппаратно-программном комплексе типа ВНС-спектр. Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» (Version 6, Stat.SoftInc.).

Результаты сопоставления показателей ФВД в группе сравнения и оппозитной группе свидетельствовали об отсутствии органического поражения трахеобронхиального дерева.

Однако при проведении сравнительного анализа по

Kruskal-Wallis отмечены тенденции к снижению функциональных резервов кардиореспираторной системы у лиц с ННСТ: увеличение жизненной емкости легких (ЖЕЛ) ( $p < 0,07$ ), форсированной ЖЕЛ ( $p < 0,06$ ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) ( $p < 0,05$ ). Дополнительно у пациентов 2-й А группы отмечено снижение пиковой объемной скорости выдоха (ПОСвыд) ( $p < 0,01$ ), предположительно возникающее вследствие относительно полного выполнения легочной тканью значительно ограниченного объема грудной клетки и снижения эластических свойств (повышения растяжимости), что может соответствовать так называемому экспираторному стенозу трахеи и крупных бронхов. Это косвенно подтверждается достоверным ( $p < 0,04$ ) снижением  $МОС_{25}$ ,  $МОС_{50}$ ,  $МОС_{75}$ ,  $СОС_{25-75}$  в

указанной группе.

При субгрупповом анализе внутри 2-й группы имелись значимые различия параметров ФВД, вероятно, являющиеся отражением различных патогенетических механизмов формирования диспластических фенотипов. Изменения ФЖЕЛ, ОФВ<sub>1</sub>, индекса Тиффно, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ,  $ПОС_{выд}$ ,  $МОС_{25}$

$МОС_{50}$ ,  $СОС_{25-75}$  носили разнонаправленный характер ( $p < 0,05$ ), снижаясь во 2-й А группе с гипермобильным фенотипом ( $p < 0,05$ ) относительно 2-й Б группы, что свидетельствовало о нарушениях в крупных и средних бронхах и обструктивных изменениях на уровне мелких бронхов и бронхиол, патогенетически, как правило, связанных с бронхоспазмом. Вариант выявления функциональных респираторных отклонений может

Таблица 1

Характеристика групп по результатам функции внешнего дыхания

	Контроль (n=31)			1-я группа (n=30)			2-я А группа (n=25)			2-я Б группа (n=28)			Kruskal-Wallis
ЖЕЛ	5,3	±	1,1	5,6	±	0,8	5,7	±	0,6	6,2	±	0,9	0,07
%	98,3	±	19,4	102,6	±	13,0	101,4	±	10,4	113,4	±	11,8	0,05
ДО	1,0	±	0,4	0,9	±	0,3	1,2	±	0,8	1,1	±	0,4	0,56
%	120,2	±	49,3	111,7	±	39,2	141,1	±	84,4	139,7	±	65,7	0,51
МОД	12,4	±	5,7	11,3	±	4,9	13,8	±	5,5	14,0	±	7,3	0,28
%	129,3	±	51,3	132,7	±	75,8	175,4	±	66,2	181,8	±	137,1	0,06
РО выд	1,6	±	0,5	1,6	±	0,5	1,9	±	0,4	2,0	±	0,7	0,03
РО вд	2,8	±	0,9	3,1	±	0,7	2,6	±	0,8	3,1	±	0,7	0,11
ЧД	12,8	±	3,8	12,5	±	3,6	13,8	±	6,1	12,6	±	4,2	0,94
ФЖЕЛ	5,2	±	1,1	5,7	±	0,9	5,5	±	0,5	6,0	±	0,8	0,06
%	99,2	±	20,0	106,2	±	13,7	100,2	±	8,9	113,0	±	8,0	0,05
ОФВ1	4,5	±	1,0	4,7	±	0,6	4,5	±	0,4	5,4	±	0,7	0,05
%	101,6	±	21,4	105,1	±	13,7	97,1	±	9,3	119,0	±	11,0	0,01
ОФВ1/ФЖЕЛ	84,5	±	16,3	84,5	±	8,4	82,1	±	5,3	89,3	±	4,4	0,02
ИндТиф	82,3	±	15,8	85,0	±	8,8	78,5	±	5,4	86,7	±	6,1	0,02
ПОСвыд	8,5	±	2,2	8,5	±	1,6	7,8	±	1,8	10,6	±	2,1	0,01
%	87,9	±	23,0	86,3	±	17,6	77,4	±	17,5	108,0	±	15,7	0,01
МОС25	7,9	±	2,0	7,7	±	1,5	6,8	±	1,3	9,8	±	1,9	0,04
%	89,8	±	23,1	87,0	±	18,3	74,2	±	13,6	110,1	±	15,6	0,07
МОС50	5,9	±	1,7	5,7	±	1,5	4,9	±	1,0	7,7	±	1,3	0,04
%	95,4	±	28,1	91,2	±	24,5	76,0	±	16,6	122,9	±	14,0	0,03
МОС75	2,9	±	0,9	3,0	±	1,1	2,9	±	1,3	3,4	±	0,8	0,02
%	100,3	±	30,3	102,2	±	41,6	91,6	±	30,5	112,6	±	24,3	0,04
СОС25-75	5,3	±	1,4	5,2	±	1,3	4,6	±	0,9	6,6	±	1,1	0,05
%	101,6	±	27,6	99,7	±	26,5	85,6	±	18,0	123,9	±	18,0	0,05

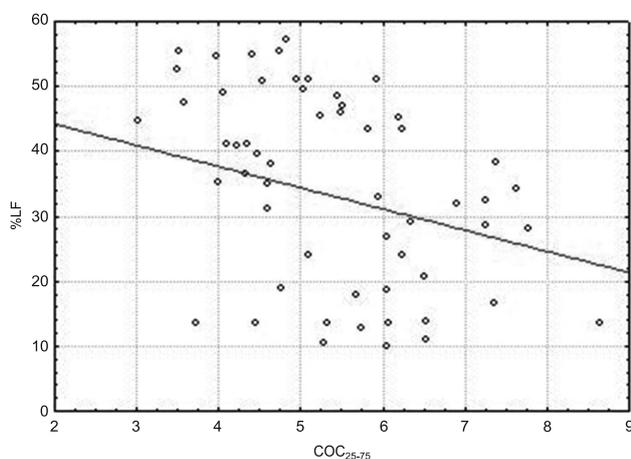


Рис. 1. Корреляция %LF и средней объемной скорости 25–75%

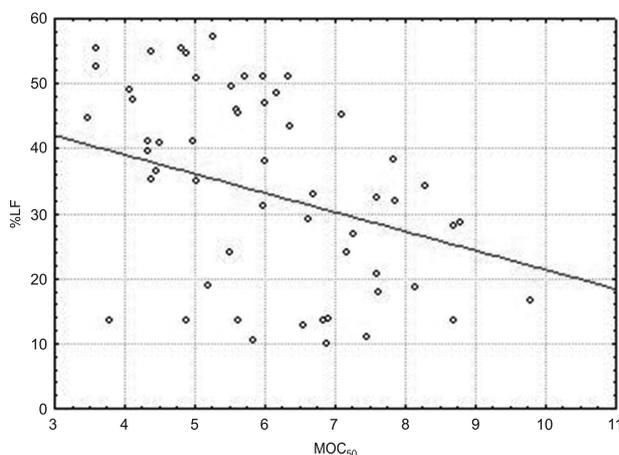


Рис. 2. Корреляция %LF и максимальной объемной скорости 50%

соответствовать концепции дефицита внеклеточного матричного белка тенаскина-Х (tenascin-X) как молекулярной основы развития морфологической аномалии эластических волокон у лиц с гипермобильным фенотипом. В литературе имеются указания на формирование экспираторного стеноза трахеи и главных бронхов по мере увеличения степени пролабирования мембранозной части трахеи и главных бронхов. Тогда как во 2-й Б группе с преимущественно костными признаками ННСТ могут иметься отличные механизмы.

С целью установления общих физиологических закономерностей и взаимосвязи ФВД с реактивностью вегетативной нервной системы (ВНС) представляются интересными выявленные корреляции параметров ФВД и ВРС (табл. 2), отражающие их функциональную связь. В частности, выявлена сильная отрицательная корреляция симпато-вагального индекса с мгновенной объемной скоростью 75% и тем же индексом симпато-вагального взаимодействия, но после ортропробы с индексом Тиффно, являющимся чувствительным маркером наличия или отсутствия ухудшения проходимости дыхательных путей (рис. 1, 2).

Исходя из отмеченных функциональных нарушений ФВД по обструктивному варианту у лиц 2-й А

группы, можно предположить сопряженность их генеза с активностью симпатического отдела ВНС (%LF), что подтверждается их выше установленной взаимосвязью. Можно предположить два принципиальных механизма снижения объемных и скоростных параметров ФВД у лиц с ННСТ: избыточную растяжимость и нарушенную эластичность легочной ткани на фоне измененной структуры белков соединительной ткани и сдвиг симпато-вагального равновесия в виде преимущественной активации холинергических рецепторов или более сложные взаимодействия парасимпатического и симпатического отделов ВНС на уровне эффекторных гладких мышечных клеток бронхов.

*Выводы:*

1. Особенности вентиляционных отклонений у пациентов с гипермобильным фенотипом могут быть охарактеризованы как «обструктивные» со снижением ОФВ<sub>1</sub>, индекса Тиффно, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ, ПОС, МОС<sub>25</sub>, МОС<sub>50</sub>, СОС<sub>25-75</sub>, свидетельствующие о функциональных отклонениях проходимости бронхиального дерева.

2. Установлена взаимосвязь параметров ФВД и ВРС, говорящая о снижении скоростных и объемных показателей на фоне преобладания активности

Таблица 2

Ранговые корреляции Спирмена параметров функции внешнего дыхания и variability сердечного ритма

	TP	TP1	LF HF	LF/HF1	% VLF	% VLF1	%HF	%HF1	%LF	%LF1	VLF	LF1	HF	HF1
ЖЕЛ	<b>-0,32</b>	<b>-0,42</b>	-0,09	<b>0,23</b>	<b>0,37</b>	<b>0,31</b>	-0,17	<b>-0,24</b>	<b>-0,29</b>	0,14	-0,11	-0,27	<b>-0,26</b>	-0,05
%	-0,18	<b>-0,19</b>	0,05	0,05	<b>0,19</b>	0,06	-0,12	-0,03	-0,11	0,12	-0,20	-0,26	<b>-0,27</b>	-0,13
ДО	0,03	0,08	<b>0,22</b>	-0,09	0,02	-0,27	<b>-0,28</b>	0,12	0,12	0,16	0,04	-0,22	-0,21	-0,27
%	0,09	0,15	<b>0,25</b>	-0,13	-0,05	-0,31	<b>-0,25</b>	0,16	0,18	0,16	0,03	-0,21	-0,20	<b>-0,28</b>
МОД	<b>0,35</b>	<b>0,30</b>	0,09	<b>-0,20</b>	<b>-0,23</b>	-0,29	0,01	<b>0,23</b>	0,21	-0,08	<b>0,30</b>	-0,10	0,19	-0,22
%	<b>0,34</b>	0,19	-0,10	-0,07	-0,06	-0,13	0,03	0,08	-0,04	-0,17	<b>0,31</b>	-0,09	<b>0,26</b>	-0,23
РО выд	0,10	-0,18	<b>-0,29</b>	0,06	0,06	0,13	<b>0,19</b>	-0,08	<b>-0,32</b>	0,06	0,20	-0,02	0,14	0,11
РО вд	<b>-0,33</b>	<b>-0,26</b>	0,11	0,07	<b>0,24</b>	0,20	-0,18	-0,11	-0,07	0,04	<b>-0,31</b>	-0,11	<b>-0,30</b>	0,11
ЧД	<b>0,47</b>	<b>0,37</b>	-0,01	<b>-0,29</b>	<b>-0,37</b>	-0,21	<b>0,29</b>	<b>0,28</b>	<b>0,22</b>	<b>-0,27</b>	<b>0,28</b>	0,24	<b>0,47</b>	<b>0,31</b>
ФЖЕЛ	-0,13	<b>-0,23</b>	0,03	-0,06	0,09	0,00	-0,05	0,05	-0,12	0,08	-0,07	-0,26	<b>-0,26</b>	0,07
%	-0,07	-0,10	0,13	-0,13	0,04	-0,11	-0,07	0,14	-0,02	0,10	-0,13	<b>-0,32</b>	-0,25	-0,05
ОФВ1	<b>-0,20</b>	<b>-0,21</b>	-0,07	-0,12	<b>0,19</b>	0,01	-0,05	0,08	<b>-0,27</b>	-0,10	-0,01	<b>-0,30</b>	<b>-0,34</b>	0,10
%	-0,16	-0,12	-0,03	-0,17	0,14	-0,08	-0,03	0,14	<b>-0,21</b>	-0,11	-0,12	<b>-0,36</b>	<b>-0,32</b>	-0,02
ОФВ1/ФЖ	-0,07	0,02	-0,16	<b>-0,20</b>	-0,02	-0,08	0,14	0,16	-0,17	<b>-0,21</b>	-0,13	-0,20	-0,18	-0,02
Инд/Тиф	0,07	0,17	-0,03	<b>-0,36</b>	-0,15	-0,26	0,11	<b>0,33</b>	0,00	<b>-0,27</b>	-0,03	-0,20	-0,17	0,02
ПОСвыд	-0,09	-0,07	0,05	<b>-0,22</b>	0,02	-0,09	0,04	0,16	-0,06	0,02	-0,20	-0,21	-0,44	0,06
%	-0,04	-0,02	0,09	<b>-0,25</b>	-0,01	-0,15	0,03	<b>0,21</b>	-0,01	0,02	<b>-0,26</b>	-0,27	<b>-0,44</b>	-0,04
МОС25	-0,12	-0,09	0,05	-0,16	0,06	-0,06	0,00	0,11	-0,08	0,06	-0,23	-0,25	<b>-0,44</b>	-0,04
%	-0,10	-0,05	0,08	-0,18	0,04	-0,10	0,00	0,14	-0,03	0,06	<b>-0,31</b>	<b>-0,30</b>	<b>-0,41</b>	-0,12
МОС50	<b>-0,19</b>	-0,16	-0,15	-0,14	0,15	0,02	0,06	0,08	<b>-0,31</b>	-0,14	-0,05	<b>-0,40</b>	<b>-0,29</b>	-0,01
%	-0,13	-0,11	-0,15	-0,18	0,08	-0,03	0,10	0,11	<b>-0,27</b>	-0,15	-0,05	<b>-0,45</b>	-0,24	-0,10
МОС75	-0,18	-0,16	<b>-0,27</b>	-0,09	<b>0,19</b>	0,09	0,06	0,02	<b>-0,36</b>	<b>-0,28</b>	0,19	-0,11	-0,01	0,11
%	-0,16	-0,12	<b>-0,27</b>	-0,09	0,14	0,05	0,10	0,03	<b>-0,35</b>	<b>-0,25</b>	0,17	-0,04	0,08	0,09
СОС25-75	<b>-0,20</b>	-0,15	-0,11	-0,14	0,18	0,03	0,00	0,07	<b>-0,29</b>	-0,15	-0,03	<b>-0,31</b>	<b>-0,31</b>	0,03
%	-0,15	-0,08	-0,08	<b>-0,20</b>	0,11	-0,06	0,02	0,14	<b>-0,23</b>	-0,16	-0,08	<b>-0,34</b>	<b>-0,29</b>	-0,02

Примечание: полужирным шрифтом отмечены корреляции с уровнем значимости  $p < 0,05$ .

симпатического отдела ВНС.

3. Сопряженность выявленных отклонений параметров ФВД с реактивностью и тонусом ВНС у лиц с ГМФ может свидетельствовать и отражать в целом снижение у них резерва кардиореспираторной системы.

*Область применения:* кардиология, внутренние болезни.

*Рекомендации по использованию:* при расчете адаптационного потенциала кардиореспираторной системы военнослужащих с учетом клинических признаков ННСТ (определенных диспластических синдромов и фенотипов) при решении экспертных вопросов.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по указанной тематике.

### **Correlation of lung function parameters and tone of the autonomic nervous system in patients of conscription age with hereditary disorders of connective tissue**

*A.S. Rudoy, A.A. Bova, A.G. Gorustovich, A.M. Uryvaev*

The objective was to estimate the parameters of respiratory function and to establish if there was an influence of phenotypic characteristics of hereditary disorders of connective tissue (HDCT) on young individuals. 203 men aged  $21.3 \pm 1.15$  years with some dysplastic phenotypes were investigated. In general, there were identified private violations in speed and volume indices of external respiration in conjunction with abnormal autonomic software on the background of associated HDCT. This means desadaptation and reducing reserve of the cardiorespiratory system. Patients with hypermobility phenotype showed declines in forced breathing. This means functional disorders of patency of large and medium bronchi, probably as a consequence of reduced elasticity and excessive elongation.

The Data can be recommended for determination of the adaptive capacity of the cardiorespiratory system patients with the clinical signs of HDCT (defined dysplastic syndromes and phenotypes).

*Offers for cooperation:* advisory assistance, joint research.

УДК 611.361./367

### **Вариабельность морфометрических параметров общего желчного протока при анатомическом и ультразвуковом исследованиях**

*П.Г. Пивченко, А.В. Самохина*

**Рубрика: 34.41.35**

*НИИР:* «Строение и развитие желчевыводящих путей у человека и белой крысы в норме и эксперименте».

*Сроки выполнения НИИР:* 2010–2013 гг.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. П.Г. Пивченко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — установить соматотипические особенности морфометрических характеристик общего желчного

протока (ОЖП) взрослого человека при анатомическом и ультразвуковом исследовании (УЗИ).

Макромикроскопически исследовано 140 органокомплексов печени с двенадцатиперстной кишкой и поджелудочной железой человеческих групп 55–74 лет. Также проведено УЗИ 97 пациентам 30–78 лет, не имеющим по данным истории болезни патологии со стороны желчевыводящей системы.

Установлена корреляционная связь соматотипа с величинами длины ( $H=62,5$ ;  $p<0,0001$ ) и ширины ( $H=58,2$ ;  $p<0,0001$ ) общего желчного протока.

По длине ОЖП лица брахиморфного (52,0 (40,0; 62,0) мм) и мезоморфного (58,0 (48,0; 60,0) мм) типов телосложения не отличаются ( $p>0,05$ ). При мез- и брахиморфном типах телосложения имела место статистически достоверно меньшая длина общего желчного протока по сравнению с долихоморфным типом (73,0 (70,0; 79,0) мм):  $U=9,0$  и  $U=16,0$ ,  $p<0,0001$  соответственно.

Медиана ширины общего желчного протока у лиц брахиморфного типа телосложения составила 10,0 (8,0; 11,0) мм и оказалась статистически достоверно больше таковой у лиц мезоморфного (6,0 (5,0; 8,0) мм) и долихоморфного (5,0 (5,0; 6,0) мм) типов телосложения:  $U=72,0$  и  $U=10,5$ ;  $p<0,0001$  соответственно. В свою очередь лица мезо- и долихоморфного типов телосложения также имели статистически достоверные различия по ширине общего желчного протока:  $U=313,0$ ;  $p=0,005$ .

Выявлен коэффициент корреляции соматотипа с длиной ( $r=-0,75$ ) и шириной ОЖП ( $r=0,77$ ). У лиц брахиморфного типа телосложения длина ОЖП уменьшается (сильная отрицательная связь), а ширина увеличивается (сильная положительная связь) по отношению к лицам долихоморфного соматотипа.

В целом, как показало исследование, конституциональные различия строения у мужчин и женщин проявляются большей длиной холедоха при долихоморфном типе телосложения ( $p<0,001$ ) и большей шириной при брахиморфном ( $p<0,01$ ). Морфометрические параметры длины и ширины ОЖП мужчин и женщин с мезоморфным типом телосложения имеют промежуточные значения ( $p<0,01$ ).

По данным ультразвукового исследования ширина общего желчного протока у всех пациентов в среднем составила 6,0 (5,0; 7,0) мм.

При статистическом анализе установлена зависимость ширины ( $H=55,5$ ;  $p<0,0001$ ) общего желчного протока от соматотипа.

Так, данный параметр по результатам ультразвукового исследования у лиц брахиморфного типа оказался статистически достоверно больше ширины общего желчного протока лиц мезоморфного ( $U=138,5$ ,  $p<0,0001$ ) и долихоморфного ( $U=27,0$ ,  $p<0,0001$ ) типов телосложения. В свою очередь лица мезоморфного типа телосложения имели достоверно большую ( $U=281,0$ ;  $p=0,0005$ ) ширину ОЖП, чем представители долихоморфного соматотипа.

Корреляционный анализ Спирмена установил

сильную положительную корреляционную связь между шириной ОЖП и типом телосложения человека: у лиц с брахиморфным типом ширина увеличивается в сравнении с долихоморфным.

Таким образом, данные УЗИ в целом согласуются с результатами анатомо-морфометрического исследования общего желчного протока здоровых лиц: при долихоморфном типе телосложения ширина общего желчного протока меньше, чем при брахиморфном ( $p < 0,05$ ).

*Область применения:* анатомия человека, хирургия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут применяться в качестве морфологической базы при анатомических исследованиях, а также в гепатологии и для объективной интерпретации современных инструментальных методов диагностики на внепеченочных желчных путях.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной теме с кафедрой хирургии, лучевой диагностики.

### **Variability of the morphometry characteristics of extrahepatic bile ducts in anatomic and ultrasonic diagnostics**

*P.G. Pivchenko, A.V. Samokhina*

*Aim:* to determine somatotypical features of variant anatomy of morphometric characteristics of common bile duct in adults with anatomic and ultrasonic diagnostics.

140 samples of liver with duodenum and pancreas in adults were studied with help of anatomic diagnostics; 97 patients were studied with help of ultrasonic diagnostics. We established morphometry characteristics of extrahepatic bile ducts and revealed additional bile ducts with their characteristic relations and topography with help of the ultrasonic diagnostics.

*Field of application:* human anatomy, surgery.

*Recommendation for use:* research results can be used as a morphological base for anatomical studies as well as hepatology and objective interpretation of current instrumental methods of diagnosis on extrahepatic bile ducts.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.24-002.5-085.28.065-084-053.6

### **Метод многоцветной магнитолазеротерапии в профилактике и коррекции гепатотоксических побочных эффектов химиотерапии туберкулеза легких у подростков 15–17 лет**

*Г.Л. Бородина, П.С. Кривонос, Ж.И. Кривошеева, Н.А. Емельянова, Н.С. Морозкина, Н.В. Мановицкая, И.В. Бабченко, И.В. Соколовская*

**Рубрика: 76.29.53**

*НИР:* «Разработать и внедрить в практику программы профилактики и новые методы улучшения переносимости и повышения эффективности химиотерапии туберкулеза у детей и подростков».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2010 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Г.Л. Гуревич.

*Организации-соисполнители:* ГУ «Республиканский научно-практический центр "Мать и дитя"», ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — разработка и оценка эффективности новых методов улучшения переносимости и повышения эффективности химиотерапии туберкулеза у детей и подростков.

В современных условиях проблема повышения эффективности лечения туберкулеза сохраняет свою актуальность. Основу лечения туберкулеза составляет длительная и интенсивная полихимиотерапия из 4–6 лекарственных средств, что нередко приводит к тяжелым побочным реакциям. Побочное действие противотуберкулезных лекарственных средств является серьезным препятствием для соблюдения основных принципов этиотропной терапии туберкулеза — комплексности, непрерывности и длительности. Наиболее часто встречаются гепатотоксические побочные эффекты противотуберкулезных лекарственных средств.

Изучены клинико-функциональные особенности течения туберкулеза у 102 детей и подростков. Доказано, что современный период характеризуется отрицательным патоморфозом легочного туберкулеза у детей с преобладанием распространенных форм, высоким удельным весом лекарственно-устойчивого туберкулеза и снижением эффективности лечения.

Обобщены характер, частота, интенсивность и сроки развития побочных эффектов химиотерапии у 60 подростков 15–17 лет. Выявлено, что у 50% пациентов возникают побочные реакции на противотуберкулезные лекарственные средства, риск развития которых значительно возрастает при наличии множественной лекарственной устойчивости возбудителя и сопутствующей хронической патологии.

Научнообоснована целесообразность проведения лазеротерапии на область печени с целью профилактики и коррекции побочных эффектов химиотерапии туберкулеза у подростков. Разработан метод магнитолазеротерапии (МЛТ) заключается в использовании многоцветного светодиодного и лазерного излучения в сочетании с постоянным магнитным полем на точки в области проекции печени, а также паравертебрально последовательно излучением синей области спектра, лазерным излучением красной и ближней инфракрасной области спектра на фоне полихимиотерапии. Определены показания, абсолютные и относительные противопоказания для его проведения и перечень необходимого оборудования.

Разработанный метод прошел апробацию в клинике ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии». Оценка эффективности и безопасности разработанного метода с целью коррекции гепатотоксического действия противотуберкулезных лекарственных средств показал, что

никаких нежелательных явлений физиотерапевтического лечения не было выявлено. Отмечено исчезновение или значительное снижение проявлений побочных эффектов: уменьшение слабости, утомляемости, восстановление аппетита, купирование тошноты и болей в области печени. Улучшение клинических показателей в основной группе пациентов на фоне МЛТ сопровождалось восстановлением и более быстрой нормализацией уровней АСТ и АЛТ.

Применение МЛТ на область печени с профилактической целью позволило снизить частоту гепатотоксических побочных реакций на прием противотуберкулезных лекарственных средств у подростков, страдающих туберкулезом, в 2 раза (11,7 и 26,7%). Кроме того, все побочные эффекты, появившиеся у пациентов основной группы, были легкими, в группе сравнения 1/3 побочных эффектов была средней степени тяжести.

Таким образом, доказано, что применение лазеротерапии способствует снижению частоты и тяжести побочных эффектов химиотерапии. Разработанный метод отличается высокой эффективностью и безопасностью и может быть использован в комплексном лечении подростков с туберкулезом легких на различных этапах химиотерапии для профилактики и коррекции побочного действия противотуберкулезных лекарственных средств.

Внедрение метода будет способствовать улучшению качества медицинской помощи детям и подросткам, страдающим туберкулезом, а также сокращению экономических затрат, связанных с длительностью стационарного лечения, и прямыми расходами на медикаменты для коррекции нежелательных эффектов химиотерапии.

*Вид патентной защиты:* заявка на патент № а20120707 от 7.05.2013.

*Область применения:* фтизиопедиатрия, физиотерапия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в детских фтизиатрических и физиотерапевтических отделениях организаций здравоохранения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

**Method of multicolor magnetic laser therapy for prevention and correction of hepatotoxic side effects of lung tuberculosis treatment in teenagers of 15–17 years old**

*G.L. Borodina, P.S. Krivonos, Z.I. Kryvosheeva,  
N.A. Emelianova, N.S. Morozkina, N.V. Manovitskaya,  
I.V. Babchonok, I.V. Sokolovskaya*

To evaluate the efficiency of laser therapy 120 patients with lung tuberculosis aged 15-17 years were examined. Basic group received the course of laser therapy on the hepatic area. Laser therapy has positive impact on prevention and correction of side effects of lung tuberculosis treatment.

*Field of application:* phthisiatry and physiotherapy.

*Recommendation for use:* investigation results should be used in departments of phthisiatry and physiotherapy.

*Offers for cooperation:* consultative assistance.

УДК 611.145/.146.018-053.13

**Морфогенез области устьев полых вен в эмбриональном периоде человека**

*T.V. Сахарчук*

**Рубрика: 34.41.02**

*НИР:* «Видовые закономерности строения ряда органов разных систем в онтогенезе человека и животных в норме и под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды».

*Сроки выполнения НИР:* 12.03.2008 — 31.12.2014.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. П.Г. Пивченко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — установить закономерности развития устьев полых вен в пренатальном периоде онтогенеза человека.

Углубленное изучение области устьев крупных приносящих сосудов сердца обусловлено выдвинутой клиницистами теорией спонтанной фибрилляции предсердий из области устьев полых и легочных вен. Согласно современным данным эктопический очаг возбуждения, приводящий к возникновению фибрилляции предсердий, примерно в 95% случаев локализуется в устьях легочных вен, реже он находится в области устьев полых вен. Знания о закономерностях развития венозных отверстий сердца и нормальном их строении необходимы для понимания генеза и диагностики патологических состояний, связанных с данной областью, а также для правильной оценки морфологических изменений при том или ином виде патологии.

Изучено 133 серии сагиттальных, поперечных и фронтальных срезов эмбрионов человека из коллекции кафедры нормальной анатомии Белорусского государственного медицинского университета в возрасте от 2 недель до 3 мес. — от 4 до 30 мм теменно-копчиковой длины (ТКД). Для гистологического исследования использовались импрегнирование азотнокислым серебром по методу Бильшовского–Буке и окраска гематоксилином и эозином и по Ван–Гизону.

В ходе исследования установлено, что на 3 и 4-й неделях эмбриогенеза (4–8 мм ТКД) в сердце человека различимы: венозный синус, правое и левое предсердия, правый и левый желудочки, артериальный конус. Синуснопредсердное отверстие ограничено правой и левой синуснопредсердными заслонками, которые практически равновелики. В венозном синусе определяется правый рог, левый рог и поперечная часть. В правый рог вливается правая общая кардинальная вена, в левый – левая общая кардинальная вена, в поперечную часть – нижняя полая вена. Стенка вышеуказанных вен представлена одним слоем эндотелиальных клеток и окружена рыхлой зародышевой мезенхимой. На 5-й

неделе (9–13 мм ТКД) правая синусопредсердная заслонка заметно опережает в росте левую, и эта разница неуклонно прогрессирует. Левая заслонка постепенно сближается с развивающейся вторичной межжелудочковой перегородкой и начинает сливаться с ней. При 10 мм ТКД можно заметить расщепление нижнего конца правой синусопредсердной заслонки на заслонку нижней поллой вены и заслонку венозного синуса. На 6 и 7-ю недели (14–22 мм ТКД) происходит заметное отставание в росте левой общей кардиальной вены и левого рога венозного синуса, а правый рог и правая общая кардиальная вена формируют верхнюю полую вену. В интраперикардальном отделе стенка верхней поллой вены наряду с эндотелиальным слоем содержит слой миобластов (начиная с 20 мм ТКД). На 8-й неделе (23–24 мм ТКД) левый рог венозного синуса и проксимальный отдел левой общей кардиальной вены образуют венозный синус сердца. Начиная с 23 мм ТКД стенка интраперикардального отдела нижней поллой вены снаружи от эндотелиального слоя содержит слой миобластов. На 9-й неделе (25–30 мм ТКД) сохраняется лишь поперечная часть венозного синуса, в которую открывается верхняя полая вена, нижняя полая вена и венозный синус сердца. Задняя стенка венозного синуса с устьями впадающих в него вен сближается с правым предсердием и врастает в его стенку.

Таким образом, нами установлены следующие закономерности развития полых вен в области их устьев:

1. В эмбриогенезе полых вен в области устьев можно выделить четыре периода: I период (4–13 мм ТКД) — формирование венозного синуса; II период (14–22 мм ТКД) — формирование верхней поллой вены из правой общей кардиальной вены и правого рога венозного синуса; III период (23–25 мм ТКД) — формирование венозного синуса из левого рога венозного синуса и левой общей кардиальной вены; IV период (26–30 мм ТКД) — включение стенки венозного синуса в стенку правого предсердия.

2. На 3-й неделе эмбриогенеза на границе венозного синуса и правого предсердия имеется клапанный аппарат, представленный правой и левой синусопредсердными заслонками. На 6-й неделе левая заслонка начинает редуцироваться, а правая расщепляться на заслонку нижней поллой вены и заслонку венозного синуса.

3. В интраперикардальных отделах на собственные оболочки стенки полых вен в конце 6-й недели «нарастает» слой миобластов правого предсердия, который можно рассматривать в качестве морфологического субстрата миокардиальных сфинктеров устья полых вен.

*Область применения:* эмбриология, кардиология, хирургия.

*Рекомендации по использованию:* результаты НИР могут использоваться в качестве морфологической базы данных при экспериментальных исследованиях по эмбриогенезу большого круга кровообращения и сердца.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной тематике.

### Morphogenesis of vena cava orifices in the embryological period of the human

*P.G. Pivchenko, T.V. Sakharchuk*

Morphological organization of vena cava orifices was investigated on serial cuts taken from 113 human embryos at the age of 2–9 weeks. It was established that the right common cardinal vein (RCCV), left common cardinal vein (LCCV) and inferior vena cava (IVC) initially open in sinus venosus. In the process of growth the orifices of veins remove from each other which means gradual embedding of the wall of sinus in the wall of the right auricle, and the veins are open in the cavity of the auricle. RCCV and the right horn of sinus form superior vena cava, and LCCV and the left horn form a coronal sine of heart. At the entry of primary auricle there is the venous valve consisting of the right and left shutters. Eventually the left shutter is reduced. The valve of the IVC and the valve of the sinus coronarii are formed from the right one. Also it was revealed that in embryogenesis the layers of the future myocardial constrictors of cava veins are formed.

*Field of application:* embryology, cardiology, surgery.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 611.438.

### Особенности топографии долей тимуса человека

*А.А. Пасюк, П.Г. Пивченко*

**Рубрика: 34.41.02**

*НИР:* «Видовые закономерности строения ряда органов разных систем в онтогенезе человека и животных в норме и под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды».

*Сроки выполнения НИР:* март 2008 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. П.Г. Пивченко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — установить варианты строения и топографии долей тимуса человека.

Тимус в постнатальный период изучен на 51 трупе человека в возрасте от новорожденного до 80 лет. Использованы морфологический и морфометрический методы. Для оценки линейных параметров тимуса определялись показатели формы и компоновки долей. Статистическая обработка данных проведена с использованием программы «Exel», Statistica 6. Использованы методы описательной статистики, оценка достоверности различий признака проводилась методом  $\chi^2$ .

Тимус располагается в переднем отделе верхнего средостения непосредственно позади грудины. Шейная часть определяется в 62% случаев, в 38% тимус располагается за грудиной, не выступая над яремной вырезкой. Шейная часть может находиться на 7–18 мм каудальнее щитовидной железы.

Частота встречаемости двухдолевых форм тимуса составляет 94,12% случаев. Однодолевая форма встречается у 1,96% лиц, и представляет собой единое об-

разование, сросшееся нижними полюсами. Появление однодолевого тимуса можно объяснить слиянием двойной закладки органа. Из многодолевых форм тимуса на нашем материале мы наблюдали только трехдолевые.

В каждой доле тимуса можно выделить тело, верхний и нижний полюса. Тела долей сближены, а полюса несколько раздвинуты. Верхние полюса более узкие и в 16% случаев заострены. В трех случаях обнаружен хорошо выраженный соединительнотканый тяж, который тянется от верхнего полюса тимуса к задней поверхности нижнего отдела щитовидной железы. Нижние полюса закругленные и широкие. В 58,8% случаев левая доля крупнее правой. Нижние полюса долей тимуса на первом году жизни находятся на уровне четвертого межреберья, а к 4–10 годам поднимаются до уровня третьего межреберья. В 22% случаев нижние полюса обеих долей располагаются на одном уровне. В 42% случаев нижний полюс левой доли тимуса находится каудальнее правой доли, а в 36% нижний полюс правой доли – ниже левой. Латеральные края в возрастных группах до 16 лет выступают за границы грудины, а к 17–35 годам не выступают за ее края. Спереди грудная часть железы соприкасается с задней поверхностью тела грудины, а шейная часть с глубоким листком собственной фасции шеи. Нижние полюса и латеральные поверхности тимуса соприкасаются с медиастинальной плеврой.

Можно выделить три варианта контакта тимуса с грудиной: в 76% случаев к грудиной прилежит преимущественно правая доля тимуса, в 16% случаев с грудиной соприкасаются в равной степени как правая, так и левая доли, а в 8% к грудиной прилежит преимущественно левая доля. Доли тимуса асимметричны. Нами установлено, что по параметрам длина и толщина преобладает левосторонняя диссимметрия, а по параметру ширина — правосторонняя.

Изучение формы долей тимуса на фронтальном сечении позволило выделить три основные формы: овальная, овоидная и «песочные часы». Наиболее часто встречаются доли овоидной формы. Так, правая доля тимуса в 60%, а левая в 57,5% случаев имеют овоидную форму; для 37,5% правых долей тимуса и 32,5% левых характерна овальная форма. Доли в форме песочных часов встречаются редко — в 2,5% правая и в 10% левая. Доли овальной и овоидной формы встречаются достоверно чаще по сравнению с «песочными часами» ( $\chi^2=4,4$  и  $4,8$  при  $p<0,05$  соответственно). Не обнаружено достоверной разницы между правой и левой долями тимуса по частоте встречаемости форм долей.

При исследовании формы поперечного сечения долей тимуса в средней трети нами установлено, что в возрастных группах до 17 лет можно выделить три формы долей тимуса: 4-, 3- и форма линзы. Четырехгранные доли встречаются в 15% случаев справа и в 48,8% слева; 3-гранные — в 72,5 и 41,5% соответственно; доли в форме линзы обнаруживаются редко: в 12,5% — правая и 9,8% — левая. Обнаружена достоверная разница между правой и левой долями тимуса по частоте встречаемости форм поперечного сечения долей ( $\chi^2=26,7$ ,  $p<0,001$ ). Таким образом правая доля

тимуса чаще 3-гранной формы, а левая — 4-гранной.

Встречаются три типа взаиморасположения долей тимуса: наложение правой доли на левую; контактирование долей, наложение левой доли на правую. Определение поверхностей долей тимуса зависит от формы поперечного сечения и вида взаиморасположения долей. В возрастных группах до 16 лет определяются все три вида взаиморасположения правой и левой долей тимуса: наложение правой доли на левую (41,2%); контактирование долей (35,3%), наложение левой доли на правую (23,5%). В возрастных группах старше 17 лет выявляется только контактирование долей. Достоверная разница между возрастными группами по частоте встречаемости видов взаиморасположения долей ( $\chi^2=95,6$ ,  $p<0,001$ ). В зависимости от формы поперечного сечения и вида взаиморасположения долей можно выделить следующие их поверхности: при 4-гранной форме: передняя, задняя, медиальная и латеральная. При 3-гранной форме поперечного сечения в наслаивающейся доле выделяются передняя, медиальная и латеральная поверхности, и соответственно, в наслаиваемой доле — медиальная, латеральная и задняя поверхности. При контактировании долей поверхности можно описать как медиальные, передние и задние. При доле в форме линзы чаще всего определяются передняя (переднелатеральная) и задняя (заднемедиальная) поверхности.

Установлено, что преобладающей формой у детей до 16 лет является брахиоморфная (47,5%). А у человека с 17-летнего возраста превалирует мезоморфная форма (55%). Расчет компановки долей тимуса показал, что преобладает уплощенная компановка: в 55% случаев в возрастной группе до 16 лет и в 50% — старше 17 лет. Интервал показателя формы тимуса с возрастом смещается в большую сторону, что говорит об уменьшении ширины и относительном увеличении длины долей. Уменьшение с возрастом показателя компановки свидетельствует об относительном увеличении толщины тимуса. Таким образом, топографически возрастная инволюция тимуса связана преимущественно с уменьшением ширины долей.

*Область применения:* морфология, хирургия.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы при выполнении хирургических вмешательств на органах средостения и интерпретации данных томографии.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по данной теме.

### Features of topography of human thymus lobes

*A.A. Pasiuk, P.G. Pivchenko*

The purpose of work was to establish options for the structure and topography of the human thymus lobe.

The topographic features of the human thymus were established. There was dissymmetry between the right and left lobe. The most common form is two-lobe thymus (94.12% of cases), a rare form is one-lobe thymus form (1.96%). This form is a result of merging double germ of organ. Three variants of relative position of the thymus

and the sternum are determined. Most often the thymus lobes has ovoid form on the front section, and a triangular form on cross-sectional sight.

*Field of application:* morphology, surgery.

*Recommendations for use:* the results of the study can be used for surgery and for instrumental diagnostics.

*Offers for cooperation:* joint research.

## ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК 616.25-002-036.12-089

### Критерии хронизации воспалительных процессов плевральной полости и выбор метода операции

*М.О. Русецкая*

**Рубрики:** 76.29.39; 76.29.35

*НИР:* «Разработать и внедрить в Республике Беларусь рациональные методы комплексной терапии наиболее распространенных инфекционных заболеваний».

*Сроки выполнения НИР:* 2007–2010 гг.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, доц. В.И. Петухов.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — улучшить результаты лечения пациентов с воспалительными заболеваниями плевры на основании разработки неинвазивной дооперационной методики дифференциальной диагностики степени организации плеврального содержимого и внедрения малоинвазивных оперативных вмешательств.

Единственным неинвазивным дооперационным методом исследования, позволяющим разделить экссудативный плеврит, острую и хроническую эмпиемы плевры с высокой степенью достоверности ( $p < 0,05$ ;  $R = 0,9$ ;  $R = 0,8$ ;  $R = 0,8$  соответственно), является рентгеновская компьютерная томография с исследованием плотности плеврального содержимого в единицах Хаунсфильда. Установлено, что у пациентов первой группы (экссудативный плеврит) денситометрические показатели плотности содержимого составили  $+8,5$  HU ( $Q_{\text{ниж}}$  —  $+6,75$  HU,  $Q_{\text{верх}}$  —  $+10,3$  HU), денситометрические показатели выпота пациентов второй группы (острая эмпиема плевры) в среднем составили  $+19$  HU ( $Q_{\text{ниж}}$  —  $+15$  HU,  $Q_{\text{верх}}$  —  $+24$  HU) и были достоверно выше показателей плотности пациентов первой группы ( $p < 0,05$ ). Значение денситометрических показателей плеврального содержимого пациентов третьей группы (хроническая эмпиема плевры) повышалось до  $+35$  HU ( $Q_{\text{ниж}}$  —  $+33$  HU,  $Q_{\text{верх}}$  —  $+36,3$  HU), что было достоверно выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с пациентами второй группы (острая эмпиема плевры).

Полученные данные позволяют с высокой степенью достоверности ( $p < 0,05$ ) прогнозировать характер плеврального содержимого до операции и выбрать метод оперативного вмешательства: у пациентов с экссудативным плевритом плевральное содержимое может быть эвакуировано с помощью плевральной пункции и дренирования плевральной полости; пациентам с острой эмпиемой плевры показана видеоторакоскопия с удалением рыхлых плевральных наложений и желеобразного содержимого; пациентам с хронической эмпиемой плевры — торакотомия, декортикация легкого или плеврэктомиа. Применение малоинвазивных методов операции позволяет снизить койко-день с 19 до 11 сут ( $p < 0,05$ ), уменьшить длительность дренирования плевральной полости с 10 до 4 сут ( $p < 0,05$ ), уменьшить длительность обезболивания наркотическими анальгетиками с 7 до 3 сут ( $p < 0,05$ ).

Чувствительность и специфичность рентгеновской

компьютерной томографии по сравнению с рентгенографией ОГК у пациентов с острой эмпиемой плевры составила 84,6 и 46% соответственно, для пациентов с хронической эмпиемой плевры чувствительность составила 93,7%, специфичность — 54,5%.

Научная новизна данного исследования заключается в том, что практическому здравоохранению предложен комплексный алгоритм оценки состояния плеврального содержимого и выбор оптимального метода оперативного лечения.

По результатам диссертации подготовлена инструкция по применению № 034-0411 «Способ дифференциальной диагностики фиброторакса и экссудативного плеврита» (утв. МЗ Республики Беларусь 23.12.2011).

Патент РБ на изобретение № 20100895 от 14.03.2013 «Способ дифференциальной диагностики фиброторакса и экссудативного плеврита».

*Область применения:* хирургия, пульмонология, лучевая диагностика.

*Рекомендации по использованию:* результаты исследования могут быть использованы в практической работе для дифференциальной диагностики стадий эмпиемы плевры с целью выбора оптимального метода оперативного лечения.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

### Pleural inflammation chronization criteria and operation technique choice

*М.О. Rusetskaya*

The patients' densitometric indicators of content of the first group were  $+8,5$  HU ( $Q_{\text{inf}}$  —  $+6.75$  HU,  $Q_{\text{sup}}$  —  $+10.3$  HU). The patients of the second group had the following densitometric indicators of pleural content  $+19$  HU ( $Q_{\text{inf}}$  —  $+15$  HU,  $Q_{\text{sup}}$  —  $+24$  HU), that are statistically significantly higher than those of the first group ( $p < 0.05$ ). The indicators of the third group of patients were  $+35$  HU ( $Q_{\text{inf}}$  —  $+33$  HU,  $Q_{\text{sup}}$  —  $+36.3$  HU), that are statistically significantly higher if compared to the second group ( $p < 0.05$ ). The patients from the first group underwent pleural puncture and pleural content evaluation; the patients of the second group — thoracoscopy and removal of the fibrinous casts from the pleural cavity; in the third group — thoracotomy, lung decortication or pleurectomy.

*Field of application:* surgery, beam diagnostics.

*Recommendations for use:* the developed methods may be useful in choosing the optimal method of operative treatment for patients at different stages of the disease.

УДК 616.72-002-097-07

### Особенности иммунопатогенеза и диагностики ранних артритов с учетом ферментативной активности сыворотки крови и поликлональных иммуноглобулинов

*М.В. Волкова*

**Рубрика:** 76.29.31

*НИР:* «Патогенетическая и диагностическая роль каталитической активности антител и ферментативной ак-

тивности сыворотки крови при ранних артритах».

*Сроки выполнения НИР:* апрель 2012 г. — март 2014 г.

*Научный руководитель:* канд. мед. наук М.В. Волкова.

*Источник финансирования:* Фонд фундаментальных исследований Республики Беларусь.

*Цель* — разработать новые способы дифференциальной диагностики ранних артритов и прогнозирования исходов недифференцированного артрита в ревматоидный артрит с учетом ферментативных свойств сыворотки крови и поликлональных иммуноглобулинов.

В исследовании приняло участие 195 человек: 155 пациентов с ранним артритом (64 пациента с ранним ревматоидным артритом (рРА), 55 — с острым реактивным артритом (оРеА) и 36 — с недифференцированным артритом (НА) и 40 практически здоровых лиц (группа сравнения) — доноры Витебской областной станции переливания крови.

Материалом для исследования послужили сыворотка крови и поликлональные IgG 1, 2 и 4 подклассов, выделенные из сыворотки крови комбинированным риванол-аффинно-хроматографическим методом (Конорев М.Р. с соавт., 1999). Контроль чистоты IgG проводили с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (Остерман Л.А., 1981).

ДНКазную и гиалуронидазную активность сыворотки, ДНКазную активность IgG определяли методом, основанном на образовании и осаждении сгустка субстрата 2-этокси-6,9-диаминоакридина лактатом (риванолом) (Азаренок К.С. с соавт., 1994; 1996). Постановка реакции БАПНА-амидазной, каталазной и супероксиддисмутазной (СОД) активности осуществлялась по модифицированным нами методикам (Окулич В.К. с соавт., 2002; Генералов И.И. с соавт., 2004, 2005).

У пациентов с ранними артритами (рРА, оРеА и НА) установлено присутствие ДНКазной и гиалуронидазной сывороточной активности, уровни которой превышают значения у здоровых лиц ( $p < 0,01$ ). Выявлено превышение уровней сывороточной ДНКазной и гиалуронидазной активности у пациентов с рРА по сравнению с величинами данных показателей при оРеА и НА ( $p < 0,01$ ).

Обнаружено превышение частот встречаемости ДНКазной и гиалуронидазной активности сыворотки крови у пациентов с ранними артритами по сравнению с контрольными величинами в группе здоровых лиц ( $p < 0,01$ ).

Выявлены взаимосвязи ( $p < 0,05$ ) между ДНКазной сывороточной активностью и числом болезненных суставов из 28 ( $r = 0,30$ ), уровнем СОЭ ( $r = 0,53$ ) при рРА; активностью заболевания ( $r = 0,37$ ), индексом Ричи ( $r = 0,65$ ), числом припухших суставов из 44 ( $r = 0,71$ ), DAS4 ( $r = 0,68$ ) при оРеА; длительностью заболевания ( $r = 0,40$ ), количеством В-лимфоцитов ( $r = -0,44$ ), фагоцитарным индексом ( $r = -0,49$ ), фагоцитарным числом ( $r = 0,50$ ) при НА.

Уровни ДНКазной и СОД активности IgG у пациентов с рРА, оРеА и НА оказались выше контрольных величин в группе здоровых лиц ( $p < 0,01$ ). Не установлено различий между уровнями БАПНА-амидазной активности у пациентов с ранними артритами и здоровых лиц ( $p > 0,05$ ). Установлено превышение уровней каталазной

активности IgG у пациентов с рРА по сравнению с контрольными величинами. Уровни ДНКазной активности IgG у пациентов с рРА превышали величины данного показателя у пациентов с оРеА и НА ( $p < 0,01$ ).

Обнаружено превышение частот встречаемости ДНКазной и СОД активности поликлональных IgG у пациентов с ранними артритами по сравнению с контрольными величинами в группе здоровых лиц ( $p < 0,01$ ).

Выявлены взаимосвязи ( $p < 0,05$ ) между ДНКазной активностью поликлональных IgG и оценкой активности заболевания по шкале Ликкерт ( $r = 0,30$ ), уровнем СОЭ ( $r = 0,42$ ) при рРА; уровнем ЦИК ( $r = 0,42$ ), количеством Т-лимфоцитов ( $r = 0,40$ ) при оРеА; оценкой активности заболевания врачом ( $r = 0,42$ ), уровнем СРБ ( $r = 0,37$ ), количеством CD4+ лимфоцитов ( $r = -0,49$ ), CD8+ лимфоцитов ( $r = 0,50$ ) при НА.

Тест дифференциальной диагностики рРА и оРеА (отношение правдоподобия положительного результата (ОП+) 6,75; отношение правдоподобия отрицательного результата (ОП-) 0,16) на основе определения гиалуронидазной сывороточной активности соответствует критериям наиболее полезных диагностических тестов в ревматологии (Kavanaugh A.F. et al., 2002).

Тесты дифференциальной диагностики рРА и оРеА (ОП+ 8,77, ОП- 0,22), а также рРА и других ранних артритов (ОП+ 4,03, ОП- 0,25) на основе определения ДНКазной сывороточной активности соответствуют критериям полезных тестов (A.F. Kavanaugh A.F. et al., 2002). Тесты дифференциальной диагностики рРА и оРеА (ОП+ 6,51, ОП- 0,20), а также рРА и других ранних артритов (ОП+ 2,90, ОП- 0,24) на основе определения ДНКазной активности IgG также соответствуют критериям полезных диагностических тестов в ревматологии.

Пациенты с НА обследовались через 6 и 12 мес. после первичного обращения. При выполнении критериев EULAR/ACR 2010 (Aletaha D. et al., 2010) определялся исход — РА. В качестве зависимой переменной для логистической регрессии был определен бинарный признак — исход НА: 1 — РА, 0 — другой исход. В качестве независимых переменных использовали признаки, которые различались ( $p < 0,05$ ) у пациентов с развившимся и неразвившимся в течение 12 мес. РА. Различия были получены по трем переменным: ДНКазная и гиалуронидазная сывороточная активность, АЦЦП. Прогностическая модель, включающая все три переменные, имеет наиболее высокие показатели чувствительности (90,00%), специфичности (92,31%) и площади под ROC-кривой (0,96) и соответствует критериям отличного качества по экспертной шкале.

*Выводы.* Впервые при раннем ревматоидном артрите, остром реактивном артрите и недифференцированном артрите обнаружено наличие ДНКазной, БАПНА-амидазной, каталазной и супероксиддисмутазной активности иммуноглобулинов.

Установлено, что у пациентов с ранним ревматоидным артритом уровни ДНКазной и гиалуронидазной сывороточной активности, ДНКазной активности IgG выше, чем у пациентов с острым реактивным артритом и недифференцированным артритом.

Выявлены взаимосвязи между уровнями ферментативной активности сыворотки крови, а также IgG и клиническими признаками изученных заболеваний, лабораторными данными.

Впервые разработаны тесты дифференциальной диагностики раннего ревматоидного артрита и острого реактивного артрита, раннего ревматоидного артрита и других ранних артритов на основе определения ДНКазной и гиалуронидазной сывороточной активности, ДНКазной активности IgG.

Путем построения прогностической модели установлено влияние ДНКазной и гиалуронидазной сывороточной активности на исход недифференцированного артрита.

*Вид патентной защиты:* уведомление о положительном результате предварительной экспертизы и установленной дате подачи заявки на выдачу патента Республики Беларусь на изобретение № а 20101651 «Способ лабораторной дифференциальной диагностики раннего ревматоидного артрита и реактивного артрита» от 27.01.2011; авторы: М.В. Волкова, Е.В. Кундер, И.И. Генералов.

*Область применения:* ревматология, клиническая медицина.

*Рекомендации по использованию:* при обследовании пациентов с ранними артритами в качестве дополнительного лабораторного способа дифференциальной диагностики может быть использовано определение ДНКазной и гиалуронидазной сывороточной активности. Уровень ДНКазной активности сыворотки крови, равный 3 баллам и более, позволяет дифференцировать ранний ревматоидный артрит от острого реактивного артрита (чувствительность — 79,69%, специфичность — 90,91%) и других ранних артритов (острого реактивного и недифференцированного) (чувствительность — 79,69%, специфичность — 80,22%). Уровень гиалуронидазной активности сыворотки крови, равный 3 баллам и более, позволяет дифференцировать ранний ревматоидный артрит от острого реактивного артрита (чувствительность — 85,94%, специфичность — 87,27%) и других ранних артритов (острого реактивного и недифференцированного) (чувствительность — 85,94%, специфичность — 79,12%) (инструкция по применению № 041-0411 «Метод лабораторной дифференциальной диагностики раннего ревматоидного артрита и острого реактивного артрита» (утв. МЗ РБ 30.09.2011).

Для прогнозирования исхода недифференцированного артрита в ревматоидный артрит целесообразно использовать результаты определения АЦЦП, ДНКазной и гиалуронидазной активности сыворотки крови. Это позволяет обосновать назначение базисной терапии пациентам с недифференцированным артритом, имеющим высокую вероятность исхода в ревматоидный ар-

трит (инструкция по применению № 131-1012 «Метод прогнозирования исхода недифференцированного артрита в ревматоидный артрит» (утв. МЗ РБ 28.11.2012).

Внедрение результатов исследования возможно в практическую деятельность учреждений здравоохранения ревматологического или терапевтического профиля республиканского, областного, городского и районного уровней.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении методов дифференциальной диагностики. Совместные исследования по указанной тематике.

### **Immunopathogenetic and pathogenetic features of early arthritis considering enzymatic activity of blood serum and polyclonal IgG**

*M.V. Volkova*

The aim of the study was to develop new methods of differential diagnostics of early arthritis and prediction of undifferentiated arthritis outcomes using enzymatic properties of blood serum and polyclonal IgG.

Results of research and their scientific novelty: for the first time we revealed the presence of IgG DNase, BAPNA-amidase, catalase and superoxydismutase activities in patients with early rheumatoid arthritis, acute reactive arthritis and undifferentiated arthritis. We discovered that the levels of serum DNase and hyaluronidase activities, DNase activity of IgG in patients with early rheumatoid arthritis are higher than in patients with acute reactive arthritis and undifferentiated arthritis. The multiple interconnections between the levels of enzymatic serum and IgG activities, the clinical signs of studied diseases and laboratory findings were revealed. For the first time we worked out original tests for differentiation of early rheumatoid arthritis and acute reactive arthritis, early rheumatoid arthritis and other types of early arthritis on the base of assessment of serum DNase and hyaluronidase activities, DNase activity of IgG. Developing the prognostic model we revealed the influence of serum DNase and hyaluronidase activities on the outcomes of undifferentiated arthritis.

*Field of application:* rheumatology, clinical medicine.

*Recommendations for use:* differential diagnostics of early rheumatoid arthritis and acute reactive arthritis, early rheumatoid arthritis and other types of early arthritis, prognosis of the outcomes of undifferentiated arthritis.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

## ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК 616–053.2–072.7:796/799

**Тилт-тест: возможности использования метода при отборе детей для занятий различными видами спорта**Н.А. Скуратова, Л.М. Беляева, О.А. Зимелихин,  
А.А. Козловский**Рубрика: 76.29.47**

*НИР:* «Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у детей, занимающихся статическими и динамическими видами спорта».

*Сроки выполнения НИР:* 01.10.2010 — 31.10.2013.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Л.М. Беляева.

*Цель* — оптимизировать этап первичного отбора детей для занятий различными видами спорта.

С целью сохранения здоровья и работоспособности лиц, профессиональная деятельность которых будет связана с экстремальными воздействиями, целесообразно выявлять «отклонения» и оценивать функциональные резервы сердечно-сосудистой системы у по-

тенциальных юных спортсменов на этапе первичного отбора в профессиональный спорт.

У 24 детей в возрасте от 9 до 15 лет (средний возраст  $12,2 \pm 1,9$  года), занимающихся спортом, была проведена кардиоинтервалография при пробе с пассивным ортостазом (тилт-тесте). Причем при данной пробе были оценены гемодинамические параметры (АД, ЧСС, тип реакции), рассчитан комплекс показателей КИГ: средняя ЧСС (срЧСС, уд/мин); математическое ожидание (М); Мода (Мо, с); амплитуда моды (АМо, %); вариационный размах (ВР, с); индекс вегетативного равновесия (ИВР); показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР); вегетативный показатель ритма (ВПР); отношение индекса напряжения в пробе к индексу напряжения в фоновой записи ( $ИН_2/ИН_1$ ), прирост ЧСС, %; коэффициент 30:15 ( $K_{30:15}$ ); индекс напряжения регуляторных систем (ИН), которые сравнивались с соответствующими значениями показателей, полученных у детей при активном ортостазе.

При сравнении показателей математического анализа, полученных при проведении КИГ в активном и пассивном ортостазе у детей, были зарегистрированы следующие средние значения показателей (табл.).

Таблица

Показатели кардиоинтервалографии при активном и пассивном ортостазе у детей, занимающихся спортом (n=24)

Показатель	Значение показателя при АКОП (M±SD)	Значение показателя при тилт-тесте (M±SD)	Сравнительный прирост показателя (Δ, %)
СрЧСС	105,9±11,5	96,1±11,6	-9
Прирост ЧСС (%)	39,5±17,9	28,6±18,1	-28
М	0,6±0,09	0,65±0,08	+8
Мо	0,57±0,07	0,66±0,1	+13
ВР	1,98±3,8	0,65±1,08	-67
ИН	181,8±247,7	99,8±101,7	-100
$ИН_2/ИН_1$	3,29±3,9	2,99±3,09	-9
ИВР	195,3±255,2	121,4±107,3	-38
ВПР	5,5±6,7	3,09±2,03	-44
ПАПР	75,7±32,8	52,7±19,4	-30
$K_{30:15}$	2,06±1,57	1,78±1,85	-14

При пассивном ортостазе (тилт-тесте) у детей, занимающихся спортом, имели место снижение средней ЧСС на -9%, прироста ЧСС на -28%, ВР на -67%, ИН на -100%,  $ИН_2/ИН_1$  на -9%, ИВР на -38%, ВПР на -44%, ПАПР на -30%,  $K_{30:15}$  на -14%, прирост М и Мо составили +8 и +13% соответственно в сравнении с показателями, полученными в активном ортостазе у детей.

Таким образом, проба с пассивным ортостазом (тилт-тест) является мощным стрессовым фактором, при котором происходит значительное повышение симпатической регуляции и снижение защитной роли блуждающего нерва, что создает условия для выражен-

ного напряжения регуляторных систем. Проба с пассивным ортостазом моделирует экстремальные условия для организма, при которых требуется адекватная перфузия органов и поддержание нормальных цифр АД, при этом у детей, занимающихся видами спорта, связанными со статическими поворотами тела в пространстве и имеющих сниженные функциональные резервы, ожидаемо развитие скрытых реакций дезадаптации.

### The tilt table test: the method of selection of children for various sports

*N.A. Skuratova, L.M. Belyaeva, O.A. Zimelikhin,  
A.A. Kozlovsky*

The tilt table test is a powerful stress factor, which promotes significant increase in sympathetic regulation and reduction of the protective role of the vagus nerve. It creates conditions for the extreme tension of regulatory systems. The study helps to solve admission questions for young athletes.

УДК 616-007.43-089.844:576.524

### Адгезионный интерфейс для применения аутологических клеток в герниопластике

*Д.Р. Петренев, В.В. Береженко, Е.В. Воронаев,  
А.Н. Лызииков*

**Рубрики: 76.29.46; 76.09.41; 34.57.21; 76.09.31**

*НИИР:* «Разработать и внедрить клеточные технологии для оптимизации репаративных процессов поврежденного железистого эпителия и сосудистых компонентов органов».

*Сроки выполнения НИИР:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.Н. Лызииков.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Герниопластика — наиболее часто выполняемая операция в хирургических отделениях общего профиля. Многочисленными исследованиями убедительно доказаны преимущества операций с применением дополнительных пластических материалов перед традиционными способами. В то же время использование имплантационных технологий вызывает ряд осложнений в месте протезирования. Основные причины осложнений — инфицирование протеза и нарушение процессов регенерации соединительной ткани. Первая проблема решается за счет использования сетчатых эндопротезов, изготовленных из монофиламентной полипропиленовой нити. Их структура и низкая адгезионность обеспечивает наименьшую вероятность инфицирования эндопротеза. Вторая проблема может быть преодолена путем введения аутологических фибробластов или мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в область регенерации. Эти клетки продуцируют большое количество ростовых факторов, что в свою очередь обеспечивает ускорение процессов ремоделинга тканей, сокращение сроков выздоровления и снижение риска развития осложнений.

Тем не менее, практическое использование клеточных технологий в герниопластике ограничено низкими адгезивными свойствами полипропиленовых протезов. Фактически закрепление клеток на поверхности полипропиленового эндопротеза наблюдается в области узлов и пересечения нитей. Таким образом, разработка способов фиксации аутологических клеток на его поверхности является актуальной задачей.

*Цель* — изучить возможность фиксации живых аутологических фибробластов на сетчатом полипропиленовом эндопротезе посредством формирования адгезионного интерфейса для клеток на его поверхности.

Для изучения процессов клеточной адгезии *in vitro* использовали хирургическую сетку (диаметр нити 0,12 мм, толщина сетки 0,5 мм, поверхностная плотность 62 г/м<sup>2</sup>, объемная пористость 85%). Диски из сетки  $\varnothing$  55 мм стерилизовали в плазме Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>. Адгезионный интерфейс из поликапролактона формировали на поверхности сетки методом испарения растворителя на стеклянной подложке в ламинарном потоке воздуха.

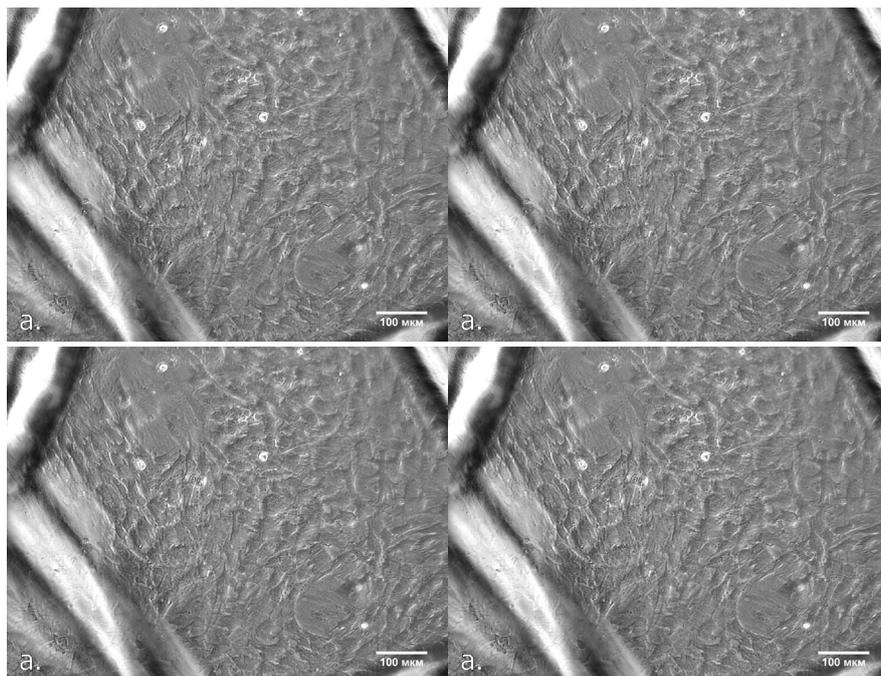
Динамику роста клеток *in vitro* на поверхности сетчатого протеза изучали с применением первичных фибробластов. Для этого в чашки Петри (ЧП)  $\varnothing$  60 мм помещали образцы сетки, вносили 5 мл суспензии клеток ( $2 \times 10^6$  кл) в полной среде (DMEM, 41966 GIBCO; L-глутамин 4 мМ; 10 мМНЕРЕС; 1% антибиотик/антимикотик; 10% ЭТС) и инкубировали при 37°C и 5% СО<sub>2</sub>. Замену среды проводили 2-3 раза в неделю. Прижизненное микроскопирование образцов в проходящем свете производили на инвертированном микроскопе типа XDS-3FL4. На 14 сут сетки отмывали, фиксировали 2% параформальдегидом и выполняли флуоресцентные исследования.

Культуру первичных фибробластов кожи крысы (Вистар) получали стандартным методом изоляции фибробластов, мигрирующих из эксплантатов. Рутинное культивирование проводили в полной среде при 37°C и 5% СО<sub>2</sub> в 60 мм ЧП для культивирования адгезионных культур (83.1801 SARSTEDT). В эксперимент брали клетки пятого пассажа.

На ранних этапах культивирования наблюдали практически полное отсутствие адгезии фибробластов к полипропиленовой хирургической сетке, что соответствует ранее полученным результатам для МСК. Через 24 ч после внесения клеток в ЧП в области узлов сетки и на пересечении нитей выявляли единичные клеточные элементы. Остальные клетки формировали монослой на дне ЧП. В ЧП с сеткой с покрытием клетки были сосредоточены на полимерном покрытии в виде кластеров. На 3 сут культивирования при увеличении количества клеток вышеописанный характер их распределения между поверхностью ЧП и эндопротезом сохранялся (рис. 1).

На 7 сут в ЧП с контрольными образцами наблюдали формирование 100% монослоя с характерными признаками старения клеточной популяции. Также отмечали начало восходящего прорастания монослоя через узлы сетки. Ранее сообщалось о похожем феномене в культуре МСК. В ЧП с сетками с покрытием клетки на поверхности чашек имели распластанную морфологию с большим количеством отростков при плотности монослоя от 20 до 70%. Клетки на поверхности полимерного покрытия замедлили рост и приобрели более компактную форму.

На 7 сут в ЧП с контрольными образцами наблюдали формирование 100% монослоя с характерными признаками старения клеточной популяции. Также отме-



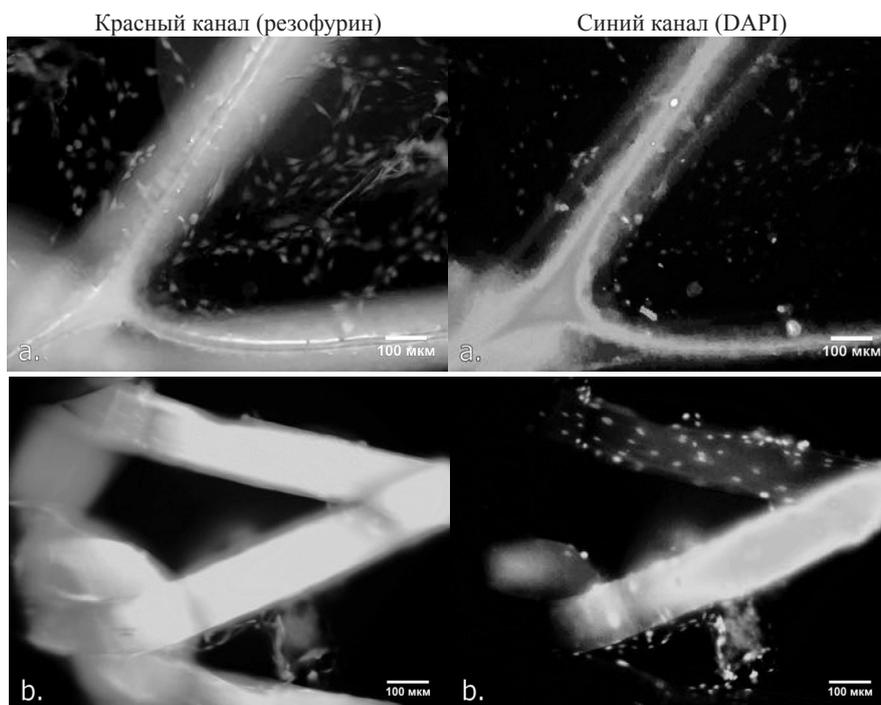
**Рис. 1.** Вид поверхности ЧП (а, с) и полипропиленового сетчатого протеза без покрытия (b) и покрытого поликапролактоном (d) на 3 сут культивирования с первичными фибробластами крысы ( $2 \times 10^6$  кл). ЧП с сеткой с покрытием (с, d) и без (а, b)

чали начало восходящего прорастания монослоя через узлы сетки. Ранее сообщалось о похожем феномене в культуре МСК. В ЧП с сетками с покрытием клетки на поверхности чашек имели распластанную морфологию с большим количеством отростков при плотности монослоя от 20 до 70%. Клетки на поверхности полимерного покрытия замедлили рост и приобрели более компактную форму.

На 14 сут культивирования *in vitro*, на нитях необ-

работанной сетки наблюдали формирование монослоя фибробластов, прорастающих из узловых регионов и распространяющихся вдоль волокон (рис. 2). Ранее в аналогичной экспериментальной модели с МСК подобного эффекта не наблюдали. В эти же сроки на поверхности полимерного покрытия наблюдали формирование относительно равномерного клеточного монослоя (рис. 2) без заметной деструкции полимера.

Сформированное на поверхности сетчатого поли-



**Рис. 2.** Вид поверхности полипропиленового сетчатого протеза покрытого поликапролактоном (а) и без покрытия (b) на 14 сут культивирования с первичными фибробластами крысы ( $2 \times 10^6$  кл). Слева красная аутофлуоресценция элементов сетки и цитоплазмы метаболически активных клеток (резорфуин) и справа синее свечение ядер клеток (DAPI)

пропиленового протеза покрытие из поликапролактона увеличивает адгезионные свойства эндопротеза и обеспечивает формирование на его поверхности монослоя метаболически активных фибробластов при культивировании *in vitro*. Данное свойство может быть использовано для закрепления аутологических клеток на поверхности эндопротеза.

*Область применения:* модификация поверхности эндопротеза для герниопластики, клеточная трансплантология, регенеративная медицина.

*Рекомендации по использованию:* предложенный метод формирования адгезионного интерфейса на поверхности эндопротеза может быть использован для создания биосовместимого покрытия, которое улучшает показатели адгезии клеточных элементов соединительной ткани в месте имплантации, а также для предимплантационного закрепления на его поверхности аутологических клеток *in vitro*. Кроме того, покрытие может быть использовано в качестве депо биологически активных соединений (антибиотики, инсулин, ростовые факторы), что обеспечит адресную доставку этих соединений и стимуляцию репаративных процессов в области оперативного вмешательства.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, изготовление по заказам единичных изделий и малых партий продукции, совместное доведение технологии до промышленного уровня, совместные исследования в области разработки и применения клеточных технологий в трансплантологии.

#### **Adhesion interface for using of autologic cells in hernioplasty**

*D.R. Petrenyov, V.V. Bereschenko, Y.V. Voropaev, A.N. Lyzikov*

The aim of the study was to evaluate the possibility of fixation of alive autologic fibroblasts on polypropylene mesh implant by forming adhesion interface for cells on its surface.

The adhesion interface on the surface of polypropylene mesh implant was formed by evaporation of solvent from polycaprolactone solution on the glass surface under laminar air flow. The primary rat skin fibroblasts were used to evaluate the dynamics of cell growth on the surface of intact and treated implants for 14 days.

Coated implants demonstrated the improved ability to adhere fibroblasts as evaluated after 24 hours after addition of cells. Small cell clusters were identified on the 3rd day of incubation in the samples coated with polycaprolactone, but not in intact implants. The cellular monolayer growth through mesh knots was found on the surface of intact implants on the 14 day. It was demonstrated what coated implants in this time were almost totally covered with metabolically active fibroblasts.

Coating of polypropylene mesh implants with polycaprolactone could improve the adhesion of cells *in vitro* and promote the fixation of autologic cells on the surface of polypropylene implants before implantation. Moreover, this coating could be used as a "depot" of biologically ac-

tive substances (growth factors, antibiotics etc.) and enhance the reparative processes.

*Field of application:* modification of implant surface for hernioplasty, cell transplantation, regenerative medicine.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.832-018:577.21]:616-089.843

#### **Молекулярно-генетическая характеристика и поверхностный фенотип культур мезенхимальных стволовых клеток, пригодных для трансплантации**

*A.H. Kondrachuk, D.P. Petrenyov, N.N. Rubanik, E.V. Voropaev*

**Рубрики: 34.15.23; 76.35.33**

*НИИ:* «Разработать и внедрить клеточные технологии для оптимизации репаративных процессов поврежденного железистого эпителия и сосудистых компонентов органов».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. А.Н. Лызики.

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — изучение динамики экспрессии поверхностных антигенов и экспрессии генов, маркерных для культуры мезенхимальных стволовых клеток. Охарактеризовать морфофункциональные свойства мезенхимальных стволовых клеток выделенных из жировой ткани и костного мозга лабораторных животных.

С развитием клеточных технологий все большее число исследователей занимается вопросами биологии, культивирования, экспериментального и клинического применения постнатальных стволовых клеток. При этом ключевую позицию занимают исследования мезенхимальных стволовых клеток (МСК), что обусловлено доступностью методик их получения, экспансии *in vitro* и наличием ряда специфических полезных свойств. Анализ МСК различного тканевого происхождения имеет немаловажное теоретическое и практическое значение. С фундаментальной точки зрения важно понимать, имеются ли какие-либо специфические отличия МСК в зависимости от их локализации в тех или иных тканевых нишах и их принадлежности к развивающимся или зрелым, дефинитивным тканям (плацента, костный мозг и жировая ткань взрослого организма). Результаты сравнительных исследований различных типов МСК могут иметь и практическую ценность, например, для оптимизации технологий трансплантации МСК. Очевидно, что эффективность лечения с использованием МСК во многом будет определяться их биологической активностью, которая, в свою очередь, может непосредственно зависеть от таких факторов, как источник их получения и особенности экспансии *in vitro*. В клинической практике наиболее безопасным считается использование аутологичного клеточного материала. Однако использо-

вание МСК в целях аутотрансплантации диктует необходимость предварительной оценки их морфофункционального состояния и фенотипических характеристик для подтверждения адекватности трансплантируемого материала.

Для получения культуры МСК использовались лабораторные мыши линии C57Bl/6, 6–8-недельного возраста, массой  $20 \pm 5$  г. Для фенотипической характеристики полученных культур МСК использовали следующую панель моноклональных антител: CD11b FITC (маркер моноцитов/макрофагов), CD44 PE (рецептор гиалуроната и остеопонтинина), CD45 FITC (панлейкоцитарный маркер), CD90.2 FITC (Thy1, маркер дифференцировки тимоцитов, пан-Т-клеточный маркер), CD105 PE (эндоглин), CD117(c-kit) PE, Anti-Sca-1 FITC. В анализ брали прилипающую фракцию клеток красного костного мозга после 1, 10 и 21 дней субкультивирования. На начальных этапах субкультивирования преобладали гемопоэтические клетки, неэкспрессирующие маркер Sca-1. К 10 сут культивирования доля Sca-1 позитивных клеток возрастала до 15%, а на 21 сут до 52%. Таким образом, в культуре наблюдалась смена субпопуляционного состава за счет преимущественного деления МСК и элиминации гемопоэтических клеток. Отдельно следует отметить тот факт, что интенсивность свечения Sca-1 позитивных клеток значительно снижалась в 10 и 21-суточных культурах, что может свидетельствовать об уменьшении плотности рецепторов Sca-1 на поверхности клеток в эти сроки. Одной из проблем при анализе данных методом проточной цитометрии было наличие в клеточной популяции элементов с высокой аутофлуоресценцией, что затрудняло выявление специфического сигнала по каналам FL1 (Sca-1) и FL2 (CD44). Эти клетки были исключены из анализа по показателю бокового светорассеивания, что позволило произвести анализ уровня экспрессии рецептора CD44. В дальнейшем была произведена оптимизация протокола проточного флуоресцентного анализа для снижения уровня аутофлуоресценции элементов клеточных суспензий.

Методом ПЦР в реальном времени с применением интеркалирующего красителя Sybr Green, по соответствующему протоколу был проведен анализ уровней экспрессии генов, которые являются важными для популяционной идентификации МСК и направления их дифференцировки. Были определены уровни экспрессии следующих генов, необходимых для характеристики культуры МСК: *Ly6a* (Sca-1), *Pecam* (CD31), *Ptpcr* (CD45), *Cd34*, *Prominin* (CD133), *Cd44*, *Acan* (aggrecan). Результаты были нормализованные по  $\beta$ -actin, *GADPH* и уровню экспрессии ( $\Delta Ct$ ). Полученные результаты подтверждают выявленные ранее методом проточной цитометрии данные о снижении уровня экспрессии гена Sca-1 в общей популяции культивируемых клеток на 10 и 21 сут. Также отмечено увеличение уровня экспрессии CD44 в общей популяции клеток. Этот эффект, очевидно, связан с увеличением доли CD44<sup>+</sup> клеток с 6% на 1 сут до 16 и 52% на 10 и 21 сут культивирования соответственно. При этом плотность поверхност-

ного антигена CD44 на клетках была снижена в этот период по сравнению с клетками после 1 сут инкубирования. Увеличение экспрессии генов CD133 и CD45 в общей популяции клеток свидетельствует о том, что на протяжении всего срока культивирования в культуре присутствуют гемопоэтические клетки. Нарастающая динамика экспрессии этих генов может свидетельствовать о формировании очагов кроветворения *in vitro*. Это предположение подтверждается тем фактом, что снижение экспрессии генов, кодирующих рецепторы CD34, наблюдавшееся на 10 сут, постепенно возвращается к норме (1 сут) к 21 сут. Динамика уровня экспрессии гена *Pecam* свидетельствует о снижении примеси эндотелиальных клеток и зрелых клеток гемопоэтического роста. В то же время появление экспрессии гена *Acan* на 10 сут культивирования может свидетельствовать о начальной стадии хондрогенной дифференцировки отдельных клеток. Таким образом, при отсутствии факторов среды, влияющих на путь дифференцировки МСК, может происходить спонтанный выбор фенотипа, по крайней мере, частью клеток.

Методом проточной цитометрии установлено, что количество клеток Sca-1<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup> возрастает с 6 до 52% в течение срока культивирования (21 сут), при этом интенсивность флуоресцентного свечения указанных поверхностных антигенов снижается, что согласуется с данными экспрессии аналогичных генов, полученными с помощью ПЦР в реальном времени. На протяжении всего срока культивирования присутствует значительное количество гемопоэтических клеток различных субпопуляций (CD133 и CD45), что подтверждается результатами иммунофенотипирования и определения экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени. Показана значительная гетерогенность и направленность к дифференцировке клеточного состава полученных культур.

*Область применения:* молекулярная и клеточная биология, трансплантология, регенеративная медицина.

*Рекомендации по использованию:* полученные результаты могут применяться в практике научных исследований в лабораториях, занимающихся культуральными клеточными технологиями.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования в области разработки и применения клеточных технологий в трансплантологии.

#### **Molecular-genetic characteristics and the surface phenotype of mesenchymal stem cell culture suitable for transplantation**

*A.N. Kondrachuk, D.R. Petrenyov, N.N. Rubanik,  
Y.V. Voropaev*

The use of autologous MSCs as a transplant requires a preliminary assessment of the morphological-functional and phenotypic characteristics to confirm the adequacy of the transplanted material. The aim of the study was to analyze the dynamics of expression of surface antigens and corresponding genes in mesenchymal stem cells culture and to analyze the morphological properties of mesenchy-

mal stem cells isolated from adipose tissue and bone marrow of laboratory animals.

Flow cytometry results revealed that the number of cells of Sca-1<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup> increased from 6 to 52% during the period of cultivation (21 days). As demonstrated by immunophenotyping and determination of gene expression by real-time PCR, there was a significant amount of contaminant subpopulations (CD133 and CD45) of hematopoietic cells throughout the cell culture period. There was shown

the considerable heterogeneity and cellular commitment to differentiate the obtained cultures.

*Field of application:* molecular and cell biology, transplantology, regenerative medicine.

*Offers for cooperation:* joint research in the field of cell therapy technologies in transplantology.

## ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК 616.831.31:616.89-008.441.13

**Асимметрия нейроактивных соединений  
в коре больших полушарий головного мозга  
при экспериментальном алкоголизме***М.Н. Курбат***Рубрика: 76.03.31***НИР:* «Нейрохимическая асимметрия при алкогольной интоксикации».*Сроки выполнения НИР:* апрель 2011 г. — март 2013 г.*Научный руководитель:* канд. мед. наук, доц. М.Н. Курбат.*Источник финансирования:* Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований.

Проведя обобщение современных научных сведений, касающихся асимметрии и латерализации функций головного мозга, можно отметить, что биологически активные вещества неравномерно распределены между структурами ЦНС, а также правой и левой половинами мозга относительно среднесагиттальной плоскости. К примеру, в левом бледном шаре, базальных ядрах серотонина больше, чем в правых. Если доминирующим является правое полушарие, то выявляются обратные количественные соотношения серотонина между системами правого и левого полушарий. Дофамина больше в правой миндалине. У крыс в хвостатых и прилежащих ядрах обнаружено одинаковое количество норадреналина. Норадреналина в правом обонятельном бугорке у крыс больше, чем в левом, и, наоборот, больше в левом таламусе. Имеются данные относительно содержания норадреналина, дофамина, холинацетилтрансферазы, гаммааминомасляной кислоты (ГАМК), а также свободных жирных кислот в полушариях мозга. Для лобной доли характерно повышенное содержание N-ацетиласпартата и креатина в правом полушарии, а для теменной доли преобладание этих веществ и инозитола в левом полушарии головного мозга.

Принимая во внимание трудности изучения центрального звена патогенеза алкогольной зависимости непосредственно на организме человека, до сих пор актуальным остаются экспериментальные модели алкоголизма на лабораторных животных.

*Цель* — выявление особенностей структуры фонда нейромедиаторов, свободных аминокислот и их производных, а также некоторых ферментов их метаболизма в симметричных отделах головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации.

Для моделирования алкогольной интоксикации использовались самцы беспородных крыс массой 200–220 г. Количественная и качественная идентификация свободных аминокислот и их дериватов в безбелковых экстрактах ткани головного мозга проводилась обращенно-фазной хроматографией с предколоночной дериватизацией 0,4% о-фталевым альдегидом и 0,3%

3-меркаптопропионовой кислотой в 0,4 М Na-боратном буфере, pH 9,4, а также флуоренилметилкарбомоилхлоридом (FМОС) и детектированием по флуоресценции (231/445 нм для первичных аминокислот и 265/313 нм — для содержащих вторичную аминогруппу). Метод разделения катехоламинов, серотонина и их метаболитов, а также аминокислотных предшественников (тирозина, триптофана и 5-окситриптофана) представляет собой модификацию использованного выше, за исключением того, что вместо электрохимического детектирования мы применяли детектирование по природной флуоресценции, которое отличается несколько меньшими требованиями к точности условий определения и качеству материалов. Активность ферментов АлАТ, АсАТ и ГТТП изучали кинетическим методом с применением наборов реагентов НТПК «Анализ X». Для оценки латерализации биохимических показателей в симметричных анатомических структурах предложен алгоритм расчета индекса асимметрии (Li), математически отражающий преобладание метаболитов в симметричных структурах.

Выявлено, что при острой алкогольной интоксикации (ОАИ) проявляется дозозависимый эффект. Максимальная инверсия Li для аминокислот, биогенных аминов и их производных отмечается при ОАИ в дозе 1 г/кг (внутрибрюшинно, длительность интоксикации — 1 ч). В данных экспериментальных условиях наблюдаются изменения Li в отношении цистеата, глутамата, глутамина, цитруллина, аргинина, этаноламина, серотонина.

Прерывистое (внутрижелудочно 4 сут этанол + 3 сут отмены) введение этилового спирта в максимальной степени трансформирует пул аминокислот и биогенных аминов при 4-кратном повторении циклов алкоголизации, в то время как разница в содержании метаболитов между симметричными структурами ЦНС наблюдается только при 2-недельной прерывистой интоксикации. Li для АлАТ, АсАТ и ГТТП относительно стабилен при различных вариантах экспериментального алкоголизма.

Нарушение межполушарных взаимоотношений в генезе психических расстройств на сегодняшний день общеизвестный факт. Выявленная нами нейрохимическая асимметрия аминокислотного фонда в лобных долях коры больших полушарий беспородных крыс при экспериментальном алкоголизме дополняет сведения о функционировании головного мозга в норме и раскрывает перспективы изучения латерализации биохимических процессов при целом ряде патологических состояний, вовлекающих ЦНС. Исследование биохимической асимметрии поднимает много важных вопросов, без решения которых невозможно понимание функциональной латерализации и механизмов функционирования мозговых полушарий.

Также необходимо отметить, что симметричный способ функционирования на физиологическом уровне достигается за счет существования или возникно-

вения множественных нейрхимических асимметрий. При планировании нейрхимического эксперимента следует иметь в виду, что асимметричное реагирование мозговых полушарий сопряжено с реципрокными нейрхимическими сдвигами в одноименных структурах, это не позволяет использовать второе полушарие в качестве контроля.

### **Laterality of neuroactive compounds in the cerebral cortex of the brain in experimental alcoholism**

*M.N. Kurbat*

The Aim of this study was to investigate the particularity of amino acids and neurotransmitters pool, their derivatives and some enzymes of its metabolism in symmetric parts in of the brain in experimental alcohol intoxication. The Way for calculation of laterality index (Li) was offered for determination of the cale of laterality of biochemical compounds in symmetric anatomical structures. Experiments demonstrate that during acute alcohol intoxication (AAI) there were observed the dose dependent effects. Maximum inversion of Li was noted in rats with AAI in the dose 1 g/kg b.w., (exposition – 1h). Intermittent alcohol administration (4-day-long alcohol+3-day-long withdrawal) in the maximal degree transformed the amino acids and biogenic amines pool. At the same time the changes of Li were observed in the case of 2 cycle relapse. Li activity of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and gammaglutamyltranspeptidase is stable in all cases of alcoholisation.

УДК 618.1-002:614.2-055.2

### **Медико-организационная модель охраны репродуктивного здоровья женщин с воспалительными заболеваниями половых органов**

*И.А. Наумов*

**Рубрики: 76.75.75; 76.29.48**

*НИР:* «Укрепление репродуктивного здоровья женщин с воспалительными заболеваниями половых органов в рамках системы перинатальных технологий».

*Сроки выполнения НИР:* январь 2009 г. — декабрь 2013 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. Е.М. Тищенко.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Несмотря на постоянное совершенствование организационных технологий, повышение качества медицинской помощи, возрастание значимости существующего медицинского контроля оздоровления пациенток с воспалительными заболеваниями половых органов (ВЗЖПО), требуются новые комплексные исследования для научного обоснования и разработки системных организационных мероприятий для охраны и укрепления репродуктивного здоровья данного контингента на всех этапах медицинского наблюдения.

*Цель* — разработать, научно обосновать и внедрить

медико-организационную модель охраны репродуктивного здоровья пациенток с ВЗЖПО.

На основе изучения архивных и статистических данных по результатам деятельности в 1954–2008 гг. учреждений акушерско-гинекологической службы Гродненской области, общего клинического, специального и социологического обследования 1000 пациенток разработана и внедрена медико-организационная модель охраны репродуктивного здоровья пациенток с ВЗЖПО.

Установлено, что ВЗЖПО в течение длительного исторического периода (1954–2003 гг.) занимали первое место в структуре гинекологической заболеваемости. В их составе преобладали вульвовагиниты и сальпингиты, а показатели первичной и общей заболеваемости имели высокие уровни и характеризовались постоянным ростом: в 1954–1994 гг. показатель первичной заболеваемости увеличился в 6,5 раза, преимущественно за счет роста выявляемости острых вульвовагинитов, и составил 65,2 на 10000 населения; показатель общей заболеваемости увеличился в 5,8 раза и составил 71,2 на 10000 населения.

Пациентки с ВЗЖПО составляют группу повышенного медико-социального «риска»: при недостаточном уровне медико-санитарных знаний их характеризуют неудовлетворительные материально-бытовые условия проживания, ранний возраст сексуальных дебютов, беспорядочные половые контакты, частые брачные зачатия, высокая частота гинекологической и экстрагенитальной заболеваемости. Воздействие медико-социальных факторов определяет низкий уровень рождаемости у пациенток: фактический показатель детности — 0,75, планируемое число детей — 1,71, что не обеспечивает простого воспроизводства населения; характерным является удлинение протогенетического и интергенетического интервалов.

Выявленные медико-социальные факторы имели детерминантное значение в ухудшении репродуктивного здоровья женщин фертильного возраста с воспалительными заболеваниями половых органов, развившиеся ростом нарушений менструального цикла вследствие гормональных нарушений, высокой частотой синдрома тазовой боли, снижением иммунологической резистентности с исходом в хронизацию патологического процесса и бесплодие, формированием гнойно-деструктивных форм хронического сальпингита, генерализацией инфекционно-воспалительного процесса, что сопровождалось эктоимией тазовых органов с последующим ограничением или невозможностью выполнения генеративной функции.

Наличие ВЗЖПО определяет течение гестационного процесса и гравидарные исходы: основными причинами перинатальной смертности у пациенток с ВЗЖПО являлись недоношенность, врожденные пороки развития, гипоксически-травматические энцефалопатии. Уровень показателя был высоким и составлял 9,9% (мертворождаемость — 5,8%; ранняя неонатальная смертность — 4,1%).

Впервые разработанная на основе статистической,

социологической и экспертной информации и внедренная комплексная медико-организационная модель охраны репродуктивного здоровья женщин с воспалительными заболеваниями половых органов направлена на реализацию государственной политики в здравоохранении и включает в себя запатентованные стандартизированные организационные, медицинские и информационные технологии, которые позволили при эффективном взаимодействии перинатальных служб гарантировать качество и доступность медицинской помощи пациенткам на прегравидарном этапе, во время беременности и родов, а также в послеродовом периоде, и решить такую важную медико-социальную проблему, как укрепление их репродуктивного здоровья. Высокая медицинская, социальная и экономическая эффективность модели выразилась в уменьшении в 1,2 раза уровня общей заболеваемости ВЗЖПО, сокращении в 1,2 раза сроков лечения пациенток в гинекологических стационарах, в т. ч. с временной утратой трудоспособности, уменьшении в 2,7 раза уровня репродуктивных потерь и на 42,3% — показателя перинатальной смертности, в росте в 1,1 раза показателя рождаемости, а также в дополнительном доходе, полученном государством за пятилетие в сумме 21 822 188 652 тыс. рублей (в ценах 2008 г.).

*Область применения:* общественное здоровье и здравоохранение, акушерство и гинекология.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении.

#### **Medical-organizational model of reproductive health protection in women with inflammatory diseases of genitals**

*I.A. Naumov*

There was carried out complex social-hygienic research including the study of volumes and quality of medical aid, the security of obstetric-gynecologic service, financial resources and staff, introductions of new organizational, medical and information technologies, study of the equipment for women of reproductive age and other problems. There was developed a medical-organizational model of reproductive health protection in women with inflammatory diseases of the genitals. The model is realized in three stages: pregravid improvement; medical maintenance in pregnancy; organisation of medical aid to women in childbirth, and after treatment. The benefit of the model introduction made 21 822 188 652 BYR (in the prices of 2008).

*Field of application:* public health, obstetrics and gynecology.

*Offers for cooperation:* advisory assistance.

УДК 616.12-008-08

#### **Метаболическая коррекция у пациентов с ИБС с хронической сердечной недостаточностью и желудочковыми нарушениями ритма**

*Е.М. Дорошенко, В.А. Снежицкий, В.М. Пырочкин, Е.М. Сурмач*

**Рубрики: 76.29.30; 76.03.31**

*НИР:* «Разработать и внедрить способ прогнозирования желудочковых нарушений ритма у пациентов с хронической сердечной недостаточностью на основе исследования показателей метаболизма триптофана».

*Срок выполнения НИР:* январь 2011 г. — декабрь 2015 г.

*Научные руководители:* Е.М. Дорошенко, д-р мед. наук, проф. В.А. Снежицкий.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Триптофан и его производные вовлечены в регуляцию ряда физиологических и патологических процессов в организме, включая патогенетические механизмы заболеваний сердца и сосудов. Снижение доступности триптофана и синтеза серотонина снижает варибельность сердечного ритма, что является неблагоприятным прогностическим признаком. Особенно неблагоприятным осложнением у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) являются желудочковые нарушения ритма (ЖНР). Установлен ряд неблагоприятных биологических эффектов гипергомоцистеинемии; рассматриваются подходы к первичной и вторичной профилактике ИБС на основе ее коррекции и других способов метаболической терапии, среди которых заслуживает внимания коррекция обмена липидов омега-3-полиненасыщенными жирными кислотами (омега-3 ПНЖК). В то же время остаются неисследованными аспекты влияния омега-3 ПНЖК на обмен свободных аминокислот при ИБС, в т. ч. показатели, имеющие связь с риском развития ЖНР.

*Цель* — установить эффективность корригирующей терапии с помощью омега-3-ПНЖК по клинико-биохимическим показателям, включая пул свободных аминокислот и продуктов гидроксиланого пути обмена триптофана, у пациентов с ИБС с проявлениями ХСН, в т. ч. с желудочковыми нарушениями ритма.

Пациентам с ИБС с признаками ХСН назначают в дополнение к «базовой» терапии омакор в суточной дозе 1 г в течение 3 мес. Через 1 и 3 мес. проводят повторное исследование фонда свободных аминокислот, в т. ч. серусодержащих, определяют уровни серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты в плазме крови. Определение метаболитов триптофана выполняется с помощью ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции; свободных аминокислот, а также общего гомоцистеина — методом обращенно-фазной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией и детектированием по флуоресценции. По соотношению концентраций аминокислот оценивается степень риска развития ЖНР.

Исследование эффективности коррекции выполнено у 82 пациентов с ИБС с проявлениями ХСН, в т. ч. с ЖНР. Курсовое назначение омакора в течение 1 мес. не привело к значимому изменению показателей обмена липидов, однако было выявлено повышение индекса SDNN и общей мощности спектра, что отражает положительную динамику показателей variability ритма. Кроме этого, наблюдались более низкая длительность ишемии, безболевого ишемии, количество парных ЖЭС и эпизодов желудочковой тахикардии, что следует считать признаком клинической эффективности примененной коррекции с точки зрения предотвращения желудочковых аритмий, что достигалось на фоне неизменных показателей транспорта и обмена липидов и холестерина и при дозе омакора существенно ниже, чем требуется для коррекции липидного обмена. Через 3 мес. после начала корригирующей терапии уровень гомоцистеина снижался в группе пациентов, получавших омакор, но не базовую терапию, причем это снижение обусловлено пациентами с ЖНР при поступлении. Через 1 мес. после начала корригирующей терапии в плазме крови повышался уровень конечного метаболита серотонина, что может свидетельствовать об активации центральных серотонинергических функций.

На основе пошагового дискриминатного анализа был предложен индекс соотношения уровней аминокислот, определяющих различие пациентов с ИБС в зависимости от наличия ЖНР: глицин, общие глутатион, гомоцистеин, гистидин, аспарагин и триптофан. По величине этого индекса группы пациентов с ИБС с ЖНР и без ЖНР достоверно различаются между собой, но в процессе лечения это различие исчезает. К сроку 1 мес. величина индекса имеет устойчивую тенденцию к повышению. Следовательно, эта величина может быть использована для оценки эффективности терапии с точки зрения снижения риска развития желудочковых аритмий. При этом имеет значение факт повышения индекса, независимо от исходного значения.

*Область применения:* кардиология, внутренние болезни, клиническая биохимия.

*Рекомендации по использованию:* для оптимизации медикаментозной терапии пациентов с ИБС с проявлениями ХСН и желудочковыми аритмиями.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении, совместные исследования по тематике разработки.

#### **Method of determination of tryptophan metabolites**

*E.M. Doroshenko, V.A. Snezhitsky,  
V.M. Pyrochkin, E.M. Surmach*

Aim of work: evaluation of effectiveness of metabolic correction with omega-3-polyunsaturated fatty acids using clinical and biochemical criteria, including pool of free amino acids and products of hydroxylase pathway of tryptophan in patients with ischemic heart disease with chronic impaired cardiac function and ventricular arrhythmia.

We investigated the biochemical effects of omega-3-polyunsaturated fatty acids for metabolic therapy of patients with ischemic heart disease with chronic impaired cardiac function and ventricular arrhythmia. We developed the method to possess positive tendency in the variability of the cardiac rhythm and in clinical signs of cardiac ischemia achieved with drug doses not affecting the lipid metabolism and transport.

After 1 and 3 months of treatment hyperhomocysteinemia tended to go down while the changes in amino acid pool appeared to enhance the serotonergic functions.

*Field of application:* cardiology, clinical biochemistry and related branches of internal medicine.

*Offers for cooperation:* joint research.

УДК 616.36-002.2:[616.98:578.828.6-НIV]-085:281.8

#### **Противовирусная терапия хронического гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов**

*Н.В. Матиевская, В.М. Цыркунов*

**Рубрики: 76.29.50; 76.29.34**

*НИИ:* «Разработать критерии патоиммуноморфологической диагностики поражений печени различной этиологии у ВИЧ-инфицированных пациентов».

*Сроки выполнения НИИ:* II кв. 2011 г. — IV кв. 2015 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. В.М. Цыркунов.

*Организация-соисполнитель:* ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии».

*Источник финансирования:* госбюджет.

*Цель* — оценить результаты и переносимость противовирусной терапии ХГС у ВИЧ-инфицированных пациентов СТ и ПГ ИФН альфа-2b.

В настоящее время противовирусная терапия (ПВТ) ВГС-инфекции проводится лекарственными средствами рекомбинантным интерфероном-альфа (ИФН- $\alpha$ ), который представлен стандартными «короткими» ИФН (СТ ИФН) и пегилированными ИФН (ПГ ИФН), как правило, в комбинации с рибавирином (РИБ). Эффективность противовирусной терапии на основании ИФН- $\alpha$  остается недостаточно эффективной и в целом составляет около 50%. Клиническое применение ПГ ИФН у ВИЧ-инфицированных пациентов сталкивается с высокой частотой досрочного прерывания лечения из-за возникновения серьезных нежелательных явлений (НЯ) терапии, развивающихся у 12–51% пациентов. В то же время результаты международных исследований демонстрируют эффективность СТ ИФН, сравнимую с ПГ ИФН при 2 и 3 генотипах ВГС, наличие у них меньшей частоты НЯ, в т. ч. прогрессирования иммунносупрессии. Кроме того, важным является более низкая стоимость СТ ИФН, что делает его более доступными для использования ВИЧ-инфицированными пациентами.

Под наблюдением находилось 44 ВИЧ-инфицированных пациента, получавших ПВТ ХГС СТ

ИНФ и ПГ ИФН. Диагноз ВИЧ-инфекции верифицировали методом ИФА и иммуноблотом. Для определения клинической стадии ВИЧ-инфекции использовали классификацию ВОЗ (2006). Диагноз ВГС-инфекции у всех пациентов в группе был подтвержден обнаружением РНК ВГС. Для определения РНК ВГС и генотипа ВГС использовался метод ПЦР (Амплисенс, РФ). Вирусная нагрузка (ВН) ВИЧ (РНК) определялась методом ПЦР в режиме real time (Амплисенс, РФ), не-тестируемый уровень ВН ВИЧ был менее 500 кп/мл. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Клинико-лабораторные показатели пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ВГС, получавших ПВТ ВГС-инфекции

Показатели	1 группа, n = 23, %	2 группа, n = 21, %
Средний возраст (среднее±SD, годы)	32,1±4,7*	35,7±9,3
Мужчины, n (%)	14 (60,9)	12 (57,1)
Женщины n (%)	9 (39,1)	9 (42,9)
«Стаж» ВИЧ-инфекции (среднее±SD, годы)	8,2±3,4	9,9±5,1
ПИН (абс./%)	16 (69,6)	11 (52,4)
Клиническая категория ВИЧ (ВОЗ, 2006):		
1	4 (17,4)	5 (23,8)
2	7 (30,4)	13 (61,9)
3	10 (43,5)**	2 (9,5)
4	2 (8,7)	1 (4,7)
Генотип ВГС		
1a	3 (20)	4 (19,0)
1b	3 (20)	5 (23,8)
3a	6 (40)	6 (28,6)
3a/b	3 (20)	5 (23,8)
2	0	1 (4,7)
не определялся	8 (34,8)	0
АЛАТ до ИФТ (медиана, ИКР) ЕД/л	131,8 (72–193,8)	103 (22–527)

Примечание: \* —  $p < 0,05$ , Mann–Whitney U Test; \*\* —  $p < 0,05$ , Тест  $\chi^2$ ; ИКР — интерквартильный размах.

Всем пациентам в группах рекомендовалась ПВТ ХГС в виде комбинации ПГ ИФН и РИБ. В связи с недоступностью ПГ ИФН для части пациентов 23 из них пролечены с помощью СТ ИФН. Наблюдаемые пациенты были разделены на 2 группы: 1 группа — 23 пациента, получавшие ПВТ ХГС средствами рекомбинантного СТ ИФН альфа-2b и РИБ, 2 группа — 21 пациент, получавшие терапию средствами ПГ ИФН альфа-2b и РИБ.

Сокращение рекомендуемых 48-недельных курсов терапии, а также монотерапии лекарственными средствами с помощью ИФН- $\alpha$  было связано с отсутствием эффективности от ПВТ, развитием НЯ на ПВТ, отказом пациентов от лечения и отсутствием средств у пациентов.

ПВТ ВГС-инфекции у большинства пациентов в

обеих группах начиналась на фоне ВААРТ, при этом продолжительность ВААРТ до начала ПВТ ХГС у пациентов 2-й группы была больше ( $p < 0,03$ ). ПВТ ХГС как стартовая схема терапии ко-инфекции ВИЧ/ВГС (до назначения ВААРТ) была проведена у 10 (43,55) пациентов 1-й группы и у 4 (19,0%) — во 2-й группе. Присоединение ВААРТ на фоне проводимой ПВТ ХГС было выполнено у 2 пациентов 2-й группы в связи с прогрессированием ВИЧ-инфекции. Замена схем ВААРТ в ходе ПВТ ХГС была проведена у 9 (39,1%) пациентов в 1-й группе и у 7 (33,3%) — во 2-й группе ( $p > 0,05$ ). Причинами замены схем ВААРТ были развитие НЯ (анемия, возбуждение и др.), риск гепатотоксичности, а также прогрессирование иммуносупрессии на фоне ПВТ.

Препараты СТ ИФН пациентам 1-й группы назначались парентерально в дозе 3 млн МЕ 3 раза в неделю. ПГ ИФН альфа-2b во 2-й группе назначался в дозе 1,5 мг/кг 1 раз в неделю, РИБ — ежедневно в дозе 1000–1200 мг с учетом веса пациента. Временное снижение дозы РИБ или полная отмена в связи с развитием НЯ и плохой переносимостью проведены у 5 (29,4%) пациентов 1-й группы и 13 (76,5%) — во 2-й группе ( $p > 0,05$ ).

Результаты ПВТ ко-инфекцией ВИЧ/ВГС оценивались по общепринятым критериям и представлены в табл. 2. Не установлено достоверных различий в частоте и характере вирусологического ответа (ВО) на ПВТ как в целом в группах, так и в зависимости от получения ВААРТ.

Таблица 2

Результаты ПВТ ВГС-инфекции у пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ВГС в зависимости от получения ВААРТ (n/%)

Результаты ПВТ	1 группа, n = 23			2 группа, n = 21/%		
	Всего	ВА-АРТ + n = 13	ВА-АРТ - n = 10	Всего	ВА-АРТ + n = 17	ВА-АРТ - n = 4
НВО	16/69,5	9/69,2	7/70	11/52,4	10/58,8	1/25
УВО	13/56,5	6/46,2	7/70	8/38,1	7/41,2	1/25
Не определялся УВО	2/8,7	2/15,4	–	2/9,5	2/11,8	–
ОВО	7/30,4	4/30,8	3/30	9/42,9	7/41,2	2/50
ВП	–	–	–	1/4,7	–	1/25
Рецидив ХГС	1	1	–	1	1	

Примечание: НВО — вирусологический ответ к завершению терапии; ВП — вирусологический прорыв; УВО — устойчивый вирусологический ответ; ОВО — отсутствие вирусологического ответа.

Генотип ВГС считается одним из определяющих факторов в достижении ВО на ПВТ ХГС. В табл. 3 представлены результаты ПВТ ХГС у ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от генотипа ВГС. Как видно из табл. 3, не выявлены достоверные различия в частоте НВО и УВО на ПВТ ХГС у пациентов с 1 и не 1 генотипом ВГС внутри групп, так и между сравниваемыми группами.

Таблица 3

Результаты ПВТ ВГС-инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов с разными генотипами ВГС (n/%)

Результаты ПВТ	1 группа, n = 15		2 группа, n = 21	
	1 генотип, n = 6	Не 1 генотип, n = 9	1 генотип, n = 9	Не 1 генотип, n = 12
НВО	3/50,0	6/66,7	6/66,7	5/41,7
УВО	2/30	5/55,6	4/44,4	4/33,3
ВП	–	–	–	1
ОВО	3/50	3/33,3	3/33,7	7/58,3
Не определялся УВО		1	1	1
Рецидив ХГС	1	–	1	–

*Примечание:* ВО — вирусологический ответ; НВО — ответ к завершению терапии; УВО — устойчивый вирусологический ответ; ВП — вирусологический прорыв; ОВО — отсутствие вирусологического ответа.

При оценке результатов ИФН терапии в группах в зависимости от стадии фиброза печени и степени активности гепатита различий не обнаружено ( $p > 0,05$ ). Так, среди 7 пациентов 1-й группы с фиброзом 0 и 1 у 5 отмечен НВО, при этом у 3 зафиксирован УВО. Среди 4 пациентов 2-й группы с фиброзом 1 у 1 установлен НВО и УВО. У 1 пациента с фиброзом 3 в 1-й группе отмечен УВО. Среди 2-х пациентов с установленным фиброзом 3 во 2-й группе УВО зафиксирован у 1 пациента.

Одним из основных ограничений к широкому терапевтическому использованию лекарственных средств ИФН- $\alpha$  у ВИЧ-инфицированных пациентов является риск снижения CD4+Т-лимфоцитов и усугубление иммуносупрессии. Динамика CD4+ Т-лимфоцитов и уровня ВН ВИЧ на фоне ПВТ в группах наблюдения представлена в табл. 4.

Таблица 4

Динамика уровня CD4+ Т-лимфоцитов и уровня ВН ВИЧ на фоне ПВТ ХГС у ВИЧ-инфицированных пациентов

Показатели, Медиана, ИКР	1 группа, n = 23	2 группа, n = 21
CD4+Т до терапии, кл/мкл	309 (245–345)*	474 (290–727)
CD4+Т к завершению терапии, кл/мкл	349 (235–561,5)	330 (227–457)**
ВН ВИЧ до терапии, кп/мл	1639,5 (НТ-9778,5)	НТ (НТ-1400,0)
ВН ВИЧ к завершению терапии, кп/мл	2550,1 (НТ-7818,5)*	НТ

*Примечание:* \* —  $p < 0,05$  при сравнении с группой 2,  $p < 0,05$ , Mann–Whitney U Test; \*\* —  $p < 0,05$ , при сравнении показателя до терапии и к завершению терапии во 2 группе, Wilcoxon Matched Pairs Test; ИКР — интерквартильный размах; НТ — нестируемый уровень ВН ВИЧ ( $< 500$  кп/мл).

Исходный уровень CD4+Т до терапии в 1-й группе пациентов был ниже, чем во второй. К завершению терапии в 1-й группе отмечено некоторое повышение уровня клеток, в то время как во 2-й группе — достоверное снижение CD4+Т-лимфоцитов по сравнению с исходным уровнем, что указывает на более выраженный иммуносупрессивный эффект ПГ ИФН по сравнению со СТ ИФН. Уровни ВН ВИЧ до терапии не различались в группах пациентов, к завершению терапии ВН ВИЧ в 1-й группе несколько повысилась ( $p > 0,05$ ).

Наиболее распространенным НЯ в 1-й группе пациентов был гриппоподобный синдром (ГПС), который исчезал через у 2–3 недели у большинства пациентов, у 4 пациенток повышение температуры тела до субфебрильных цифр сохранялось на протяжении ИФТ. Во 2-й группе у 9 пациентов отмечено повышение температуры длительностью от 1 до 3 дней после инъекции ПГ ИФН.

Депрессия в 1-й группе отмечена у 4 пациентов, которые в прошлом были наркопотребителями (17,4%). При этом депрессия, возбуждение, сонливость у 2 пациентов 1-й группы не требовали специализированной психиатрической помощи и отмены ИФТ. У 2 пациентов развилась выраженная депрессия, что привело к перерывам терапии в течение первых 3 мес. и полной отмене через 3 мес. лечения в связи с отсутствием ВО. Во 2-й группе депрессия отмечена у 7 пациентов, при этом 5 из них отказались от дальнейшей ПВТ.

Снижение массы тела, отмеченное у 4 пациентов в 1-й группе, было не более 5%, после завершения ПВТ вес быстро восстановился. Во 2-й группе снижение массы тела отмечено у 13 пациентов, при этом у 5 из них снижение было более 5%. У 2 пациенток 2 группы, ответивших на ПВТ, развилась липоатрофия, потребовавшая замены схем ВААРТ и досрочного прекращения ПВТ в одном случае, несмотря на достижение УВО. Гематологические сдвиги отмечены приблизительно с одинаковой частотой в группах.

*Выводы.* Стандартом ПВТ ХГС у ВИЧ-инфицированных пациентов является комбинированная терапия ПГ ИФН и РИБ. Как показывает практика, у столь сложной и неоднородной категории пациентов, какими являются пациенты с ко-инфекцией ВИЧ/ХГС, главным принципом при назначении и мониторинге ПВТ является индивидуальный подход как при выборе терапии, так и при индивидуальном прогнозировании эффективности ПВТ.

*Область применения:* инфекционные болезни, гепатология, клиническая медицина.

*Рекомендации по использованию:* дальнейшие исследования по разработке новых направлений в терапии коинфекции ВИЧ/ВГС.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования по иммунологии и разработке новых лекарственных средств в терапии ВИЧ/ВГС.

### Antiviral therapy for chronic hepatitis C in HIV-infected patients

*N.V. Matievskaya, V.M. Tsyrukunov*

The paper presents comparative results and the rate of adverse reactions on antiviral therapy for chronic hepatitis C in two groups of HIV-infected patients: the first group included 23 patients who received the treatment with standard interferon alpha-2b and the second group included 21 patients who received the treatment with pegylated interferon alfa-2b. The same efficacy rate of hepatitis C treatment was established in both groups. The rate of adverse reactions, including immunosuppression was higher in the second group. Standard interferons were effective as monotherapy and in combination with ribavirin. Relatively low cost of standard interferons makes them more available for HIV-infected patients. Pegylated interferons are drugs of choice in patients with relapse of hepatitis C or those who didn't respond to initial therapy with standard interferons.

УДК 616.149-008.341.1-005.1-036.87-084

### Способ профилактики ранних рецидивов кровотечений у пациентов с портальной гипертензией

*П.В. Гарелик, Э.В. Могилевец, Н.И. Батвинков, О.И. Дубровщик, Г.Г. Мармыш*

**Рубрики: 76.29.39; 76.29.34; 76.29.60**

**НИР:** «Разработка новых и совершенствование применяющихся методов хирургического лечения цирроза печени и его осложнений».

**Сроки выполнения НИР:** 2010–2014 гг.

**Научный руководитель:** проф. О.И. Дубровщик.

**Источник финансирования:** бюджет УО «Гродненский государственный медицинский университет».

**Цель** — снизить частоту ранних рецидивов кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода и желудка (ВРВПЖ) у пациентов с циррозом печени и портальной гипертензией при использовании зонда Сенгстакена–Блэкмора.

Механизм действия стандартного зонда обтуратора заключается во временной обтурации дефекта в стенке ВРВ. За время его функционирования в наилучшем исходе происходит восстановление как дефекта в стенке вены, так и слизистой пищевода и желудка над ним. Недостатком способа является низкая эффективность контроля кровотечения: из ВРВ пищевода — 40–96%, из ВРВ желудка — 0–25%. Кроме того, с его использованием ассоциируется развитие изъязвлений и некрозов слизистой пищевода и желудка, что ухудшает результаты лечения, способствуя ранним рецидивам кровотечений.

Нами проведено исследование результатов лечения 70 пациентов «Центра гастродуоденальных кровотечений» (УЗ «Городская клиническая больница № 4 г. Гродно») с циррозом печени и портальной гипертензией, осложненной кровотечением из ВРВПЖ. При продолжающемся активном кровотечении пациентам проводилась постановка зонда Сенгстакена–Блэкмо-

ра в качестве основного метода гемостаза, либо после проведения эндоскопического склерозирования ВРВ пищевода и желудка. В основной группе в дополнение проводилось предварительное нанесение на баллоны зонда мази «Процелан» (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов») из расчета  $\frac{1}{2}$  содержимого тубы (12,5 г). В 100 г мази входят цефалексин — 0,95 г, пролин — 0,75 г; окисленная целлюлоза.

Цефалексин — цефалоспориновый антибиотик первого поколения широкого спектра бактерицидного действия.

Окисленная целлюлоза широко применяется в современной медицине в качестве носителя ряда лекарственных веществ. Кроме того, сама по себе обладает рядом положительных медико-биологических характеристик: повышает свертывание крови в месте аппликации (образование фибрина и активация тромбоцитов при использовании окисленной целлюлозы протекает с участием фактора XII). Освещается способность ускорять миграцию и пролиферацию фибробластов *in vitro*, а также *in vivo* ускорять закрытие ран и оптимизировать гистологическую картину. Инактивирует вредное действие протеаз, свободных радикалов и избытка ионов металлов и повышает количество факторов роста. Доказана высокая эффективность окисленной целлюлозы для достижения гемостаза и контроля кровотечения, особенно при резекции печени, операциях на матке, почке.

Пролин — заменимая протеиногенная аминокислота, является предшественником гидроксипролина — основной аминокислоты коллагена. Наличие достаточного количества L-пролина способствует заживлению ран. Некоторые авторы отмечают, что производные пролина могут иметь противовоспалительные свойства, способны снижать болевую чувствительность в эксперименте.

Таким образом, входящие в состав мази компоненты оказывают гемостатическое, антимикробное и противовоспалительное действие, способствуют ускорению регенерации и потенциально могут способствовать профилактике возникновения тромбофлебитов, предотвращать расплавление стенки ВРВПЖ, обеспечить более быстрое протекание процессов регенерации дефектов стенки вены и слизистой пищевода и предотвратить ранние рецидивы кровотечений после извлечения зонда обтуратора. Это позволит использовать данный благоприятный период для применения других более долговременных методов профилактики и лечения кровотечений из ВРВПЖ.

При использовании зонда обтуратора с нанесенной на поверхность баллонов мази «Процелан» отмечено улучшение эффективности гемостаза. Рецидивы кровотечения отмечены у 21 (38,2%) пациента группы сравнения после извлечения зонда, в то время как в основной группе — у 2 (13,3%) пациентов ( $\chi^2 = 3,3$ ;  $p < 0,05$ ). Летальность в группе сравнения составила 30,9%, в основной — 5,6% ( $\chi^2 = 3,63$ ;  $p < 0,05$ ). При проведении ФГДС на 3–7-е сут у 12 (85,7%) пациентов основной группы отмечалось уменьшение дефекта слизистой

оболочки пищевода. В то же время в группе сравнения (ФГДС выполнена 45 пациентам) уменьшение дефекта выявлено лишь в 3 (6,7%) случаях ( $\chi^2 = 35,4$ ;  $p < 0,001$ ), при этом у 12 (26,6%) пациентов отмечено ухудшение эндоскопической картины в виде увеличения размеров эрозии в области слизистой пищевода, у 30 (66,7%) пациентов размеры остались прежними.

Показатели портального кровотока (давление в воротной вене, линейная и объемная скорость кровотока) в основной группе, вероятно вследствие более надежного гемостаза, статистически значимо не изменялись. В то же время в группе сравнения они снижались к 3-м сут. На фоне установки зонда Сенгстакена–Блэкмора в группе сравнения происходило статистически значимое снижение количества эритроцитов, в то же время в основной группе снижения данных показателей не отмечалось, что также может свидетельствовать о более надежном гемостазе.

При использовании стандартной методики постановки зонда Сенгстакена–Блэкмора отмечалось ухудшение биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени (вероятно за счет отрицательного влияния неустойчивого гемостаза на гепатоциты). В то же время у пациентов на фоне применения зонда обтуратора с покрытием мазью «Процелан» уменьшения уровней общего белка, альбумина и холестерина не происходило, а для цитолитических маркеров наблюдалась противоположная группе сравнения тенденция — происходило незначительное снижение активностей АлАТ, АсАТ, ЛДГ, ЩФ. Снижались также уровни общего и прямого билирубина.

Таким образом, использование мази «Процелан» в качестве покрытия баллонов зонда Сенгстакена–Блэкмора как самостоятельный метод, так и в сочетании с эндоскопической склерозацией, является эффективным, способствует ускорению заживления дефектов в стенке ВРВ и слизистой пищевода и желудка и снижает процент ранних рецидивов кровотечений, вследствие чего препятствует ухудшению функционального состояния гепатоцитов и приводит к снижению летальности.

*Вид патентной защиты:* уведомление о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение № 20111706 от 16.02.2012 «Способ профилактики ранних рецидивов кровотечений при использовании зонда Сенгстакена–Блэкмора у пациентов с портальной гипертензией» (авторы П.В. Гарелик, Э.В. Могилевец).

*Область применения:* хирургия, эндоскопия.

*Рекомендации по использованию:* метод может быть использован для улучшения результатов лечения пациентов с кровотечениями из варикозно расширенных вен пищевода при циррозе печени в хирургических и эндоскопических отделениях районных, городских и областных больниц.

*Предложения по сотрудничеству:* консультативная помощь при внедрении; совместные исследования по указанной тематике.

### **A method of prevention of early recurrences of bleeding in patients with portal hypertension**

*P.V. Gorelik, E.V. Mogilevets, M.I. Batvinkov, O.I. Dubrovshchik, G.G. Marmysh*

Using of Sengstaken-Blakemore tube with the ointment «Procelan» in patients with liver cirrhosis and portal hypertension, complicated by bleeding from esophageal varices was very effective independently and together with endoscopic hardening. It promotes rapid healing of delatated varix walls defects and mucous membrane of esophagus and stomach; it reduces the rate of early bleedings relapses, which prevents from worsening of hepatocyte functional state and leads to lethality reduction.

*Field of application:* surgery, endoscopy.

*Recommendations for use:* the method can be used to improve the results of treatment in patients with bleeding esophageal varices in liver cirrhosis in surgical and endoscopic departments.

*Offers for cooperation:* consultative assistance, joint research.

УДК 616.89-008.441.33:613.9](476)

### **Тенденции наркологической ситуации в Республике Беларусь**

*В.В. Лелевич, А.Г. Виницкая, С.В. Лелевич*

**Рубрика: 76.33.43**

*НИИ:* «Оценить современные тенденции наркологической ситуации в Республике Беларусь и выявить региональные особенности наркопотребления. Разработать мероприятия по профилактике наркоманий с учетом региональных факторов».

*Сроки выполнения НИИ:* январь 2011 г. — декабрь 2012 г.

*Научный руководитель:* д-р мед. наук, проф. В.В. Лелевич.

*Источник финансирования:* госбюджет.

Проведена оценка распространенности наркопотребления в Республике Беларусь в 2012–2013 гг. на основании анализа информации наркологической службы Министерства здравоохранения.

Объектом исследования явились пациенты с синдромом зависимости от психоактивных веществ (МКБ-10: F11.2–F16.2, F18.2–F19.2) и лица с пагубным их употреблением (МКБ-10: F11.1–F16.1, F18.1–F19.1), состоящие на наркологическом учете в наркологических учреждениях МЗ РБ на 01.07.2013 г. Анализ информации о наркопотребителях проводился по социально-эпидемиологическим и медицинским параметрам, которые рассчитывались из регистрационных карт наркопотребителей, впервые выявленных и снятых с учета в наркологических учреждениях республики.

По данным Центра мониторинга за наркотиками и наркопотреблением ГрГМУ на 1 июля 2013 г. на наркологическом учете МЗ РБ состояло 15196 потребителей психоактивных веществ, против 14647 — на 1 января 2013 г. (прирост на 3,7%). В целом по Беларуси за

1-е полугодие 2013 г. наркологическими учреждениями было зарегистрировано 1388 новых и повторных случаев наркопотребления (1818 наркопотребителей — в 1-м полугодии 2012 г.).

Сравнение контингентов наркопотребителей, зарегистрированных в 1-х полугодиях 2012 и 2013 гг., выявило следующие существенные отличия, которые косвенно характеризуют динамику наркологической ситуации в республике.

В 2013 г. наркологическими учреждениями МЗ было зарегистрировано больше наркопотребителей на начальной стадии наркопотребления (профилактический учет) по отношению к лицам, имеющим синдром зависимости от ПАВ (диспансерный учет). В 1-м полугодии 2013 г. доля лиц, поставленных на профилактический наркологический учет, составила 66% против 56% в 1-м полугодии 2012 г. Это свидетельствует о заметном улучшении работы выявляющих служб в 2013 г. по сравнению с предыдущим годом.

Основные отличия контингентов наркопотребителей, зарегистрированных в 2012 и 2013 гг., касаются спектра употребляемых психоактивных веществ и, следовательно, способа употребления наркотиков.

Как и в предыдущие годы, среди лиц, выявляемых наркологическими учреждениями здравоохранения, преобладали потребители опийных наркотиков и инъекционные наркопотребители. Однако в 1-м полугодии 2013 г. было выявлено меньше потребителей опийных наркотиков (776 человек) по сравнению с аналогичным периодом 2012 г. (1156 человек). Это было связано с ростом выявления потребителей других видов психоактивных веществ.

Снижение численности выявленных потребителей опийных наркотиков привело к уменьшению выявления лиц, употребляющих инъекционные наркотики. В 1-м полугодии 2013 г. среди 1388 наркопотребителей, поставленных на наркологический учет, удельный вес потребителей инъекционных наркотиков составил 55% против 62% в 1-м полугодии 2012 г.

Сравнение контингентов наркопотребителей, зарегистрированных наркологической службой в 2012 и 2013 гг., показывает, что в текущем году возросло выявление потребителей каннабиноидов. Если в 2012 г. доля потребителей этих наркотиков составляла 21%, то в 1-м полугодии 2013 г. 28,5% впервые выявленных наркопотребителей употребляли эти вещества.

Основной особенностью 2013 г. является существенное увеличение случаев регистрации потребите-

лей курительных смесей типа «Спайс». В 2013 г. наркологическими учреждениями гг. Минска, Гомеля и Гродно было зарегистрировано 82 потребителя курительных смесей, тогда как в 2012 г. был выявлен только 1 случай употребления «Спайса».

В текущем году на наркологический учет были взяты 56 новых потребителей ингалянтов (4%), что меньше чем в 1-м полугодии 2012 г. (114). Удельный вес лиц, употребляющих психостимуляторы, вырос до 100 человек в 2013 г. по сравнению с предыдущим периодом (84 человека). Следует отметить, что за последние 2 года не было выявлено ни одного случая употребления эфедрона. Основную массу лиц, употребляющих психостимуляторы, составили потребители амфетаминов, «насовая» и некоторых других наркотиков. Наркологическая служба Беларуси регистрирует минимальное количество потребителей кокаина. За весь 2012 г. было взято на учет только 3 потребителя этого наркотика, в 1 полугодии 2013 г. — 2.

Таким образом, сопоставление контингентов наркопотребителей, поставленных на наркологический учет в 2012–2013 гг., позволило выявить тенденции распространения в Беларуси некоторых видов наркотиков. Это касается опийных наркотиков, психостимуляторов и синтетических каннабиноидов. Полученные данные могут быть полезны при формировании государственной политики в области противодействия наркомании, с учетом современных тенденций наркологической ситуации в Беларуси и ее региональных особенностей.

#### **Trends in drug use situation in the Republic of Belarus**

*V.V. Lelevich, H.G. Vinitckaya, S.V. Lelevich*

The study was aimed at comparing the data on registered drug users/addicts in Belarus, who were registered on the Narcological Register in 2012–2013. During that period there was observed further growth of the number of registered drug abusers, mainly of those who abuse opiates, cannabinoids, and psychostimulators. The most important trend of 2013 is the rapid increase in detection of people who abuse smoking mixtures containing synthetic cannabinoids.

The described approaches may be recommended for the development of comprehensive prevention programs according to the defined differences of drug related problems in Belarus.

## Указатель тематических рубрик

05.11.61	Население и здравоохранение .....	154
34.03.23	Математическая биология и теоретическое моделирование биологических процессов. Биоинформатика .....	41
34.03.35	Трансплантация тканей и органов .....	12
34.15.23	Молекулярная генетика .....	15, 21, 213
34.15.27	Генетическая инженерия .....	137
34.15.29	Молекулярная эволюция .....	72
34.15.51	Молекулярная онкология .....	126
34.23.41	Экологическая генетика .....	102
34.25.39	Вопросы экологии и эпидемиология вирусов .....	60, 63, 72
34.41.02	Общие закономерности морфогенеза, эмбриогенеза и онтогенеза человека и животных .....	188, 189, 191, 196, 203, 204
34.41.35	Нормальная анатомия человека и животных .....	201
34.47.51	Экологическая токсикология .....	108
34.57.21	Материалы для биомедицинского применения .....	211
50.41.25	Прикладное программное обеспечение .....	9
62.33.31	Культивирование клеток и тканей человека и животных .....	56–59, 146, 149
65.09.03	Состав, свойства и методы исследования сырья и продуктов .....	104
65.09.05	Пищевая ценность и контроль качества сырья и продуктов .....	104
65.63.35	Производство молочных консервов и молочных продуктов для детского питания .....	104
70.27.11	Анализ воды .....	103
70.27.15	Качество питьевой воды .....	103, 106
70.27.19	Качество подземных вод .....	106
76.01.11	Современное состояние и перспективы развития .....	178
76.01.73	Медицинская статистика .....	125
76.01.85	Автоматизация и автоматизированные системы .....	152
76.01.94	Охрана окружающей среды .....	113
76.03.29	Медицинская биофизика .....	152
76.03.31	Медицинская биохимия .....	137, 216, 218
76.03.39	Медицинская генетика .....	93, 94, 96–99, 119
76.03.41	Клиническая вирусология .....	29, 50, 55, 63–66, 70, 72, 73, 75, 76
76.03.43	Медицинская микробиология .....	29, 49, 50, 54, 62, 69, 73, 76, 78
76.03.45	Медицинская паразитология .....	60, 77
76.03.55	Медицинская иммунология .....	13, 137
76.09.31	Хирургические материалы .....	211
76.09.41	Полимерные материалы медицинского назначения и изделия из них .....	211
76.13.23	Медицинские комплексы, системы и приборы для аналитических исследований .....	30
76.13.25	Медицинские комплексы, системы, приборы, аппараты и устройства сочетанного лечебно-диагностического назначения .....	55, 65, 66
76.29.29	Внутренние болезни .....	177, 187
76.29.30	Кардиология и ангиология .....	46, 47, 193, 218
76.29.31	Ревматология .....	4, 5, 50
76.29.33	Гематология и трансфузиология .....	12, 13, 26, 135, 141, 143, 148
76.29.34	Гастроэнтерология и гепатология .....	183, 185, 198, 219, 222
76.29.35	Пульмонология .....	160, 207
76.29.36	Нефрология .....	63
76.29.39	Хирургия .....	38, 39, 46, 47, 182, 207, 222
76.29.41	Ортопедия и травматология .....	151, 155
76.29.42	Нейрохирургия .....	37, 38, 39, 41
76.29.43	Урология .....	131–133, 188
76.29.46	Медицинская трансплантология и имплантация .....	136, 139, 144, 193, 211
76.29.47	Педиатрия .....	11, 85–89, 91, 92, 210
76.29.48	Акушерство и гинекология .....	81– 83, 85, 93, 94, 97, 175, 197, 217
76.29.49	Онкология .....	6, 11, 12, 13, 26, 37, 59, 121, 123–128, 130–133, 148
76.29.50	Инфекционные болезни .....	52, 67, 74, 86, 175, 219
76.29.51	Неврология .....	3, 7, 29, 30, 32–35, 41, 136, 144
76.29.52	Психиатрия .....	81, 87–89
76.29.53	Туберкулез .....	56, 91, 157–159, 161–166, 169, 170, 172, 173, 202
76.29.55	Стоматология и челюстно-лицевая хирургия .....	180, 181, 192, 194, 195
76.29.57	Дерматология и венерология .....	176
76.29.60	Курортология и физиотерапия .....	127, 222

**Указатель тематических рубрик**

76.29.62	Рентгенология и медицинская радиология.....	86, 127
76.33.31	Гигиена детей и подростков .....	101, 107
76.33.33	Коммунальная гигиена и гигиена окружающей среды .....	106, 108, 114, 115
76.33.35	Гигиена питания .....	104
76.33.37	Гигиена труда и профессиональная патология .....	102, 109–112
76.33.39	Радиационная гигиена .....	117, 121
76.33.43	Эпидемиология.....	8, 124, 169, 172, 223
76.35.33	Лабораторное дело .....	64, 69, 70, 75, 139, 179, 213
76.35.35	Реабилитация .....	3–7
76.35.45	Клиническая токсикология .....	105, 113
76.75.75	Экономика, организация и управление здравоохранением .....	8, 9, 44, 101, 217

## Index of Subject Headings

05.11.61	Population and Health Care .....	154
34.03.23	Mathematical Biology and Theoretical Modeling of Biological Processes. Bioinformatics .....	41.
34.03.35	Transplantation of Fabrics and Bodies .....	12
34.15.23	Molecular Genetics .....	15, 21, 213
34.15.27	Genetic Engineering .....	137
34.15.29	Molecular Evolution .....	72
34.15.51	Molecular Oncology .....	126
34.23.41	Ecological Genetics .....	102
34.25.39	Environmental Issues and Epidemiology of Viruses .....	60, 63, 72
34.41.02	General Regularities of a Morphogenesis, Embryogenesis and Ontogenesis of the Person and Animals .....	188, 189, 191, 196, 203, 204
34.41.35	Normal Human Anatomy and Animals .....	201
34.47.51	Ecological Toxicology .....	108
34.57.21	Materials for Biomedical Application .....	211
50.41.25	Applied Software .....	9
62.33.31	Cultivation of Cages and Tissues of the Person and Animals .....	56–59, 146, 149
65.09.03	Structure, Properties and Methods of Research of Raw Materials and Products .....	104
65.09.05	Nutrition Value and Quality Control of Raw Materials and Products .....	104
65.63.35	Production of Milk Canned Food and Dairy Products for Baby Food .....	104
70.27.11	Water Analysis .....	103
70.27.15	Quality of Drinking Water .....	103, 106
70.27.19	Quality of Underground Waters .....	106
76.01.11	Current State and Development Prospects .....	178
76.01.73	Medical Statistics .....	125
76.01.85	Automation and the Automated Systems .....	152
76.01.94	Environmental Protection .....	113
76.03.29	Medical Biophysics .....	152.
73.03.31	Medical Biochemistry.....	137, 216, 218
76.03.39	Medical Genetics .....	93, 94, 96–99, 119
76.03.41	Medical Virology.....	29, 50, 55, 63–66, 70, 72, 73, 75, 76
76.03.43	Medical Microbiology .....	29, 49, 50, 54, 62, 69, 73, 76, 78
76.03.45	Medical Parasitology .....	60, 77
76.03.55	Pathological Anatomy .....	13, 137
76.09.31	Surgical Materials .....	211
76.09.41	Polymeric Materials of Medical Appointment and Product from Them .....	211
76.13.23	Medical Complexes, Systems and Devices for Analytical Researches .....	30
76.13.25	Medical Complexes, Systems, and Devices of the Combined Medical and Diagnostic Appointment .....	55, 65, 66
76.29.29	Internal Diseases .....	177, 187
76.29.30	Cardiology and Angiology .....	46, 47, 193, 218
76.29.31	Rheumatology .....	4, 5, 50
76.29.33	Hematology and Transfusiology .....	12, 13, 26, 135, 141, 143, 148
76.29.34	Gastroenterology and Hepatology .....	183, 185, 198, 219, 222
76.29.35	Pulmonology .....	160, 207
76.29.36	Nephrology .....	63
76.29.39	Surgery .....	38, 39, 46, 47, 182, 207, 222
76.29.41	Orthopedy and Traumatology. ....	151, 155
76.29.42	Neurosurgery .....	37, 38, 39, 41
76.29.43	Urology .....	131–133, 188
76.29.46	Medical Transplantology and Implantation .....	136, 139, 144, 193, 211
76.29.47	Pediatrics.....	11, 85–89, 91, 92, 210
76.29.48	Obstetrics and Gynecology .....	81– 83, 85, 93, 94, 97, 175, 197, 217
76.29.49	Oncology.....	6, 11, 12, 13, 26, 37, 59, 121, 123–128, 130–133, 148
76.29.50	Infectious Diseases .....	52, 67, 74, 86, 175, 219
76.29.51	Neurology .....	3, 7, 29, 30, 32–35, 41, 136, 144
76.29.52	Psychiatry .....	81, 87–89
76.29.53	Tuberculosis .....	56, 91, 157–159, 161–166, 169, 170, 172, 173, 202
76.29.55	Stomatology and Maxillofacial Surgery .....	180, 181, 192, 194, 195
76.29.57	Dermatology and Venereology.....	176
76.29.60	Balneology and Physical Therapy .....	127, 222
76.29.62	Radiology and Medical Radiology .....	86, 127

**Index of Subject Headings**

76.33.31	Hygiene of Children and Teenagers .....	101, 107
76.33.33	MunicipalHygieneandHygieneofEnvironment.....	106,108,114,115
76.33.35	HygieneofaFood.....	104
76.33.37	Factory Hygiene and Professional Pathology .....	102, 109–112
76.33.39	Radiation Hygiene .....	117, 121
76.33.43	Epidemiology .....	8, 124, 169, 172, 223
76.35.33	laboratoryWork.....	64,69,70,75,139,179,213
76.35.35	Rehabilitation .....	3–7
76.35.45	Clinical Toxicology .....	105, 113
76.75.75	Economy, the Organisation and Management of Public Health Services .....	8,9,44,101,217

## Указатель научных руководителей

- А**  
 Алейникова О.В. ....11, 12, 14, 21, 26, 139, 143  
 Амвросьева Т.В. ....63, 72  
 Антоненкова Н.Н. ....125
- Б**  
 Барановская Е.И. ....197  
 Барсуков А.Н. ....81–83  
 Белецкий А.В. ....154, 155  
 Беляева Л.М. ....210  
 Босяков С.М. ....152  
 Будников Д.А. ....106
- В**  
 Вильчук К.У. ....86, 89, 91, 97  
 Владимирская Т.Э. ....179  
 Владыко А.С. ....65, 66  
 Власов А.П. ....137  
 Власова Н.Г. ....117  
 Власова-Розанская Е.В. ....4, 5  
 Войтенко Н.Н. ....139  
 Волкова М.В. ....208  
 Воробей А.В. ....182, 183
- Г**  
 Глинская Т.Н. ....6  
 Гнедько Т.В. ....85, 86  
 Гудков В.Г. ....70, 75  
 Гуревич Г.Л. ....159, 163, 165, 169, 170, 172, 173, 202  
 Гусина Н.Б. ....93
- Д**  
 Девялтовская М.Г. ....87, 88, 92  
 Докукина Т.В. ....52, 68  
 Дорошенко Е.М. ....218  
 Дроздова Е.В. ....113  
 Дубровщик О.И. ....222  
 Дудчик Н.В. ....113
- Ж**  
 Жавнерко Г.К. ....74  
 Жаврид Э.Л. ....127, 130  
 Жуковец А.Г. ....127, 128
- З**  
 Зайцев В.А. ....113
- И**  
 Ильюкова И.И. ....105, 108
- К**  
 Капитулец С.П. ....52, 68, 69  
 Квачева З.Б. ....57, 58  
 Копыток А.В. ....8, 9  
 Костюк С.А. ....175  
 Костюнина В.С. ....146
- Кравчук З.И. ....135  
 Красный С.А. ....123  
 Красько А.Г. ....55, 60, 66, 76  
 Кремко Л.М. ....103  
 Крутилина Н.И. ....127  
 Курбат М.Н. ....216  
 Кускова С.П. ....7
- Л**  
 Лаптева И.М. ....160, 166  
 Лелевич В.В. ....223  
 Лихачев С.А. ....29, 30, 32–35  
 Луцкая И.К. ....180  
 Лызыков А.А. ....211, 213
- М**  
 Малахова И.В. ....44  
 Мараховский К.Ю. ....87  
 Маринич Д.В. ....148  
 Машевский А.А. ....124  
 Мелешко А.Н. ....15  
 Митьковская Н.П. ....187, 193
- Н**  
 Науменко Т.Е. ....115  
 Наумчик И.В. ....93, 94, 96, 98, 99  
 Новак Н.В. ....181
- П**  
 Панкратов О.В. ....176  
 Петухов В.И. ....207  
 Пивченко П.Г. ....188, 189, 191, 196, 201, 203, 204  
 Полещук Н.Н. ....50, 74  
 Потапнев М.П. ....136, 144, 149  
 Походенько-Чудакова И.О. ....192, 194, 195  
 Пронина Т.Н. ....101, 107
- Р**  
 Рожко А.В. ....121  
 Рудой А.С. ....185, 198  
 Рустамова Л.М. ....73  
 Рыбина Т.М. ....109, 111
- С**  
 Самойлова Т.И. ....64  
 Свирновский А.И. ....141, 143  
 Сиваков А.П. ....110  
 Силивончик Н.Н. ....177  
 Силин А.Е. ....119  
 Скрипова Л.П. ....77  
 Скрягина Е.М. ....56, 157, 158  
 Сменянович А.Ф. ....37, 38, 40  
 Смычек В.Б. ....3  
 Снежицкий В.А. ....218  
 Соколовский О.А. ....151  
 Сорока Н.Ф. ....50
- Суджаева О.А. ....46, 47  
 Суконко О.Г. ....131–133  
 Суркова Л.К. ....161, 162
- Т**  
 Титов Л.П. ....49, 54, 56, 59, 62, 78  
 Титовец Э.П. ....41, 135  
 Тищенко Е.М. ....217
- У**  
 Улезко Е.А. ....85, 86  
 Усс А.Л. ....143
- Ф**  
 Федорович С.В. ....102
- Х**  
 Хулуп Г.Я. ....149
- Ц**  
 Цыркунов В.М. ....219
- Ш**  
 Шаповал Е.В. ....59  
 Швед И.А. ....179, 183, 188  
 Шпилевский И.Э. ....152  
 Шуляковская О.В. ....104, 105
- Щ**  
 Щавелева М.В. ....178

## Index of research supervisors

### A

Aleinikova O.V. ....11, 12, 14, 21,  
26, 139, 143

Antonenkova N.N. ....125

Amvrosieva T.V. ....63, 72

### B

Baranovskaya E.I. ....197

Barsukov A.N. ....81–83

Beletsky A.V. ....154, 155

Belyaeva L.M. ....210

Bosyakov S.M. ....152

Budnikov D.A. ....106

### D

Devyaltovskaya M.G. ....87, 88, 92

Dokukina T.V. ....52, 68

Doroshenko E.M. ....218

Drozdova E.V. ....113

Dubrovshchik O.I. ....222

Dudchik N.B. ....113

### F

Fedorovich S.V. ....102

### G

Glinskaya T.N. ....6

Gnedko T.V. ....85, 86

Gudkov V.G. ....70, 75

Gurevich G.L. ....159, 163, 165, 169,  
170, 172, 173, 202,

Gusina N.B. ....93

### I

Iluykova I.I. ....105, 108

### K

Kapitulets S.P. ....52, 68, 69

Khulup G.Y. ....149

Kopytok A.V. ....8, 9

Kostiuk S.A. ....175

Kostyunina V.S. ....146

Krasko A.G. ....55, 60, 66, 76

Krasny S.A. ....123

Kravchuk Z.I. ....135

Kremko L.M. ....103

Krutilina N.N. ....127

Kurbat M.N. ....216

Kuskova S.P. ....7

Kvacheva Z.B. ....57, 58

### L

Lapteva I.M. ....160, 166

Lelevich V.V. ....223

Likhachev S.A. ....29, 30, 32–35

Lutskaya I.K. ....180

Lyzikov A.H. ....211, 213

### M

Malakhova I.V. ....44

Marahovsky K.Yu. ....87

Marinich D.V. ....148

Mashevsky A.A. ....124

Meleshko A.N. ....15

Mitkovskaya N.P. ....187, 193

### N

Naumchik I.V. ....93, 94, 96, 98, 99

Naumenko T.E. ....115

Novak N.V. ....181

### P

Pankratov O.V. ....176

Petuhov V.I. ....207

Pivchenko P.G. ....188, 189,  
191, 196, 201, 203, 204

Pohodenko-Chudakova I.O.  
.....192, 194, 195

Potapnev M.P. ....136, 144, 149

Poleschuk N.N. ....50, 74

Pronina T.N. ....101, 107

### R

Rozhko A.V. ....121

Rudoy A.S. ....185, 198

Rustamova L.M. ....73

Rybina T.M. ....109, 111

### S

Samoilova T.I. ....64

Schaveleva M.V. ....178

Shapoval E.V. ....59

Shpilevsky I.E. ....152

Shulyakovskaya O.V. ....104, 105

Shved I.A. ....179, 183, 188

Silin A.E. ....119

Silivonchik N.N. ....176, 177

Sivakov A.P. ....110

Skripova L.V. ....77

Skryagina A.M. ....56, 157, 158

Smeyanovich A.F. ....37, 38, 40

Smychek V.B. ....3

Snezhitsky V.A. ....218

Sokolovskiy O.A. ....151

Soroka N.F. ....50

Surkova L.K. ....161, 162

Sudzhaeva O.A. ....46, 47

Sukonko O.G. ....131–133

Surkova L.K. ....161, 162

Svirnovsky A.I. ....141, 143

### T

Titov L.P. ....49, 54, 56, 59, 62, 78

Tischenko E.M. ....217

Titovets E.P. ....41, 135

Tsyrkunov V.M. ....219

### U

Ulezko E.A. ....85, 86

Uss A.L. ....143

### V

Vilchuk K.U. ....86, 89, 91, 97

Vladimirskaya T.E. ....179

Vladyko A.S. ....65, 66

Vlasov A.P. ....137

Vlasova N.G. ....117

Vlasova-Rozanskaya E.V. ....4, 5

Voitenok N.N. ....139

Volkova M.V. ....208

Vorobey A.V. ....182, 183

### Z

Zaitsev V.A. ....113

Zhavnerko G.K. ....74

Zhavrid E.A. ....127, 130

Zhukovets A.G. ....127, 128

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ И РЕАБИЛИТАЦИИ .....</b>	<b>3</b>
Технология медицинской реабилитации пациентов с неврологическими проявлениями поясничного остеохондроза <i>В.Б. Смычек, И.Я. Чапко, А.Н. Филиппович, Н.В. Стахейко, Т.В. Черевко, О.Н. Фрид .....</i>	<b>3</b>
Программы медицинской реабилитации пациентов с заболеваниями ревматологического профиля <i>В.Б. Смычек, Т.М. Лецинская, Е.В. Власова-Розанская, Н.Л. Львова .....</i>	<b>4</b>
Комплексная система реабилитации пациентов с ревматическими заболеваниями <i>В.Б. Смычек, Т.М. Лецинская, Е.В. Власова-Розанская, Н.Л. Львова .....</i>	<b>5</b>
Программы медицинской реабилитации пациентов после оперативного лечения рака желудка <i>Э.Э. Вальчук, Т.Н. Глинская, С.В. Судиловская, Е.А. Сироткина, А.Ф. Мартыневский .....</i>	<b>6</b>
Новые подходы к медицинской реабилитации пациентов пожилого возраста <i>Т.М. Лецинская, С.П. Кускова, Е.В. Власова-Розанская, Н.Л. Львова .....</i>	<b>7</b>
Информационно-аналитическая система изучения и оценки заболеваемости с временной утратой трудоспособности в Республике Беларусь <i>А.В. Копыток, Т.Н. Глинская, Д.С. Казакевич, Н.А. Якушина, О.Ф. Щербина, А.С. Изюитко .....</i>	<b>8</b>
Система учета, анализа, прогноза инвалидизации лиц молодого возраста в Республике Беларусь <i>А.В. Копыток, Н.А. Якушина, С.И. Луцинская .....</i>	<b>9</b>
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ДЕТСКОЙ ОНКОЛОГИИ, ГЕМАТОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ .....</b>	<b>11</b>
Фармакокинетика колистина, ванкомицина и амикацина при сепсисе и септическом шоке, осложнившим лечение детей со злокачественными новообразованиями <i>В.И. Захаревич, В.В. Дмитриев .....</i>	<b>11</b>
Некоторые осложнения противоопухолевого лечения медуллобластомы и острых лейкозов, проведенного в детском возрасте <i>О.В. Карась, Н.Е. Конопля, О.В. Алейникова .....</i>	<b>12</b>
Влияние ИЛ-2, ИЛ-15 и их комбинации с ИЛ-21 на экспансию и активацию селектированных ЕК клеток <i>in vitro</i> <i>Е.П. Вашкевич, Т.В. Шман .....</i>	<b>13</b>
Аберрации гена IKZF1 при остром лимфобластном лейкозе у детей <i>А.Н. Мелешко, И.В. Прохореня, С.Н. Доронина .....</i>	<b>15</b>
Изучение спектра альтернативных форм сплайсинга пре-мРНК гибридного онкогена AML1/ETO в лейкозных клетках пациентов с ОМЛ, содержащих транслокацию t(8;21)(q22;q22), на протяжении курса терапии <i>А.А. Мигас, О.А. Мишкова, О.В. Алейникова, В.В. Гринев, Т.В. Романовская .....</i>	<b>21</b>
Взаимосвязь количества стволовых клеток, выявляемых по фенотипу CD34+CD38- или CD34+CD38-CD19+, и ответа пациентов на индукционную терапию при В-клеточных острых лейкозах у детей <i>Т.В. Шман, Л.В. Мовчан, А.В. Тарасова, О.В. Алейникова .....</i>	<b>26</b>
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИ ...</b>	<b>29</b>
Метод комплексной терапии рассеянного склероза, ассоциированного с герпетическими вирусами <i>С.А. Дракина, М.А. Хмара, С.М. Ровбуць, С.А. Лихачев .....</i>	<b>29</b>
Оценка эффективности медикаментозной коррекции мышечной ригидности при болезни Паркинсона <i>С.А. Лихачев, В.В. Вацилин, Л.А. Василевская .....</i>	<b>30</b>
Определение показаний для введения ботулотоксина типа А при оромандибулярной дистонии <i>С.А. Лихачев, Т.Н. Чернуха, С.А. Навоша .....</i>	<b>32</b>
Способ определения ориентиров для введения средства ботулотоксина типа А при писчем спазме <i>Т.Н. Чернуха, С.А. Лихачев, Н.И. Черненко, Ю.Н. Рушкевич .....</i>	<b>33</b>
Метод ранней диагностики дисфункции нижнего моторного нейрона на шейном уровне спинного мозга <i>С.А. Лихачев, Ю.Н. Рушкевич, Н.М. Тарасевич .....</i>	<b>34</b>
Метод дифференциальной диагностики болезни моторного нейрона на шейном уровне спинного мозга и цервикальной миелопатии <i>С.А. Лихачев, Ю.Н. Рушкевич, Н.М. Тарасевич .....</i>	<b>35</b>

Клинико-морфологические механизмы роста нейроэпителиальных опухолей, контаминированных вирусом простого герпеса <i>Т.В. Жукова, А.Ф. Смянович, А.Л. Танин, Л.П. Пархач, С.Д. Безубик, А.А. Ширинский, А.И. Ахремчук</i> .....	37
Комплексное лечение высокопоточковых артериовенозных мальформаций головного мозга <i>А.Ф. Смянович, С.В. Капацевич, Л.П. Пархач, Е.В. Кисурич, Г.В. Тельцов</i> .....	38
Эндоваскулярные технологии в лечении артериальных аневризм основной артерии у пациентов с высоким риском прямого микрохирургического вмешательства <i>А.Ф. Смянович, С.В. Капацевич, Е.В. Кисурич</i> .....	39
Определение параметров волн внутричерепного давления в диагностике отека и гипоксии головного мозга <i>Э.П. Титовец, Л.П. Пархач, Т.С. Степанова, Е.Ю. Черныш</i> .....	41
Метод диагностики уровня поражения спинного мозга, сопровождающегося нарушением функции мочеиспускания <i>С.А. Лихачев, А.В. Астапенко, Г.В. Забродец</i> .....	41
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ, ИНФОРМАТИЗАЦИИ, УПРАВЛЕНИЯ И ЭКОНОМИКИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ</b> .....	<b>44</b>
Штатное нормирование организаций здравоохранения <i>И.В. Малахова, И.И. Новик, А.И. Русенчик, Н.М. Трофимов, Т.В. Ясюля, В.М. Хавератович</i> .....	44
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «КАРДИОЛОГИЯ»</b> .....	<b>46</b>
Обоснование выбора метода физических тренировок у пациентов с острым инфарктом миокарда после проведения чрескожных коронарных вмешательств <i>О.А. Суджаева, С.Г. Суджаева, Т.С. Губич, Н.А. Казаева</i> .....	46
Влияние дифференцированной программы физической реабилитации пациентов с инфарктом миокарда после чрескожного коронарного вмешательства на структурные и функциональные показатели левого желудочка <i>Н.А. Казаева, С.Г. Суджаева, Т.С. Губич, О.А. Суджаева</i> .....	47
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ</b> .....	<b>49</b>
Активность фермента аденозиндезаминаза у пациентов с инфекционными заболеваниями <i>О.О. Янович, Л.П. Титов</i> .....	49
Детекция возбудителей и выделение штамма <i>Ch. trachomatis</i> из воспалительного экссудата коленного сустава при ревматоидном артрите, ассоциированном с хламидийной инфекцией <i>Н.Н. Полещук, Л.В. Рубаник, Д.А. Дейкун, А.Н. Асташонок, О.Р. Князева, Н.Ф. Сорока, Т.М. Талако</i> .....	50
Выявление и оценка функциональной роли «горячих точек» агрегации в полипептидах, ассоциированных с развитием церебральных амилоидозов у человека и животных <i>С.П. Капитулец, О.И. Ничипорук, Н.Н. Капитулец, Л.М. Кравченко</i> .....	52
Использование мультиплексной полимеразной цепной реакции для определения наиболее значимых возбудителей острых кишечных инфекций бактериальной этиологии <i>Е.С. Носова, Л.П. Титов</i> .....	54
Критерии клинико-лабораторной диагностики клещевых микст-инфекций. Разработка тест-системы для дифференциации клещевых инфекций методом ПЦР <i>С.А. Дракина, Л.В. Корбут, Е.П. Счесленок, П.А. Семижон, А.Г. Краско, В.А. Девятникова, Л.А. Анисько, В.В. Щерба, Т.А. Розачева</i> .....	55
Метод иммунотерапии пациентов, страдающих туберкулезом легких со множественной устойчивостью, с использованием аутологичных дендритных клеток <i>Л.П. Титов, А.Е. Гончаров, Н.С. Шпаковская, Е.М. Скрягина, А.Е. Скрягин, В.В. Солодовникова, И.В. Романова</i> .....	56
Метод накопления биомассы стволовых и прогениторных клеток обонятельного эпителия человека в условиях культуры <i>Н.Г. Антонец, З.Б. Квачева, А.Е. Гончаров, В.Л. Чекан, И.В. Сидоренко, Л.Г. Петрова</i> .....	57
Метод определения потенциального риска злокачественной трансформации стволовых и прогениторных клеток человека на основе применения B1s I и Gl4 I ПЦР-анализа <i>Н.Г. Антонец, З.Б. Квачева, А.Е. Гончаров, В.Л. Чекан, И.В. Сидоренко, Л.Г. Петрова</i> .....	58

Метод противорецидивной иммунотерапии пациентов, страдающих первичным агрессивным раком молочной железы с использованием аутологичных моноцитарных дендритных клеток <i>А.Е. Гончаров, Л.П. Тутов, С.В. Кошелев, Е.В. Шаповал, И.В. Романова</i> .....	59
Пастбищные клещи ( <i>Ixodidae</i> ) Пинского Полесья и их зараженность возбудителями инфекций, патогенными для человека и животных <i>Н.П. Мишаева, Л.С. Цвирко, Т.И. Самойлова, И.А. Азарова, В.А. Девятникова, Т.А. Сенковец</i> .....	60
ПЦР-определение серогрупп <i>Neisseria meningitidis</i> , выделенных в Беларуси в 2011–2013 гг. <i>Ф.А. Лебедев, Л.П. Тутов</i> .....	62
Разработка алгоритма вирусологического обследования доноров и реципиентов при трансплантации почки <i>Т.В. Амвросьева, З.Ф. Бозуш, Н.В. Поклонская</i> .....	63
Разработка высокоэффективной иммуноферментной тест-системы для выявления антигена вируса Западного Нила в переносчиках и клиническом материале в Республике Беларусь <i>Т.И. Самойлова, О.С. Залевская, К.Л. Дедюля, О.В. Климович, А.С. Петкевич</i> .....	64
Разработка диагностической тест-системы для выявления рнк-генама вируса лимфоцитарного хориоменингита методом ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени <i>Е.Г. Фомина, Е.П. Счесленок, Т.В. Школина, А.С. Владыко</i> .....	65
Разработка комплексных диагностических лекарственных средств для опасной природно-очаговой группы вирусных инфекций <i>П.А. Семижон, Е.П. Счесленок, Т.В. Школина, Е.Г. Фомина, Л.М. Рустамова, О.Р. Князева, А.Г. Красько, А.С. Владыко</i> .....	66
Разработка способа лабораторной диагностики «инфекционных амилоидозов» (прионные инфекции) методом атомно-силовой микроскопии <i>С.П. Капитулец, Г.К. Жавнерко, О.И. Ничипорук, И.В. Парибок, Н.Н. Капитулец, М.В. Махров, Т.В. Докукина</i> ..	67
Роль наружных мембранных белков <i>Leptospira interrogans</i> в патогенезе лептоспироза <i>С.П. Капитулец, О.И. Ничипорук, Н.Н. Капитулец, И.А. Азарова, Ф.М. Фидаров</i> .....	69
РОТА-АДЕНО-АГ-ИХМ-Конф — тест-система для одновременной экспресс-диагностики ротавирусной и аденовирусной инфекций <i>В.Г. Гудков, А.С. Виринская, Е.И. Бореко, С.В. Орлова</i> .....	70
Создание комплексного набора для экспресс-детекции вирусных агентов в питьевой воде <i>Т.В. Амвросьева, Н.В. Поклонская, К.Л. Дедюля, О.Н. Казинец</i> .....	72
Специализированная коллекция вирусобиотических бактерий, патогенных для человека — объект национального достояния Республики Беларусь <i>Л.М. Рустамова, А.Г. Красько, Т.С. Ермакова, С.Ф. Семенов, Н.Л. Богданова, Т.А. Аблова, В.А. Горбунов</i> .....	73
Способ детекции <i>Chlamydia trachomatis</i> на твердофазном аналитическом носителе с использованием флуоресцентных иммуномагнитных микросфер <i>Л.В. Рубаник, А.Н. Асташинок, Г.К. Жавнерко, А.А. Квасюк, Н.Н. Полещук</i> .....	74
Тест-система для определения антител классов А, G, М к ротавирусам методом иммуноферментного анализа <i>В.Г. Гудков, А.С. Виринская</i> .....	75
Технология культивирования особо опасных вирусов для сохранения коллекции <i>А.Г. Красько, Л.М. Рустамова, С.Ф. Семенов, Н.Л. Богданова</i> .....	76
Технология седиментационного выделения яиц гельминтов и цист простейших из клинического материала <i>Л.В. Скрипова</i> .....	77
Экспрессия генов иммунной системы мононуклеарами периферической крови под воздействием лизатов <i>Candida albicans</i> <i>М.В. Левченя, Л.П. Тутов</i> .....	78
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «МАТЬ И ДИТЯ»</b> .....	<b>81</b>
Новые технологии психотерапевтической и медикаментозной коррекции патологии прелиминарного периода <i>А.Н. Барсуков, И.В. Курлович, М.В. Белуга, Р.Н. Демидова, В.В. Римашевский</i> .....	81
Особенности течения беременности и родов у женщин с отслойкой хориона в I триместре беременности <i>А.Н. Барсуков, В.Л. Семенчук, Т.П. Вацелина</i> .....	82
Анализ исходов беременности и родов у женщин с нарушениями углеводного обмена <i>Л.А. Секержицкая, Р.Л. Коршикова, В.В. Римашевский, Р.Н. Демидова</i> .....	83
Программа профилактики тяжелых поражений ЦНС у новорожденных с очень низкой массой тела при рождении <i>Т.В. Гнедько, А.Н. Витушко</i> .....	85

Оценка кишечного кровотока у недоношенных новорожденных с риском развития некротического энтероколита <i>Т.В. Гнедько, Е.А. Улезко</i> .....	86
Светотерапия в лечении инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных <i>К.У. Вильчук, Т.В. Гнедько, И.И. Паюк</i> .....	86
Метод эндоскопии с оптическим увеличением в диагностике кишечной метаплазии слизистой оболочки желудка у детей <i>Е.В. Ласицкая, К.У. Вильчук, К.Ю. Мараховский, М.Г. Девялтовская</i> .....	87
Состояние клеточного иммунитета у детей с задержкой внутриутробного роста на первом году жизни <i>О.В. Севрук, М.Г. Девялтовская, Л.А. Тимошина</i> .....	88
Дополнительные критерии диагностики энцефалопатии новорожденных <i>А.А. Криштафович, М.Г. Девялтовская</i> .....	89
Прогрессирование латентной туберкулезной инфекции у детей <i>Л.А. Горбач</i> .....	91
Динамика агрегационной функции тромбоцитов на фоне коррекции потенциально возможных факторов риска тромботических осложнений у девочек-подростков с соматоформной дисфункцией вегетативной нервной системы <i>К.У. Вильчук, Е.Т. Зубовская, И.В. Митрошенко, М.К. Гуцинская, М.Г. Девялтовская</i> .....	92
Диагностические тест-системы для пренатального скрининга беременных I триместра на аномалии развития плода <i>Н.Б. Гусина, А.В. Зиновик, А.А. Еришова-Павлова, И.В. Наумчик, И.И. Вашкевич, О.В. Свиридов</i> .....	93
Спектр системных скелетных дисплазий, сопоставление пренатального и патоморфологического диагнозов у плодов, абортированных по генетическим показаниям в I и II триместрах беременности <i>А.А. Лазаревич, И.В. Новикова, И.В. Наумчик</i> .....	94
Возможности диагностики редких наследственных болезней обмена в Беларуси <i>Н.Б. Гусина, Т.И. Демидович, А.В. Зиновик, С.О. Мясников, О.Л. Зобикова, Р.Д. Хмель, А.А. Еришова-Павлова, И.В. Наумчик</i> .....	96
Пороки центральной нервной системы у плодов, абортированных в I триместре беременности <i>И.В. Новикова, А.А. Лазаревич, Н.А. Венчикова</i> .....	97
Исследование экспансии САG повторов в гене ATXN1 (6p23) в диагностике спиноцереbellлярной атаксии 1-го типа в Беларуси <i>О.К. Кислова, Е.А. Сулимчик</i> .....	98
Молекулярно-цитогенетическая (FISH) диагностика синдромов моносомии 1p36 и Миллера–Дикера — геномных заболеваний с преимущественным поражением центральной нервной системы <i>О.М. Хурс, Л.В. Исакович, А.Д. Политыко, Н.В. Румянцева, О.Л. Зобикова, В.Д. Кулак, Р.Д. Хмель, И.В. Наумчик</i> .....	99
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ</b> .....	<b>101</b>
Обоснование гигиенических требований к организации образовательного процесса в учреждениях профессионально-технического и среднего специального образования <i>А.М. Давыдок, А.А. Малахова</i> .....	101
Полиморфизм генов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков <i>С.В. Федорович, А.Г. Маркова, О.Г. Давыденко, Н.Г. Даниленко, О.Д. Левданский, О.А. Цыганкова</i> .....	102
Определение акриламида в питьевой воде методом газожидкостной хроматографии <i>Л.М. Кремко, О.В. Саракач, А.И. Докитович</i> .....	103
Определение остаточных количеств левомицетина (хлорамфеникола) в сырье животного происхождения и пищевых продуктах методом ВЭЖХ-МС/МС <i>О.В. Шуляковская, Е.И. Полянских, Е.П. Шутилова, Л.Л. Бельшева</i> .....	104
Определение сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, мальтоза, мальтодекстрин) в специализированных продуктах питания, биологически активных и пищевых добавках <i>О.В. Шуляковская, Л.Л. Бельшева, Е.И. Полянских</i> .....	104
Разработка тест-модели и критериев оценки токсичности наноматериалов в тестах <i>in vitro</i> <i>И.И. Ильюкова, Л.А. Наджарян, Е.К. Власенко, А.М. Войтович, И.И. Конева, М.В. Анисович, Т.Н. Гомолко, Н.В. Дудчик</i> .....	105
Гигиенический мониторинг нитратов в воде, предназначенной для потребления населением <i>Д.А. Будников, Е.В. Дроздова, В.В. Бурая</i> .....	106

Обоснование гигиенических требований к организации образовательного процесса с использованием индивидуальных электронных устройств в учреждениях образования <i>Т.Н. Пронина, С.И. Сычик, И.В. Жуковская, А.А. Малахова</i> .....	107
Разработка и научное обоснование современных критериев токсикологической оценки и классификации смесевых химических композиций в зависимости от пороговых уровней высокотоксичных химических веществ, входящих в их состав <i>Г.В. Лисовская, И.И. Ильюкова, С.Ю. Петрова, Т.В. Деменкова, В.А. Стельмах</i> .....	108
Научное обоснование гигиенических требований к условиям труда медицинских работников, занятых в кабинетах магнитно-резонансной томографии <i>Т.М. Рыбина, Э.К. Казей, Л.Н. Денчук</i> .....	109
Медицинская профилактика производственно обусловленного хронического бронхита <i>С.И. Сычик, А.П. Сиваков, Т.М. Рыбина, С.А. Ляликов, Н.И. Саевич, Т.И. Грекова</i> .....	110
Профилактика профессиональных и производственно обусловленных заболеваний органов дыхания <i>Т.М. Рыбина, С.И. Сычик, Е.В. Амельченко, Н.В. Дудчик, Т.К. Данилова, О.В. Цуканова</i> .....	111
Нарушения эндоэлементного статуса человека в условиях воздействия химических факторов производственной среды <i>В.А. Зайцев, Л.С. Ивашкевич, Т.М. Рыбина, З.Т. Бутько, А.А. Плешкова</i> .....	112
Оценка интегральной токсичности объектов окружающей среды методами биотестирования <i>Н.В. Дудчик, Е.В. Дроздова</i> .....	113
К совершенствованию оценки риска загрязняющих веществ для здоровья населения <i>Т.Д. Гриценко, С.М. Соколов, Л.М. Шевчук, Т.Е. Науменко, С.Т. Андрианова, А.Е. Пшегрода, А.Н. Ганькин</i> .....	114
Расчетно-программный комплекс по оценке риска воздействия на здоровье населения качества атмосферного воздуха <i>С.М. Соколов, Т.Д. Гриценко, А.Е. Пшегрода, Л.М. Шевчук, Т.Е. Науменко, А.Н. Ганькин, С.Т. Андрианова</i> .....	115
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ И ЭКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА</b> .....	<b>117</b>
Методический подход к реконструкции индивидуализированных доз внутреннего облучения населения, проживающего на радиоактивно загрязненной территории <i>Н.Г. Власова, Е.А. Дрозд, А.Н. Матарас, Л.Н. Эвентова, Ю.В. Висенберг, Г.Н. Евтушкова</i> .....	117
Анализ распространенности генных мутаций FLT3, NPM1, СЕВРА и р53 в группе пациентов с острым нелимфобластным лейкозом <i>А.Е. Силин, В.Н. Мартинков, Д.К. Новик, Ж.М. Козич, И.Б. Тропашко, В.К. Шпудейко, А.А. Силина, А.В. Воробаева, С.М. Мартыненко</i> .....	119
Первично-множественные злокачественные новообразования у наиболее пострадавших от последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС категорий населения <i>А.В. Рожко, Э.А. Надыров, А.А. Чешик</i> .....	121
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ ИМ. Н.Н. АЛЕКСАНДРОВА</b> .....	<b>123</b>
Эффективная диспансеризация излеченных пациентов онкоурологического профиля — важный резерв в исходе заболевания при развившемся метастазном раке <i>О.Г. Суконко, С.А. Красный, П.И. Моисеев, А.А. Машевский</i> .....	123
Алгоритмы диспансеризации онкологических пациентов, относящихся к группам высокого риска развития метастатических злокачественных новообразований, с целью своевременной диагностики вторых опухолей <i>А.А. Машевский, И.В. Веякин, Н.А. Артемова, Т.Ю. Аверкина, О.И. Зубец, Т.В. Черная</i> .....	124
Анализ эффективности оказания медицинской помощи пациентам с онкологической патологией на основе оценки их выживаемости и утраченного жизненного потенциала <i>Н.Н. Антоненкова, Г.В. Якимович, И.С. Прудывус, Л.М. Курьян, И.Д. Черных</i> .....	125
Лечение операбельных пациенток, страдающих раком молочной железы, с микрометастазами в костном мозге <i>С.П. Козловская, Н.Н. Антоненкова, Э.А. Жаверид, Р.М. Смолякова, Ю.В. Карпейчик, М.А. Бармотько</i> .....	126
Результаты применения магнитолазерной терапии и локальной гипоксии в рамках ранней медицинской реабилитации пациентов со злокачественными опухолями органов головы и шеи <i>Л.Б. Пархоменко, Н.И. Крутилина, А.Г. Жуковец, Р.М. Смолякова</i> .....	127

Применение фотодинамической (флуоресцентной) диагностики и терапии злокачественных опухолей слизистой оболочки полости рта и ротоглотки <i>А.Г. Жуковец, Л.С. Яськевич, О.И. Нейман, В.Н. Чалов, И.В. Белоцерковский, Т.В. Францкевич</i> .....	128
Метод термохимиотерапии рефрактерных и рецидивных лимфом Ходжкина <i>Н.В. Сачивко, Э.А. Жаврид, Ю.П. Истомин, Е.А. Александрова, П.В. Почешинский, А.Н. Мазуренко, Н.А. Петровская</i> .....	130
Метод лечения пациентов, страдающих мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря с неблагоприятным прогнозом, с использованием адъювантной химиотерапии после радикальной цистэктомии <i>О.Г. Суконко, А.Г. Жегалик, С.Л. Поляков, С.А. Красный, А.И. Ролевич, В.Ю. Василевич, А.А. Минич, А.С. Мавричев</i> .....	131
Метод лечения пациентов, страдающих раком мочевого пузыря без мышечной инвазии с неблагоприятным прогнозом с использованием повторной трансуретральной резекции <i>А.И. Ролевич, О.Г. Суконко, С.А. Красный, С.Л. Поляков</i> .....	132
Метод лечения локализованных периферических опухолей почки с использованием радиочастотной абляции <i>В.В. Акинфеев, В.С. Дударев, С.Л. Поляков, А.В. Карман, В.Ф. Орехов, А.С. Мавричев</i> .....	132
Метод комплексного лечения пациентов, страдающих раком мочевого пузыря без мышечной инвазии, с использованием комбинации фотодинамической диагностики, трансуретральной резекции и однократной ранней инстилляции доксорубина <i>А.И. Ролевич, О.Г. Суконко, С.А. Красный, С.Л. Поляков</i> .....	133
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ BIOTEХНОЛОГИЙ</b> .....	<b>135</b>
Особенности кислородного обмена эритроцитов и их редуцирующей активности в норме и при анемиях <i>Ж.В. Пешняк, З.И. Кравчук, Л.А. Смирнова, Н.В. Гончарова, О.Н. Бондарук, Ю.В. Устинович, Е.М. Тумар, М.С. Рудь, С.И. Алещик, Е.Ю. Черныш, Л.П. Пархач, Э.П. Титовец</i> .....	135
Показатели клеточного иммунитета у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом до и после терапии аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками <i>С.М. Космачева, С.И. Игнатенко, Н.В. Гончарова, Ю.Н. Рушкевич, С.А. Лихачев, Г.В. Заброец, М.П. Потаннев</i> .....	136
Конструирование, экспрессия и получение рекомбинантного МОГ1-125 человека для количественного определения МОГ-специфичных аутоантител <i>Г.В. Кожух, А.П. Власов, С.П. Марцев, М.М. Зафранская, А.В. Борисов, Е.Б. Рудаковская</i> .....	137
Растворимый рецептор фактора некроза опухолей первого типа в диагностике острой реакции «трансплантат против хозяина» у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток <i>Т.М. Дорошенко, С.Т. Акалович, В.А. Бакерова, Е.Н. Автономова, Т.В. Шман, Ю.Е. Марейко, А.С. Невмержицкая, Н.В. Минаковская, М.В. Белевцев, О.В. Алейникова, Н.Н. Войтенко</i> .....	139
Стромально обусловленная лекарственная резистентность клеток хронического лимфоцитарного лейкоза при сочетанном действии ингибиторов различных защитных систем клетки <i>А.И. Свирновский, В.В. Пасюков, Н.А. Дрейчук, И.Б. Тарас, Н.А. Федуро, О.В. Сергиевич</i> .....	141
Спонтанный и лекарственно-индуцированный апоптоз гемопоэтических стволовых клеток <i>А.И. Свирновский, О.В. Алейникова, А.Л. Усс, Т.В. Шман, Н.В. Гончарова, В.В. Пасюков, Н.А. Федуро, О.В. Сергиевич, Е.В. Дзюба, И.Б. Тарас, А.В. Бакун, Н.А. Дрейчук</i> .....	143
Экспрессия маркеров нервных клеток в мезенхимальных стволовых клетках костного мозга человека после нейrogenной индукции <i>in vitro</i> <i>И.Н. Северин, С.И. Игнатенко, Н.В. Гончарова, С.М. Космачева, Ю.Н. Рушкевич, Г.В. Заброец, С.А. Лихачев, М.П. Потаннев</i> .....	144
Модулирование фибриновым гелем экспрессии хондрогенных маркеров мезенхимными стромальными клетками костного мозга <i>В.С. Костюнина, Н.В. Петевка</i> .....	146
Роль Alu-повторов промоторной области гена множественной лекарственной устойчивости. Биоинформационный анализ <i>Д.В. Маринич, Н.В. Гончарова, Я.И. Бурьянов, Т.В. Шевчук, О.В. Дьяченко</i> .....	148
Получение, экспансия и дифференцировка гемопоэтических и стромальных стволовых клеток пуповинно-плацентарного комплекса <i>Н.В. Петевка, В.С. Костюнина, Е.В. Васина, О.Г. Фурман, Г.Я. Хулуп, М.П. Потаннев</i> .....	149

<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ .....</b>	<b>151</b>
Динамическая пластина для временного блокирования зон роста у детей при коррекции разницы в длине ног и угловых деформаций коленного сустава <i>О.А. Соколовский, С.Н. Сердюченко, Л.А. Пашкевич, А.Б. Деменцов, М.Т. Мохаммади .....</i>	<i>151</i>
Программа расчета остаточной прочности костей конечностей при секторальной резекции <i>И.Э. Шпилевский, С.М. Босяков, Ю.В. Лихачевский .....</i>	<i>152</i>
Мониторинг детского травматизма и стратегия его профилактики <i>А.В. Белецкий, Л.Н. Ломать, А.М. Мухля, Е.А. Ралько, А.В. Борисов .....</i>	<i>154</i>
Организационные аспекты эндопротезирования крупных суставов <i>А.В. Белецкий, А.М. Мухля, Л.Н. Ломать, Е.А. Ралько, А.В. Борисов .....</i>	<i>155</i>
<b>РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ПУЛЬМОНОЛОГИИ И ФТИЗИАТРИИ .....</b>	<b>157</b>
Аутологичная трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при туберкулезе легких с множественной и широкой лекарственной устойчивостью <i>А.Е. Скрягин, В.В. Солодовникова, Я.И. Исайкина, Г.Л. Гуревич, М.И. Дюсмикеева, З.И. Рогова, А.А. Широкин, Д.А. Ветушко, Д.Г. Печинский, Е.М. Скрягина .....</i>	<i>157</i>
Бактериологическая диагностика нетуберкулезных микобактерий в Республике Беларусь <i>О.М. Залуцкая, Е.М. Скрягина, Л.К. Суркова, М.И. Дюсмикеева .....</i>	<i>158</i>
Диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью на различных уровнях оказания медицинской помощи <i>Г.Л. Гуревич, Е.М. Скрягина, О.М. Залуцкая .....</i>	<i>159</i>
Метод лечения тяжелой астмы с необратимой бронхиальной обструкцией <i>И.М. Лантева, О.Н. Харевич, Н.А. Порахонько, Е.А. Лантева .....</i>	<i>160</i>
Молекулярная характеристика штаммов <i>M. tuberculosis</i> в г. Минске <i>О.М. Залуцкая, М. Вийкандер, Е.М. Скрягина, С. Хоффнер, Г.Л. Гуревич, Е.Р. Сагальчик, Л.К. Суркова .....</i>	<i>161</i>
Молекулярно-генетический метод в диагностике осложнений БЦЖ-вакцинации у детей <i>Е.М. Скрягина, О.М. Залуцкая, М.И. Дюсмикеева, Ж.И. Кривошеева, Н.С. Морозкина, Н.А. Емельянова, Л.К. Суркова .....</i>	<i>162</i>
Распознавание паттерна и клеточный иммунный ответ на новые антигены <i>M. tuberculosis</i> у лиц, проживающих в Беларуси <i>Е.М. Скрягина, Р. Ахмед, З.И. Рогова, В.В. Солодовникова, О.М. Залуцкая, А.Е. Скрягин, М. Маер .....</i>	<i>163</i>
Современные принципы диагностики и лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью <i>Е.М. Скрягина, Г.Л. Гуревич, О.М. Залуцкая, А.Е. Скрягин, М.И. Дюсмикеева, А.П. Астровко, В.В. Солодовникова .....</i>	<i>165</i>
Способ определения реабилитационного потенциала у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких <i>Л.В. Лицкевич .....</i>	<i>166</i>
Туберкулез на фоне хронической алкогольной интоксикации: структура летальности, причины смерти и морфологические особенности <i>Л.К. Суркова, М.И. Дюсмикеева, В.С. Артюшкевич, М.К. Недзведь, Е.М. Скрягина .....</i>	<i>169</i>
Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью в Республике Беларусь: ситуационный анализ <i>Е.М. Скрягина, О.М. Залуцкая, В.В. Солодовникова, Г.Л. Гуревич, А.П. Астровко, О.М. Калечиц, М.И. Дюсмикеева .....</i>	<i>170</i>
Эффективность лечения пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом <i>А.П. Астровко, Е.М. Скрягина, Г.Л. Гуревич, Е.Н. Титкова, А.В. Богомазова, А.Ф. Белько, Е.Л. Бобрукевич, Д.А. Климук .....</i>	<i>172</i>
Эффективность резекционных операций и экстраплевральной торакопластики с учетом спектра лекарственной устойчивости возбудителя и проводимой комплексной терапии <i>В.Я. Кралько, Г.Л. Гуревич, Е.М. Скрягина, Н.В. Яцкевич, Д.И. Горенок, М.М. Голайдо .....</i>	<i>173</i>

<b>БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ .....</b>	<b>175</b>
Диагностика и лечение инфекций урогенитального тракта, обусловленных <i>Mycoplasma genitalium</i> , с учетом молекулярно-биологических особенностей возбудителя <i>И.Г. Шиманская, С.А. Костюк, Т.В. Руденкова, Н.А. Бадьгина, О.С. Полуян, Т.А. Дейкун</i> .....	175
Способ местного лечения онихомикозов у пациентов с хроническими дерматозами <i>О.В. Панкратов, А.Л. Барабанов, Р.Ю. Шикалов, С.М. Тарасевич</i> .....	176
Факторы риска и частота неалкогольной жировой болезни печени <i>Н.Н. Силивончик, В.И. Голобородько, А.И. Ледник, И.В. Качар, Д.Ф. Одинец, И.А. Паторская, Л.М. Плотнокова, Е.А. Воронко, Л.С. Бозуш, О.А. Жигальцова</i> .....	177
Особенности здоровьесбережения лиц с высшим образованием <i>В.И. Иванова, М.В. Щавелева, А.П. Романова</i> .....	178
Морфологические изменения эндотелиоцитов в мазках-отпечатках аорты крыс в различные сроки экспериментальной дислипидемии <i>С.Г. Криворот, Т.Э. Владимирская, И.А. Швед</i> .....	179
Способ изготовления цветокорригирующего винира с воссозданием цвета пульпы <i>И.К. Луцкая, Н.В. Новак, И.Г. Чухрай, Е.И. Марченко</i> .....	180
Метод лечения хронического генерализованного пародонтита, протекающего на фоне общесоматической патологии <i>И.Г. Чухрай, Е.И. Марченко, Н.В. Новак, И.Л. Бобкова</i> .....	181
Метод эндоскопического лазерного гемостаза у пациентов с синдромом Мэллори–Вейса <i>А.В. Воробей, Е.А. Матвеева, Н.А. Лагодич, Т.Э. Владимирская</i> .....	182
Особенности микроскопического строения ткани печени в очаге лазерной коагуляции (экспериментальное исследование) <i>И.А. Швед, Т.Э. Владимирская, А.В. Воробей, О.П. Шорец, С.В. Александров</i> .....	183
<b>БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ .....</b>	<b>185</b>
Адаптационно-компенсаторные реакции в структуре вегетативного обеспечения у лиц призывного возраста в ответ на инфекцию <i>H. pylori</i> в зависимости от наследственных нарушений соединительной ткани <i>А.С. Рудой, А.А. Бова, А.М. Урываев, А.Г. Горустович</i> .....	185
Кардиоваскулярный риск у пациентов с ревматоидным артритом <i>Н.П. Митьковская, Т.А. Курак, Л.Л. Авдей, Е.Г. Оганова, Т.В. Ильина, Э.И. Шкробнева, Ж.Н. Кот</i> .....	187
Количественные показатели почечных вен взрослого человека <i>М.Б. Парфенович, П.Г. Пивченко</i> .....	188
Морфологическая и морфометрическая характеристика поджелудочной железы белой крысы в норме <i>Т.П. Пивченко</i> .....	189
Особенности морфологического строения пищеводно-желудочного перехода взрослого человека при фиброгастродуоденоскопии и компьютерно-томографическом исследовании <i>П.Г. Пивченко, Е.Н. Шестакович</i> .....	191
Применение чрескожной электронейростимуляции при лечении токсического повреждения нижнего альвеолярного нерва <i>И.О. Походенько-Чудакова, К.В. Вилькицкая</i> .....	192
Перспективная оценка кардиоваскулярного риска у реципиентов трансплантатов органов и тканей в отдаленном послеоперационном периоде <i>Н.П. Митьковская, О.О. Руммо, Е.А. Григоренко</i> .....	193
Профилактика токсических реакций на местные анестетики при помощи рефлексотерапии <i>И.О. Походенько-Чудакова, Е.В. Максимович</i> .....	194
Способ профилактики воспалительных осложнений при операциях в полости рта <i>И.О. Походенько-Чудакова, А.П. Игнатович</i> .....	195
Строение содержимого нижней глазничной щели человека <i>С.Д. Денисов, Ю.А. Гусева, Е.А. Неверовская</i> .....	196
Прегестационные факторы риска гипертензивных осложнений при беременности <i>Е.И. Барановская, О.А. Лосицкая, А.Н. Воронецкий</i> .....	197
Корреляции параметров внешнего дыхания и вегетативного тонуса у лиц призывного возраста с наследственными нарушениями соединительной ткани	

<i>А.С. Рудой, А.А. Бова, А.Г. Горустович, А.М. Урываев</i> .....	198
Вариабельность морфометрических параметров общего желчного протока при анатомическом и ультразвуковом исследованиях <i>П.Г. Пивченко, А.В. Самохина</i> .....	201
Метод многоцветной магнитолазеротерапии в профилактике и коррекции гепатотоксических побочных эффектов химиотерапии туберкулеза легких у подростков 15–17 лет <i>Г.Л. Бородина, П.С. Кривонос, Ж.И. Кривошеева, Н.А. Емельянова, Н.С. Морозкина, Н.В. Мановицкая, И.В. Бабченко, И.В. Соколовская</i> .....	202
Морфогенез области устьев полых вен в эмбриональном периоде человека <i>Т.В. Сахарчук</i> .....	203
Особенности топографии долей тимуса человека <i>А.А. Пасюк, П.Г. Пивченко</i> .....	204
<b>ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ</b> .....	<b>207</b>
Критерии хронизации воспалительных процессов плевральной полости и выбор метода операции <i>М.О. Русецкая</i> .....	207
Особенности иммунопатогенеза и диагностики ранних артритов с учетом ферментативной активности сыворотки крови и поликлональных иммуноглобулинов <i>М.В. Волкова</i> .....	207
<b>ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ</b> .....	<b>210</b>
Тилт-тест: возможности использования метода при отборе детей для занятий различными видами спорта <i>Н.А. Скуратова, Л.М. Беляева, О.А. Зимелихин, А.А. Козловский</i> .....	210
Адгезионный интерфейс для применения аутологичных клеток в герниопластике <i>Д.Р. Петренев, В.В. Берещенко, Е.В. Воробаев, А.Н. Лызилов</i> .....	211
Молекулярно-генетическая характеристика и поверхностный фенотип культур мезенхимальных стволовых клеток, пригодных для трансплантации <i>А.Н. Кондрачук, Д.Р. Петренев, Н.Н. Рубаник, Е.В. Воробаев</i> .....	213
<b>ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ</b> .....	<b>216</b>
Асимметрия нейроактивных соединений в коре больших полушарий головного мозга при экспериментальном алкоголизме <i>М.Н. Курбат</i> .....	216
Медико-организационная модель охраны репродуктивного здоровья женщин с воспалительными заболеваниями половых органов <i>И.А. Наумов</i> .....	217
Метаболическая коррекция у пациентов с ИБС с хронической сердечной недостаточностью и желудочковыми нарушениями ритма <i>Е.М. Дорошенко, В.А. Снежицкий, В.М. Пырочкин, Е.М. Сурмач</i> .....	218
Противовирусная терапия хронического гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов <i>Н.В. Матиевская, В.М. Цыркунов</i> .....	219
Способ профилактики ранних рецидивов кровотечений у пациентов с портальной гипертензией <i>П.В. Гарелик, Э.В. Могилевец, Н.И. Батвинков, О.И. Дубровицкич, Г.Г. Мармыш</i> .....	222
Тенденции наркологической ситуации в Республике Беларусь <i>В.В. Лелевич, А.Г. Виницкая, С.В. Лелевич</i> .....	223
<b>Указатель тематических рубрик</b> .....	<b>225</b>
<b>Указатель научных руководителей</b> .....	<b>229</b>

## CONTENTS

<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR MEDICAL EXPERT EXAMINATION AND REHABILITATION .....</b>	<b>3</b>
The technology of medical rehabilitation of patients with neurological manifestations of lumbar degenerative disc disease <i>V.B. Smychek, I.Ya. Chapko, A.N. Filippovich, N.V. Stakheyko, T.V. Cherevko, O.N. Frid .....</i>	<i>3</i>
Programs of medical rehabilitation of patients with the diseases of rheumatologic profile <i>V.B. Smychek, T.M. Leschinskaya, E.V. Vlasova-Rozanskaya, N.L. Lvova .....</i>	<i>4</i>
Complex rehabilitation system for patients with rheumatic diseases <i>V.B. Smychek, T.M. Leschinskaya, E.V. Vlasova-Rozanskaya, N.L. Lvova.....</i>	<i>6</i>
Medical rehabilitation programs for patients after surgical treatment of stomach cancer <i>E.E. Valchuk, T.N. Glinskaya, S.V. Sudilovskaya, E.A. Sirotkina, A.F. Martynovsky .....</i>	<i>7</i>
New approaches to medical rehabilitation of elderly patients <i>T.M. Leschinskaya, S.P. Kuskova, E.V. Vlasova-Rozanskaya, N.L. Lvova .....</i>	<i>8</i>
Information and analytic system for study and assessment of morbidity with temporal disability in the Republic of Belarus <i>A.V. Kopytok, T.N. Glinskaya, D.S. Kazakevich, N.A. Yakushina, O.F. Scherbina, A.S. Isoitko .....</i>	<i>9</i>
A system of registration, analysis and prognosis of invalidization of young people in the Republic of Belarus <i>A.V. Kopytok, N.A. Yakushina, S.I. Luschinskaya .....</i>	<i>10</i>
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR CHILDHOOD ONCOLOGY, HEMATOLOGY AND IMMUNOLOGY .....</b>	<b>11</b>
Pharmacokinetics of colistin, vancomycin and amikacin in sepsis and septic shock as complications of treatment in children with chemotherapy-induced neutropenia <i>V.I. Zakharevich, V.V. Dmitriev .....</i>	<i>12</i>
Some complications of the antitumor treatment for medulloblastoma and acute leukemia conducted in childhood <i>O.V. Karas, N.E. Konoplya, O.V. Aleinikova .....</i>	<i>13</i>
Effect of IL-2, IL-15 and their combination with IL-21 on the expansion and activation of selected NK cells <i>in vitro</i> <i>K.P. Vashkevich, T.V. Shman .....</i>	<i>14</i>
Aberration of <i>ikzf1</i> gene in acute lymphoblastic leukemia in children <i>A.N. Meleshko, I.V. Prokhorennya, S.N. Doronina .....</i>	<i>20</i>
Investigation of chimeric oncogene AML1/ETO alternative splicing isoforms spectrum in leukemic cells of patients with AML positive for t(8;21)(q22;q22) translocation over the treatment course <i>A.A. Migas, O.A. Mishkova, O.V. Aleinikova, V.V. Grinev, T.V. Romanovskaya .....</i>	<i>26</i>
The correlation of leukemic stem cells percentage and the outcome of induction therapy in B-lineage acute lymphoblastic leukemia in children <i>T.V. Shman, A.V. Tarasova, L.V. Movchan, O.V. Aleinikova .....</i>	<i>28</i>
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR NEUROLOGY AND NEUROSURGERY ....</b>	<b>29</b>
Method of complex treatment of multiple sclerosis associated with herpes viruses <i>S.A. Drakina, M.A. Khmara, S.M. Rovbut, S.A. Likhachev .....</i>	<i>30</i>
Evaluating the effectiveness of pharmacological correction of muscular rigidity in Parkinson's disease <i>S.A. Likhachev, V.V. Vashchilin, L.A. Vasilevskaya .....</i>	<i>32</i>
Determination of indications for introduction of botulinum toxin type A in oromandibular dystonia <i>S.A. Likhachev, T.N. Chernukha, S.A. Navosha .....</i>	<i>33</i>
Method of injection of botulinum toxin type A in writer's cramp <i>T.N. Chernukha, S.A. Likhachev, N.I. Chernenko, Y.N. Rushkevich .....</i>	<i>34</i>
The method of early diagnostics of the lower motor neuron dysfunction in the cervical spinal cord <i>S.A. Likhachev, Y.N. Rushkevich, N.M. Tarasevich .....</i>	<i>35</i>
The method of differential diagnosis of motor neuron disease in the cervical spinal cord and cervical myelopathy <i>S.A. Likhachev, Y.N. Rushkevich, N.M. Tarasevich .....</i>	<i>36</i>
Clinical and morphological growth mechanism of neuroepithelial tumors contaminated with the herpes simplex virus <i>T.V. Zhukova, A.F. Smeyanovich, A.L. Tanin, L.P. Parkhach, S.D. Bezubik, A.A. Shirinski, A.I. Ahremchuk .....</i>	<i>38</i>

Combined treatment of high-flow brain arteriovenous malformations <i>A.F. Smeyanovich, S.V. Kapatsevich, L.P. Parkhach, E.V. Kisurin, G.V. Teltsov</i> .....	39
Endovascular treatment of basilar artery aneurysms in patients with high surgical risk <i>A.F. Smeyanovich, S.V. Kapatsevich, E.V. Kisurin</i> .....	40
Assessment of the parameters of intracranial pressure waveforms in diagnostics of brain edema and hypoxia <i>E.P. Titovets, L.P. Parkhach, T.S. Stepanova, E.Y. Chernysh</i> .....	41
Method for diagnostics of the level of spinal cord pathology, associated with neurogenic lower urinary tract dysfunction <i>S.A. Likhachev, A.V. Astapenko, G.V. Zabrodzets</i> .....	43
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC PRACTICAL CENTER FOR MEDICAL TECHNOLOGIES, INFORMATION, MANagements AND PUBLIC HEALTH SERVICES ECONOMY</b> .....	<b>44</b>
Staff standardization of health care institutions <i>I.V. Malakhova, I.I. Novik, A.I. Rusenichik, N.M. Trofimov, T.V. Yasulya, V.M. Khavratovich</i> .....	45
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR CARDIOLOGY</b> .....	<b>46</b>
Justification of the choice of physical training in patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary interventions <i>V.A. Sudzhaeva, O.A. Sudzhaeva, T.S. Gubich, N.A. Kazaeva</i> .....	47
The effect of differentiated physical rehabilitation program on structural and functional parameters of the left ventricle in patients with myocardial infarction after percutaneous coronary intervention <i>N.A. Kazaeva, S.G. Sudzhaeva, T.S. Gubich, O.A. Sudzhaeva</i> .....	48
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR EPIDEMIOLOGY AND MICROBIOLOGY</b> ..	<b>49</b>
Adenosine deaminase activity in patients with infectious diseases <i>O.O. Yanovich, L.P. Titov</i> .....	50
Detection of pathogens and selection of <i>Ch. trachomatis</i> strain from knee-joint inflammatory exudates in rheumatoid arthritis associated with chlamydial infection <i>N.N. Poleschuk, L.V. Rubanik, D.A. Deikun, A.N. Astashonok, O.R. Knyazeva, N.F. Soroka, T.M. Talako</i> .....	51
Detection and estimation of the functional role of «hot spots» of aggregations in polypeptides, associated with the human and animal cerebral amyloidosis <i>S.P. Kapitulets, O.I. Nichiporuk, N.N. Kapitulets, L.M. Kravchenko</i> .....	53
The use of multiplex polymerase chain reaction for detection of the most important agents of acute intestinal infections of bacterial etiology <i>E.S. Nosova, L.P. Titov</i> .....	54
Criteria for clinical and laboratory diagnostics of tick-borne mixed infections. Creation of PCR test- system for tick-borne infections differentiation <i>S.A. Drakina, L.V. Korbut, E.P. Scheslenok, P.A. Semizhon, O.R. Knyazeva, A.G. Krasko, V.A. Devyatnikova, L.A. Anisko, V.V. Scherba, T.A. Rogacheva</i> .....	56
Method of dendritic cell based immunotherapy in patients with multiple and extreme drug-resistant pulmonary tuberculosis <i>A.Y. Goncharov, L.P. Titov, N.S. Shpakovskaya, A.M. Skryagina, A.E. Skryagin, V.V. Solodovnikova, I.U. Romanova</i> .....	57
Method of expansion of human olfactory epithelium-derived stem cells and progenitor cells in culture conditions <i>N.G. Antonevich, Z.B. Kvacheva, A.Y. Goncharov, V.L. Chekan, I.V. Sidorenko, L.G. Petrova</i> .....	58
Method for determination of potential risk of malignant transformation of stem cells and progenitor cells using B1s I and Gl1 I PCR-analysis <i>N.G. Antonevich, Z.B. Kvacheva, A.Y. Goncharov, V.L. Chekan, I.V. Sidorenko, L.G. Petrova</i> .....	59
Method of anti-relapse immunotherapy of patients with primary aggressive breast cancer using autologous monocyte-derived dendritic cells <i>A.Y. Goncharov, L.P. Titov, S.V. Koshelev, E.V. Shapoval, I.U. Romanova</i> .....	60
Pasture ticks ( <i>Ixodidae</i> ) in Pinsk Polesye and their infections with pathogenic agents for humans and animals <i>N.P. Mishaeva, L.S. Tsvirko, T.I. Samoilo, I.A. Azarova, V.A. Devyatnikova, T.A. Senkovets</i> .....	62
Complex PCR method for serotyping of <i>Neisseria meningitidis</i> isolated in Belarus in 2011–2013 <i>F.A. Lebedev, L.P. Titov</i> .....	63

Development of the algorithm for virological examination of kidney donors and recipients <i>T.V. Amvrosieva, Z.F. Bogush, N.V. Poklonskaya</i> .....	64
Development of highly effective test-system for detection of the West Nile virus antigen in the carriers and clinical materials in Belarus <i>T.I. Samoilova, O.S. Zalevskaya, K.L. Dedzulya, O.V. Klimovich, A.S. Petkevich</i> .....	65
Development of diagnostic kit for detection of RNA-genome of LCMV in real time PCR <i>E.G. Fomina, E.P. Scheslenok, T.V. Shkolina, A.S. Vladyko</i> .....	66
Development of complex diagnostic kits for dangerous natural focal groups of viral infections <i>P.A. Semizhon, E.P. Scheslenok, T.V. Shkolina, E.G. Fomina, L.M. Rustamova, O.R. Knyazeva, A.G. Krasko, A.S. Vladyko</i> .....	67
Development of technique of laboratory diagnostics of «infectious amyloidoses» (prion disease) with atomic force microscopy <i>S.P. Kapitulets, G.K. Zhavnerko, O.I. Nichiporuk, T.V. Paribok, N.N. Kapitulets, M.V. Makhrov, T.V. Dokukina</i> .....	69
The importance of the outer membrane proteins of <i>Leptospira interrogans</i> in pathogenesis of leptospirosis <i>S.P. Kapitulets, O.I. Nichiporuk, N.N. Kapitulets, I.A. Azarova, F.M. Fidarov</i> .....	70
ROTA-ADENO-AG-ICHM-Conf — Immunochromatographic assay kit with the confirmation test for rapid diagnostics of rota- and adenoviral infection <i>V.G. Gudkov, A.S. Virinskaya, E.I. Boreko, S.V. Orlova</i> .....	72
Development of integrated kit for detection of viral pathogens in drinking water <i>T.V. Amvrosieva, N.V. Poklonskaya, K.L. Dziadziulia, O.N. Kazinets</i> .....	72
Specialized collection of pathogenic viruses and bacteria - the national property of Belarus <i>L.M. Rustamova, A.G. Krasko, T.S. Ermakova, S.F. Semenov, N.L. Bogdanova, T.A. Ablova, V.A. Gorbunov</i> .....	74
Method of <i>Chlamydia trachomatis</i> detection on the solid-phase analytical carrier using fluorescent immunomagnetic microspheres <i>L.V. Rubanik, A.N. Astashonok, G.K. Zhavnerko, A.A. Kvasuk, N.N. Poleschuk</i> .....	75
The enzyme immunoassay test system for detection of A, G, M class antibodies to rotavirus <i>V.G. Gudkov, A.S. Virinskaya</i> .....	76
Cultivation technology of viral special pathogens for collection preservation <i>A.G. Krasko, L.M. Rustamova, S.F. Semenov, N.L. Bogdanova</i> .....	77
Sedimentation technology for detection of helminth eggs and protozoa cysts in clinical material <i>L.V. Skripova</i> .....	78
Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear leukocytes under the <i>Candida albicans</i> lysates stimulation <i>M.V. Levchenya, L.P. Titov</i> .....	80
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER «MOTHER AND CHILD»</b> .....	<b>81</b>
New technologies of psychotherapeutic and medical treatment of the preliminary period pathology <i>A.N. Barsukov, I.V. Kurlovich, M.V. Beluga, R.N. Demidova, V.V. Rimashevsky</i> .....	82
Analysis of pregnancy in women with chorionic detachment in the first trimester of pregnancy <i>A.N. Barsukov, V.L. Semenchuk, T.P. Vaschilina</i> .....	83
The course of pregnancy and reproductive outcomes in women with carbohydrate metabolism disorders <i>L.A. Sekerzhitskaya, R.L. Korshikova, V.V. Rimashevsky, R.N. Demidova</i> .....	84
The program of prevention of severe CNS lesions in infants with very low birth weight <i>T.V. Hnedzko, A.N. Vitushko</i> .....	86
Evaluation of intestinal blood flow in preterm infants with the risk of necrotizing enterocolitis <i>T.V. Gnedko, E.A. Ulezko</i> .....	86
Light therapy in the treatment of infectious and inflammatory diseases in newborns <i>K.U. Vilchuk, T.V. Gnedko, I.I. Payuk</i> .....	87
Endoscopy with optical zoom in diagnostics of intestinal metaplasia of the stomach mucosa in children <i>E.V. Lasitskaya, K.U. Vilchuk, K.Yu. Marahovsky, M.G. Devyaltovskaya</i> .....	88
Cell immunity in infants with intrauterine growth retardation during the first year of life <i>O.V. Sevruck, M.G. Devyaltovskaya, L.A. Timoshina</i> .....	89
Additional criteria for diagnostics of neonatal encephalopathy <i>A.A. Krishtafovich, M.G. Devyaltovskaya</i> .....	90

Progression of latent tuberculosis infection in children <i>L.A. Gorbach</i> .....	92
Dynamics of platelet aggregation at the background of correction of potentially possible risk factors of thrombotic complications in teenage girls with somatoform autonomic nervous system dysfunction <i>K.U. Vilchuk, E.T. Zubovskaya, I.V. Mitroshenko, M.K. Guschinskaya, M.G. Devyaltovskaya</i> .....	93
Diagnostic test-system for prenatal screening of fetal abnormalities <i>N.B. Gusina, A.V. Zinovik, A.A. Ershova-Pavlova, I.V. Naumchik, I.I. Vashkevich, O.V. Sviridov</i> .....	94
The range of systemic skeletal dysplasia, comparison of prenatal and pathologic diagnoses in fetuses aborted on genetic indications in the I and II trimesters of pregnancy <i>A.A. Lazarevich, I.V. Novikova, I.V. Naumchik</i> .....	96
Possibilities of diagnostics of rare inherited metabolic diseases in Belarus <i>N.B. Gusina, T.I. Demidovich, A.V. Zinovik, S.O. Myasnikov, O.L. Zobikova, R.D. Khmel, A.A. Ershova-Pavlova, I.V. Naumchik</i> .....	97
Central nervous system malformations in the first trimester fetuses aborted for medical reasons <i>I.V. Novikova, A.A. Lazarevich, N.A. Venchikova</i> .....	98
Research of CAG repeat expansion of ATXN1 (6p23) in diagnostics of type 1 spinocerebellar ataxia in Belarus <i>O.K. Kislova, E.A. Sulimchik</i> .....	99
Molecular-cytogenetic (FISH) diagnostics of monosomy 1p36 syndrome and Miller–Dieker syndrome — genomic disorders with cerebral affection <i>O.M. Khurs, L.V. Isakovich, A.D. Polityko, N.V. Rumyantseva, O.L. Zobikova, V.D. Kulak, R.D. Khmel, I.V. Naumchik</i> .....	100
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER OF HYCIENE</b> .....	<b>101</b>
Justification of hygienic requirements to the organization of educational process in technical training colleges <i>A.M. Davydok, A.A. Malakhova</i> .....	102
Gene polymorphisms of phase II of xenobiotics biotransformation <i>S.V. Fedorovich, A.G. Markova, O.G. Davydenko, N.G. Danilenko, O.D. Levdansky, O.A. Tsygankova</i> .....	103
Determination of acrylamide in drinking water by gas-liquid chromatography <i>L.M. Kremko, O.V. Sarakach, A.I. Dokutovich</i> .....	103
Determination of residual amount of chloramfenicol in the food of animal origin with the HPLC-MS/MS method <i>O.V. Shulyakovskaya, A.I. Polyanskikh, E.P. Shupilova, L.L. Belysheva</i> .....	104
Determination of sugars (glucose, fructose, sucrose, lactose, maltose, maltodextrin) in special foods and dietary supplements <i>O.V. Shulyakovskaya, L.L. Belysheva, A.I. Polyanskikh</i> .....	105
Development of test model and evaluation criteria of nanomaterials toxicity in vitro <i>I.I. Ilyukova, L.A. Najaran, E.K. Vlasenko, A.M. Voitovich, I.I. Koneva, V.V. Anisovich, T.N. Gomolko, N.V. Dudchik</i> .....	106
Hygienic monitoring of nitrates in water for human consumption <i>D.A. Budnikov, E.V. Drozdova, V.V. Buraya</i> .....	107
Substantiation of the hygienic requirements to organization of the educational process using personal electronic devices in educational institutions <i>T.N. Pronina, S.I. Sychik, I.V. Zhukovskaya, A.A. Malakhova</i> .....	108
Development and scientific basis of modern toxicological evaluation criteria and classification of mixed chemical compositions depending on the threshold levels of highly toxic chemicals within them <i>G.V. Lisovskaya, I.I. Ilyukova, S. Yu. Petrova, T.V. Demenkova, V.A. Stelmakh</i> .....	109
Scientific substantiation of hygienic requirements to the working conditions of medical staff occupied in the rooms of magnetic resonance imaging <i>T.M. Rybina, E.K. Kazey, L.N. Denchuk</i> .....	110
Medical prevention of work-related chronic bronchitis <i>S.I. Sychik, A.P. Sivakov, T.M. Rybina, S.A. Lyalikov, N.I. Saevich, T.I. Grekova</i> .....	111
Prevention of occupational and work-related pulmonary diseases <i>T.M. Rybina, S.I. Sychik, E.V. Amelchenko, N.V. Dudchik, T.K. Danilova, O.V. Tsukanova</i> .....	112
Violations of the element status in the staff due to the influence of industrial chemical factors <i>V.A. Zaitsev, L.S. Ivashkevich, T.M. Rybina, Z.T. Butko, A.A. Pleshkova</i> .....	113

Assessment of Integrated toxicity of environmental objects with the help of biotesting methods <i>N.V. Dudchik, A.V. Drazdova</i> .....	114
Improvement of risk assessment of pollutants <i>T.D. Gritsenko, S.M. Sokolov, L.M. Shevchuk, T.E. Naumenko, S.T. Andrianova, A.E. Pshegroda, A.N. Gankin</i> .....	115
Software for the risk assessment of air quality on human health <i>S.M. Sokolov, T.D. Gritsenko, A.E. Pshegroda, L.M. Shevchuk, T.E. Naumenko, A.N. Gankin, S.T. Andrianova</i> ....	116
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR RADIATION MEDICINE AND ECOLOGY OF HUMAN</b> .....	<b>117</b>
Methodical approach to individualized internal dose in inhabitants of contaminated territories <i>N.G. Vlasova, E.A. Drozd, A.N. Mataras, L.N. Eventova, Yu.V. Visenberg, G.N. Evtushkova</i> .....	119
Analysis of prevalence of CEBPA, NPM1, FLT3 and p53 gene mutations in the groups of patients with acute nonlymphocytic leukemia <i>A.E. Silin, V.N. Martinkov, D.K. Novik, Zh.M. Kozich, I.B. Tropashko, V.K. Shpudeyko, A.A. Silina, A.V. Voropaeva, S.M. Martynenko</i> .....	121
Multifocal malignant neoplasms in the categories of population most affected by the consequences of the chernobyl NPP accident <i>A.V. Rozhko, E.A. Nadyrov, A.A. Cheshik</i> .....	122
<b>N.N. ALEXANDROV REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR ONCOLOGY AND MEDICAL RADIOLOGY</b> .....	<b>123</b>
Effective surveillance of cured urological cancer patients is an important reserve of the disease outcome in metachronous cancer <i>O.G. Sukonko, S.A. Krasny, P.I. Moiseev, A.A. Mashevsky</i> .....	124
Development and implementation of methodological recommendations for metachronous multiple primary tumors in high risk patients for their early detection <i>A.A. Mashevsky, I.V. Veyalkin, N.A. Artemova, T.Yu. Averkina, O.I. Zubets, T.V. Chernaya</i> .....	125
Analysis of medical care efficacy in cancer patients, based on evaluation of their survival and lost life potential <i>N.N. Antonenkova, G.V. Yakimovich, I.S. Prudyvus, L.M. Kuryan, I.D. Chernykh</i> .....	126
Treatment of operable breast cancer patients with micrometastases in bone marrow <i>S.P. Kozlovskaya, N.N. Antonenkova, E.A. Zhavrid, R.M. Smolyakova, Yu.V. Karpeychik, M.A. Barmotko</i> .....	127
Outcomes of magnetic laser therapy and local hypoxia in early medical rehabilitation of patients with malignant tumors of head and neck <i>L.B. Parkhomenko, N.N. Krutilina, A.G. Zhukovets, R.M. Smolyakova</i> .....	128
The use of photodynamic (fluorescent ) diagnostics and therapy for malignant tumors of oral and oropharyngeal mucosa <i>A.G. Zhukovets, L.S. Yaskevich, O.I. Neyman, V.N. Chalov, W.I. Belotserkovsky, T.V. Frantskevich</i> .....	129
Thermochemotherapy for refractory and recurrent Hodgkin's lymphomas <i>N.V. Sachivko, E.A. Zhavrid, Yu.P. Istomin, E.A. Alexandrova, P.V. Pocheshinsky, A.N. Mazurenko, N.A. Petrovskaya</i> ..	130
Treatment of high risk muscle-invasive bladder cancer with adjuvant chemotherapy after radical cystectomy <i>O.G. Sukonko, A.G. Zhegalik, S.A. Krasny, S.L. Polyakov, A.I. Rolevich, V.J. Vasilevich, A.A. Minich, A.S. Mavrichev</i> ...	131
Role of the second transurethral resection in patients with high risk of non-muscle invasive bladder cancer <i>A.I. Rolevich, O.G. Sukonko, S.A. Krasny, S.L. Polyakov</i> .....	132
Treatment of localized peripheral renal tumors with radiofrequency ablation <i>V.V. Akinfeev, V.S. Dudarev, S.L. Polyakov, A.V. Karman, V.F. Orekhov, A.S. Mavrichev</i> .....	133
Combination of photodynamic diagnosis-assisted transurethral resection of the bladder and single postoperative intra- vesical chemotherapy instillation in patients with nonmuscle-invasive bladder cancer <i>A.I. Rolevich, O.G. Sukonko, S.A. Krasny, S.L. Polyakov</i> .....	134
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR TRANSFUSIOLOGY AND MEDICAL BIOTECHNOLOGY</b> .....	<b>135</b>
Features of the oxygen exchange of erythrocytes and their reducing activity normally and in anemia <i>J.V. Peshnyak, Z.I. Kravchuk, L.A. Smirnova, N.V. Goncharova, O.N. Bondaruk, YU.V. Ustinovich, A.M. Tumar, M.S. Rudz, S.I. Aleschik, E.Yu. Chernysh, L.P. Parhach, E.P. Titovets</i> .....	135
Analysis of lymphocyte subpopulations in peripheral blood of patients with lateral amyotrophic sclerosis treated with autologous mesenchymal stem cells	

<i>S.M. Kosmachova, S.I. Ignatenko, N.V. Goncharova, Y.N. Rushkevich, S.A. Likhachev, G.V. Zabrodets, M.P. Potapnev</i> ...	137
Design, expression and purification of human recombinant MOG for determination of anti-MOG antibodies <i>G.V. Kozhukh, A.P. Vlasov, S.P. Martsev, M.M. Zafranskaya, A.V. Borisov, E.B. Rudakovskaya</i> .....	139
Soluble receptor-1 of tumor necrosis factor in diagnostics of acute “graft-versus-host” disease in children after hematopoietic stem cell transplantation <i>T.M. Doroshenko, S.T. Akalovich, V.A. Bakerova, E.N. Avtonomova, T.V. Shman, Y.E. Mareyko, A.S. Nevmerzhitskaya, N.V. Minakovskaya, M.V. Belevtsev, O.V. Aleinikova, N.N. Voitenok</i> .....	140
Drug resistance of chronic lymphocytic leukemia caused by stromal cells under the effect of inhibitors of cell protective mechanisms <i>A.I. Svirnovsky, V.V. Pasiukov, I.B. Taras, N.A. Dreichuk, N.A. Feduro, O.V. Sergievich</i> .....	142
Spontaneous and drug-induced apoptosis of hematopoietic stem cells <i>A.I. Svirnovsky, O.V. Aleinikova, A.L. Uss, T.V. Shman, N.V. Goncharova, V.V. Pasiukov, N.A. Feduro, O.V. Sergievich, E.V. Dzuba, I.B. Taras, A.V. Bakun, N.A. Dreichuk</i> .....	144
Expression of markers of nerve cells in mesenchymal stem cells of bone marrow in patients with amyotrophic lateral sclerosis after neuroinduction <i>in vitro</i> <i>I.M. Severin, S.I. Ignatenko, N.V. Goncharova, S.M. Kosmachova, Y.N. Rushkevich, S.A. Likhachev, G.V. Zabrodets, M.P. Potapnev</i> .....	145
Fibrin gel modulates the expression of chondrogenic markers in bone marrow-derived mesenchymal stromal cells <i>V.S. Kostyunina, N.V. Petyovka</i> .....	147
Bioinformatic analysis of alu-repeat in 5'-area of <i>mdr1</i> gene promoter region <i>D.V. Marinich, N.V. Goncharova, Y.I. Buryanov, T.V. Shevchuk, O.V. Dyachenko</i> .....	149
Receiving, expansion and differentiation of hematopoietic and stromal stem cells from umbilical-placental complex <i>N.V. Petyovka, V.S. Kostyunina, E.V. Vasina, O.G. Furman, G.Y. Khulup, M.P. Potapnev</i> .....	150
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDICS</b> .....	<b>151</b>
Dynamic plate for temporary blocking of growth zones in children for correction of leg length discrepancy and angular deformation of the knee-joint <i>A.A. Sokolovsky, S.N. Serduchenko, L.A. Pashkevich, A.B. Dementsov, M.T. Mohammadi</i> .....	152
The PC program for calculation of residual strength of bones of extremities after sectoral resection <i>I.E. Shpilevsky, S.M. Bosyakov, Y.V. Likhachevsky</i> .....	154
Monitoring of child injuries and the strategy of its prevention <i>A.V. Beletsky, L.N. Lomat, A.M. Mukhlya, E.A. Ralko, A.V. Borisov</i> .....	155
Organizational aspects of endoprosthesis of large joints <i>A.V. Beletsky, A.M. Mukhlya, L.N. Lomat, E.A. Ralko, A.V. Borisov</i> .....	156
<b>REPUBLICAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CENTER FOR PULMONOLOGY AND PHTHISIOLOGY</b> .....	<b>157</b>
Autologous multipotent mesenchymal stromal cells transplantation in tuberculosis with multidrug and extensively drug resistance <i>A.Y. Skryagin, V.V. Solodovnikova, Y.I. Isaikina, H.L. Hurevich, M.I. Dusmikeeva, Z.I. Rogova, A.A. Shirochin, D.A. Vetushko, D.H. Pechinsky, A.M. Skryagina</i> .....	157
Bacteriological diagnosis of nontuberculous mycobacteria in Belarus <i>O.M. Zalutskaya, A.M. Skryagina, L.K. Surkova, M.I. Dusmikeeva</i> .....	159
Diagnosis and differential diagnosis of pulmonary tuberculosis with multidrug resistance at different stages of medical treatment <i>G.L. Gurevich, E.M. Skryagina, O.M. Zalutskaya</i> .....	160
Treatment of severe asthma with irreversible airway obstruction <i>I.M. Lapteva, O.N. Kharevich, N.A. Porakhonko, E.A. Lapteva</i> .....	161
Molecular characterization of <i>M. tuberculosis</i> strains in Minsk <i>O.M. Zalutskaya, M. Vykander, A.M. Skryagina, S. Hofner, H.L. Gurevich, E.R. Sagalchik, L.K. Surkova</i> .....	162
Molecular method in the diagnostics of complicated BCG vaccination in children <i>A.M. Skryagina, A.M. Zalutskaya, M.I. Dusmikeeva, G.I. Krivosheeva, N.S. Morozkina, N.A. Emelyanova, L.K. Surkova</i> .....	163

Pattern recognition and cellular immune responses to novel antigens of <i>M. tuberculosis</i> in residents of Belarus <i>A.M. Skryagina, R. Akhmed, Z.I. Rogova, V.V. Solodovnikova, A.M. Zalutskaya, A.E. Skryagin, M. Maer</i> .....	164
Modern principles of multidrug-resistant tuberculosis diagnosis and treatment <i>A.M. Skryagina, H.L. Gurevich, A.M. Zalutskaya, A.E. Skryagin, M.I. Dushmankeeva, A.P. Astrovko, V.V. Solodovnikova</i> ..	166
The method for determination of rehabilitation potential in patients with chronic obstructive pulmonary disease <i>L.V. Litskevich</i> .....	169
Tuberculosis on the background of chronic alcohol intoxication: structure of mortality, causes of death and morphological features <i>L.K. Surkova, M.I. Dushmankeeva, V.S. Artushkevich, M.K. Nedzved, A.M. Skryagina</i> .....	170
Multidrug-resistant tuberculosis in Belarus: case study <i>A.M. Skryagina, A.M. Zalutskaya, V.V. Solodovnikova, H.L. Hurevich, A.P. Astrovko, A.M. Kalechits, M.I. Dushmankeeva</i> .....	172
The effectiveness of treatment in patients with HIV/TB <i>A.P. Astrovko, A.M. Skryagina, H.L. Gurevich, E.V. Titkova, A.U. Bogomazova, A.F. Belko, A.L. Bobrukevich, D.A. Klimuk</i> .....	173
Efficiency of operations and extrapleural resection thoracoplasty with regard to the range of drug resistance and complex therapy <i>V.J. Kralko, H.L. Gurevich, A.M. Skryagina, N.V. Yatskevich, D.I. Gorenok, M.M. Golaido</i> .....	174
<b>BELARUSIAN MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION</b> .....	<b>175</b>
Diagnosics and treatment of urogenital tract infections, caused by <i>Mycoplasma genitalium</i> , taking into account molecular-biological features of the causative agent <i>I.G. Shimanskaya, S.A. Kostyuk, T.V. Rudenkova, N.A. Badygina, O.S. Pohuyan, T.A. Deikun</i> .....	176
Method of local treatment of onychomycosis in patients with chronic dermatoses <i>O.V. Pankratov, A.L. Barabanov, R.Yu. Shikalov, S.M. Tarasevich</i> .....	177
Risk factors and frequency of non-alcoholic fatty liver disease <i>N.N. Silivonchik, V.I. Goloborodko, A.I. Lednik, I.V. Kachar, D.F. Odinets, J.A. Patorskaya, L.M. Plotnikova, E.A. Voronko, L.S. Bogush, O.A. Zhigaltsova</i> .....	178
Features of health care of people with higher education <i>V.I. Ivanova, M.V. Schaveleva, A.P. Romanova</i> .....	179
Morphological changes of endotheliocytes in touch smears of rat aorta during various periods of experimental dyslipidemia <i>S.G. Krivorot, T.E. Vladimirskaia, I.A. Shved</i> .....	180
Method of creation of color-corrective veneer with the reconstruction of pulp color <i>I.K. Lutskaya, N.V. Novak, I.G. Chukhray, E.I. Marchenko</i> .....	181
Method of treatment of chronic generalized periodontitis in combination with the somatic pathology <i>I.G. Chukhray, E.I. Marchenko, N.V. Novak, I.L. Bobkova</i> .....	181
Method of endoscopic laser hemostasis in patients with Mallory–Weiss syndrome <i>A.V. Vorobey, E.A. Matveeva, N.A. Lagodich, T.E. Vladimirskaia</i> .....	183
Features of the microscopic structure of the liver tissue after laser coagulation (experimental study) <i>I.A. Shved, T.E. Vladimirskaia, A.V. Vorobey, O.P. Shorets, S.V. Aleksandrov</i> .....	184
<b>BELARUSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY</b> .....	<b>185</b>
Adaptive response in the structure of autonomic system procuring in conscription age people in response to the infection of <i>H. pylori</i> depending on the inherited connective tissue disorders <i>A.S. Rudoy, A.A. Bova, A.M. Uryvaev, A.G. Gorustovich</i> .....	187
Cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis <i>N.P. Mitkovskaya, T.A. Kurak, L.L. Avdey, E.G. Oganova, T.V. Iljina, E.I. Shkrebneva, Z.N. Kot</i> .....	188
Quantitative indices of renal veins in adults <i>M.B. Parfenovich, P.G. Pivchenko</i> .....	189
Morphological and morphometric characteristics of pancreas in normal white rat <i>T.P. Pivchenko</i> .....	190
Features of morphological structure of the esophageal-gastric junction in adults with fibrogastroscopy and computer-tomographic research <i>P.G. Pivchenko, E.N. Shestakovich</i> .....	192
Use of transcutaneous electric neurostimulation in the treatment of toxic injury of the inferior alveolar nerve <i>I.O. Pohodenko-Chudakova, K.V. Vilkitskaya</i> .....	193

Prospective evaluation of cardiovascular risk in recipients of transplants of organs and tissues in the postoperative period <i>N.P. Mitkovskaya, O.O. Rummo, E.A. Grigorenko</i> .....	194
Prevention of toxic reactions on local anesthetics with acupuncture <i>I.O. Pohodenko-Chudakova, E.V. Maksimovich</i> .....	195
Method of prevention of inflammatory complications in oral cavity surgeries <i>I.O. Pohodenko-Chudakova, A.P. Ignatovich</i> .....	196
Structure of the lower orbital fissure content <i>S.D. Denisov, Y.A. Guseva, E.A. Neverovskaya</i> .....	197
Pregestational risk factors of hypertensive complications during pregnancy <i>E.I. Baranovskaya, O.A. Lositskaya, A.N. Voronetsky</i> .....	198
Correlation of lung function parameters and tone of the autonomic nervous system in patients of conscription age with hereditary disorders of connective tissue <i>A.S. Rudoy, A.A. Bova, A.G. Gorustovich, A.M. Uryvaev</i> .....	201
Variability of the morphometry characteristics of extrahepatic bile ducts in anatomic and ultrasonic diagnostics <i>P.G. Pivchenko, A.V. Samokhina</i> .....	202
Method of multicolor magnetic laser therapy for prevention and correction of hepatotoxic side effects of lung tuberculosis treatment in teenagers of 15–17 years old <i>G.L. Borodina, P.S. Krivonos, Z.I. Kryvosheeva, N.A. Emelianova, N.S. Morozkina, N.V. Manovitskaya, I.V. Babchonok, I.V. Sokolovskaya</i> .....	203
Morphogenesis of vena cava orifices in the embryological period of the human <i>P.G. Pivchenko, T.V. Sakharchuk</i> .....	204
Features of topography of human thymus lobes <i>A.A. Pasiuk, P.G. Pivchenko</i> .....	205
<b>VITEBSK STATE MEDICAL UNIVERSITY</b> .....	<b>207</b>
Pleural inflammation chronization criteria and operation technique choice <i>M.O. Rusetskaya</i> .....	207
Immunopathogenetic and pathogenetic features of early arthritis considering enzymatic activity of blood serum and polyclonal IgG <i>M.V. Volkova</i> .....	209
<b>GOMEL STATE MEDICAL UNIVERSITY</b> .....	<b>210</b>
The tilt table test: the method of selection of children for various sports <i>N.A. Skuratova, L.M. Belyaeva, O.A. Zimelikhin, A.A. Kozlovsky</i> .....	211
Adhesion interface for using of autologic cells in hernioplasty <i>D.R. Petrenyov, V.V. Bereschenko, Y.V. Voropaev, A.N. Lyzikov</i> .....	213
Molecular-genetic characteristics and the surface phenotype of mesenchymal stem cell culture suitable for transplantation <i>A.N. Kondrachuk, D.R. Petrenyov, N.N. Rubanik, Y.V. Voropaev</i> .....	214
<b>GRODNO STATE MEDICAL UNIVERSITY</b> .....	<b>216</b>
Laterality of neuroactive compounds in the cerebral cortex of the brain in experimental alcoholism <i>M.N. Kurbat</i> .....	217
Medical-organizational model of reproductive health protection in women with inflammatory diseases of genitals <i>I.A. Naumov</i> .....	218
Method of determination of tryptophan metabolites <i>E.M. Doroshenko, V.A. Snezhitsky, V.M. Pyrochkin, E.M. Surmach</i> .....	219
Antiviral therapy for chronic hepatitis C in HIV-infected patients <i>N.V. Matievskaya, V.M. Tsyrukunov</i> .....	222
A method of prevention of early recurrences of bleeding in patients with portal hypertension <i>P.V. Gorelik, E.V. Mogilevets, M.I. Batvinkov, O.I. Dubrovshik, G.G. Marmysh</i> .....	223
Trends in drug use situation in the Republic of Belarus <i>V.V. Lelevich, H.G. Vinitzkaya, S.V. Lelevich</i> .....	224
<b>Index of subject headings</b> .....	<b>227</b>
<b>Index of research supervisors</b> .....	<b>230</b>

## **Контактная информация о РНПЦ и ВУЗах, представивших результаты научных исследований**

### **ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»**

ул. П. Бровки, 3, корп. 3, 220013, г. Минск  
Тел. (017) 290-98-38; факс (017) 292-20-87  
E-mail: info@belmapo.by  
<http://www.belmapo.by>

### **УО «Белорусский государственный медицинский университет»**

пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск  
Тел. (017) 272-66-05; факс (017) 272-61-97  
E-mail: rector@bsmu.by  
<http://www.bsmu.by>

### **УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»**

пр. Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск  
Тел. (0212) 60-13-95; факс (0212) 37-22-34  
E-mail: admin@vsmu.by  
<http://www.vsmu.by>

### **УО «Гомельский государственный медицинский университет»**

ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель  
Тел. (0232) 74-41-21; факс (0232) 74-98-31  
E-mail: medinst@mail.gomel.by, gomelsmu@mailgov.by  
<http://www.gsmu.by>

### **УО «Гродненский государственный медицинский университет»**

ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно  
Тел. (0152) 43-26-61; факс (0152) 43-53-41  
E-mail: mailbox@grsmu.by  
<http://www.grsmu.by>

### **ГУ «РНПЦ медицинской экспертизы и реабилитации»**

п. Городище, 223027, Минский р-н, Минская обл.  
Тел. (017) 507-04-18; факс (017) 507-04-17  
E-mail: niimser@belcmt.by  
<http://www.gorodische.by>

### **ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»**

п. Лесной-2, 223040, Минский р-н  
Тел. (017) 265-23-46; факс (017) 265-47-04  
E-mail: oncobel@omr.med.by  
<http://omr.by>

### **ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»**

Долгиновский тракт, 157, 200053, г. Минск  
Тел. (017) 289-87-95; факс (017) 289-89-50  
E-mail: niipulm@tut.by  
<http://www.rnpcpf.by>

### **ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии»**

ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск  
Тел. (017) 267-32-67; факс (017) 267-30-93  
E-mail: belriem@gmail.com  
<http://www.belriem.by>

### **ГУ «РНПЦ гигиены»**

ул. Академическая, 8, 220012, г. Минск  
Тел. (017)284-03-45; факс (017) 284-13-72  
E-mail: rspch@rspch.by  
<http://www.rspch.by>

### **ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий»**

Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск  
Тел./факс (017) 289-87-45  
E-mail: rnpc@blood.by  
<http://blood.by>

### **ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии»**

ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны,  
Боровлянский с/с, Минский р-н, Минская обл.  
Тел./факс (017) 265-42-22  
E-mail: mail@oncology.by  
<http://www.oncology.by>

### **ГУ «РНПЦ "Мать и дитя"»**

ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск  
Тел./факс (017) 233-55-84  
E-mail: sevenhos@mail.belpak.by  
<http://www.medcenter.by>

### **ГУ «РНПЦ медицинских технологий, информатизации, управления и экономики здравоохранения»**

ул. П. Бровки, 7а, 220600, г. Минск  
Тел. (017) 292-30-80; факс (017) 331-34-84  
E-mail: rnpcmt@belcmt.by  
<http://www.belcmt.by>

### **ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии»**

ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск  
Тел./факс (017) 267-16-95  
E-mail: ninh@mail.ru, info@neuro.by  
<http://www.neuro.by>

### **ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека»**

ул. Ильича, 290, 246040, г. Гомель  
Тел. (0232) 37-80-95; факс (0232) 37-80-97  
E-mail: rcrm@tut.by  
<http://www.rcrm.by>

### **ГУ «РНПЦ травматологии и ортопедии»**

ул. Кижеватова, 60, корп. 4, 220024, г. Минск  
Тел. (017) 212-94-81; факс (017) 212-32-00, 212-29-15  
E-mail: niito@tut.b  
<http://www.ortoped.by>

**ДЛЯ ЗАМЕТОК**

*Научно-практическое издание*

## **ДОСТИЖЕНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ БЕЛАРУСИ**

### **Выпуск XVIII**

Рецензируемый научно-практический ежегодник

Ответственный за выпуск О.С. Капранова

Редакторы  
Т.Н. Беленова (рус.)  
О.С. Капранова (рус.)  
Н.А. Кардаш (англ.)

Корректоры  
О.В. Алиновская  
Д.В. Сивуров  
А.Н. Тищенко

Компьютерная верстка  
С.Л. Абрамович  
С.А. Ильин  
О.С. Капранова

Подписано в печать 18.12.2013

Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная № 1. Гарнитура Times.

Печать ризографическая. Усл. печ. л. 29,06 Уч.-изд. л. 29,44.

Тираж 150 экз. Заказ № 24

Выпущено по заказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь

Государственное учреждение «Республиканская научная медицинская библиотека»

ЛИ № 02330/0548510 от 16.06.2009.

ул. Фабрициуса, 28, 220007, г. Минск

Тел./факс +375 (17) 216 23 33

E-mail: med@med.by

<http://www.med.by>

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии

ГУ «Республиканская научная медицинская библиотека»

ЛП № 02330/0494258 от 19.05.2009.

ул. Фабрициуса, 28, 220007, г. Минск