



JOURNAL
of SIBERIAN
MEDICAL
SCIENCES

3
2021

OPEN
ACCESS

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Выходит 4 раза в год

Volume 3 (2021)

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА

Маринкин И.О., проф. (Россия)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Поспелова Т.И., проф. (Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Кузнецова В.Г., проф. (Россия)

Савченко С.В., проф. (Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Максимова Е.А. (Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Афтанас Л.И., акад. РАН (Россия)

Вагенленер Ф., проф. (Германия)

Власов В.В., акад. РАН (Россия)

Воевода М.И., акад. РАН (Россия)

Громб С., проф. (Франция)

Дорофеев С.Б., канд. мед. наук (Россия)

Дыгай А.М., акад. РАН (Россия)

Жданов В.В., проф. (Россия)

Мюир Х.А., проф. (США)

Нильсон П.М., проф. (Швеция)

Ружичка Т., проф. (Германия)

Семенов В.М., проф. (Беларусь)

Федерико М., проф. (Италия)

Черных Е.Р., акад. РАН (Россия)

Шайдаров М.З., проф., чл.-кор. НАН РК
(Казахстан)

Шкурупий В.А., акад. РАН (Россия)

CHAIR OF EDITORIAL COUNCIL

Marinkin I.O., Prof. (Russia)

EDITOR-IN-CHIEF

Pospelova T.I., Prof. (Russia)

DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF

Kuznetsova V.G., Prof. (Russia)

Savchenko S.V., Prof. (Russia)

EXECUTIVE SECRETARY

Maksimova E.A. (Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Aftanas L.I., Academician of RAS (Russia)

Wagenlehner F., Prof. (Germany)

Vlasov V.V., Academician of RAS (Russia)

Voevoda M.I., Academician of RAS (Russia)

Gromb S., Prof. (France)

Dorofeev S.B., Cand. Sci. (Med.) (Russia)

Dygay A.M., Academician of RAS (Russia)

Zhdanov V.V., Prof. (Russia)

Muir H.A., Prof. (USA)

Nilsson P.M., Prof. (Sweden)

Ruzicka T., Prof. (Germany)

Semenov V.M., Prof. (Belarus)

Federico M., Prof. (Italy)

Chernykh E.R., Academician of RAS (Russia)

Shaydarov M.Z., Prof., Corresponding Member of NAS RK
(Kazakhstan)

Shkurupiy V.A., Academician of RAS (Russia)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Биттер И., проф. (Венгрия)

Бьерклунд Йохансен Т.Е., проф. (Норвегия)

Галицкий Ф.А., проф. (Казахстан)

Генералов И.И., проф. (Беларусь)

Зонова Е.В., проф. (Россия)

Карабинцева Н.О., проф. (Россия)

Климонтон В.В., проф. (Россия)

Ковынев И.Б., проф. (Россия)

Кондюрина Е.Г., проф. (Россия)

EDITORIAL BOARD

Bitter I., Prof. (Hungary)

Bjerklund Johansen T.E., Prof. (Norway)

Galitsky F.A., Prof. (Kazakhstan)

Generalov I.I., Prof. (Belarus)

Zonova E.V., Prof. (Russia)

Karabinceva N.O., Prof. (Russia)

Klimontov V.V., Prof. (Russia)

Kovynev I.B., Prof. (Russia)

Kondyurina E.G., Prof. (Russia)

Кохно В.Н., проф. (Россия)
Краснов В.А., проф. (Россия)
Кривцова Л.А., проф. (Россия)
Кульчавеня Е.В., проф. (Россия)
Логвинов С.В., проф. (Россия)
Мадонов П.Г., проф. (Россия)
Надеев А.П., проф. (Россия)
Новоселов В.П., проф. (Россия)
Овчинников А.А., проф. (Россия)
Осипенко М.Ф., проф. (Россия)
Петрек М., проф. (Чехия)
Потеряева Е.Л., проф. (Россия)
Соколова Т.М., проф. (Россия)
Хрянин А.А., проф. (Россия)
Чернов М.Ф., проф. (Япония)
Черных В.В., проф. (Россия)
Чикинев Ю.В., проф. (Россия)
Шпагина Л.А., проф. (Россия)
Яхонтов Д.А., проф. (Россия)

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
Адрес: 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52
Тел./факс: +7 (383) 222-32-04
E-mail: rector@ngmu.ru
Web: www.ngmu.ru

АДРЕС ИЗДАТЕЛЯ И РЕДАКЦИИ

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный просп., 52
Тел./факс: +7 (383) 229-10-82
E-mail: mos@ngmu.ru
Web: http://jsms.ngmu.ru

Kohn V.N., Prof. (Russia)
Krasnov V.A., Prof. (Russia)
Krivtsova L.A., Prof. (Russia)
Kulchavenya E.V., Prof. (Russia)
Logvinov S.V., Prof. (Russia)
Madonov P.G., Prof. (Russia)
Nadeev A.P., Prof. (Russia)
Novoselov V.P., Prof. (Russia)
Ovchinnikov A.A., Prof. (Russia)
Osipenko M.F., Prof. (Russia)
Petrek M., Prof. (Czechia)
Poteryaeva E.L., Prof. (Russia)
Sokolova T.M., Prof. (Russia)
Hryanin A.A., Prof. (Russia)
Chernov M.F., Prof. (Japan)
Chernykh V.V., Prof. (Russia)
Chikinev Yu.V., Prof. (Russia)
Shpagina L.A., Prof. (Russia)
Yahontov D.A., Prof. (Russia)

FOUNDER

Novosibirsk State Medical University
Address: 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia
Tel./fax: +7 (383) 222-32-04
E-mail: rector@ngmu.ru
Web: www.ngmu.ru

EDITORIAL OFFICE AND PUBLISHER ADDRESS

Novosibirsk State Medical University
52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia
Tel./fax: +7 (383) 229-10-82
E-mail: mos@ngmu.ru
Web: http://jsms.ngmu.ru

Решением президиума ВАК РФ журнал включен в перечень периодических изданий, рекомендованных для публикации работ соискателей ученых степеней.

Регистрационное свидетельство ПИ № ФС 77-72398 выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 28 февраля 2018 г.

Статьи, представленные к публикации в журнале, проходят независимое рецензирование и проверяются на оригинальность.

При перепечатке материалов из журнала Journal of Siberian Medical Sciences ссылка на источник — обязательна.

Журнал распространяется бесплатно. Территория распространения: РФ, страны СНГ, зарубежные страны.

Электронная версия (аннотированное содержание) доступна по адресам: <http://jsms.ngmu.ru>, <https://elibrary.ru>

Корректурa *Е.В. Егоров*

Компьютерная верстка и дизайн *Т.В. Соболева*

Подписано в печать 23.09.2021.

Дата выхода в свет 24.09.2021.

Формат 60×84/8. Бумага Color Copy. Гарнитура Georgia.

Усл.-печ. л. 16,56. Тираж 1000 экз. Изд. № 114с.

Отпечатано в типографии Издательско-полиграфического центра НГМУ, г. Новосибирск, ул. Залесского, 4.

E-mail: sibmedizdat@mail.ru, тел.: (383) 225-24-29

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ORIGINAL RESEARCHES

- Миокардиальный стресс левого желудочка при действии производственной вибрации**
Третьяков С.В., Попова А.А. 4 **Myocardial stress of the left ventricle during occupational vibration**
Tretyakov S.V., Popova A.A.
- Влияние методов измельчения бересты на выход биологически активных веществ**
Лигостаева Ю.В., Ханина М.А., Грек О.Р., Родин А.П. 14 **Influence of grinding methods of birch bark on the yield of biologically active substances**
Ligostaeva Yu.V., Khanina M.A., Grek O.R., Rodin A.P.
- Влияние пчелиного яда и гипертермии на липопероксидацию и антиоксидантную активность крови животных-опухоленосителей**
Шабалин М.А., Дерюгина А.В., Назарова В.В., Грачева Е.А., Лизунова А.С. 25 **The effect of bee venom and hyperthermia on the lipoperoxidation and antioxidant activity of the blood of tumor-bearing animals**
Shabalin M.A., Deryugina A.V., Nazarova V.V., Gracheva E.A., Lizunova A.S.
- Выраженность речевых и когнитивных нарушений у больных ишемическим инсультом на втором этапе реабилитации на фоне проведенной тромболитической терапии**
Бахарева О.Н., Чичановская Л.В., Зайцева А.А., Морозов А.С., Бахарев С.А. 34 **The intensity of speech and cognitive disorders in patients with ischemic stroke at the second stage of rehabilitation against the background of thrombolytic therapy**
Bakhareva O.N., Chichanovskaya L.V., Zajtseva A.A., Morozov A.S., Bakharev S.A.
- Анальгетическая активность новых производных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов в тесте горячей пластины**
Бибик Е.Ю., Курбанов Л.И., Григорян С.А., Кривоколыско Д.С., Кудрина М.А., Панков А.А., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. 45 **The analgesic activity of new sulfur-containing di- and tetrahydropyridine derivatives in the hot plate test**
Bibik E.Yu., Kurbanov L.I., Grygoryan S.A., Krivokolysko D.S., Kudrina M.A., Pankov A.A., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G.
- Изучение влияния иммобилизованных субтилизинов на коронарный кровоток в эксперименте на изолированном сердце крысы**
Байкалов Г.И., Князев Р.А., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С., Мадонов П.Г. 56 **Study of the immobilized subtilisins influence on coronary blood flow of an isolated rat heart**
Baikalov G.I., Knyazev R.A., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S., Madonov P.G.
- Гидропическая дистрофия сенсомоторной коры белых крыс в контексте формирования темных нейронов и изменения нейроглиальных взаимоотношений после краткосрочной окклюзии общих сонных артерий**
Горбунова А.В., Степанов С.С., Акулинин В.А., Авдеев Д.Б., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Конев В.П. 66 **Hydropic degeneration of the sensorimotor cortex of white rats in the context of the formation of dark neurons and changes in neuroglial relationships following short-term common carotid arteries occlusion**
Gorbunova A.V., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Avdeev D.B., Shoronova A.Yu., Makaryeva L.M., Konev V.P.
- Молекулярные подтипы уротелиальных карцином мочевого пузыря у пациентов молодого возраста**
Мещеряков И.А., Крюков К.А., Митин Н.П., Пономарёва Е.В., Шелехова К.В. 82 **Molecular subtypes of urothelial carcinomas of the bladder in young patients**
Meshcheryakov I.A., Kryukov K.A., Mitin N.P., Ponomareva E.V., Shelekhova K.V.

ОБЗОРЫ

REVIEWS

- Прогностическое значение ультразвуковой семиотики для выбора дальнейших диагностических процедур и методов лечения пациентов с абсцессами брюшной полости (обзор литературы)**
Гречихина М.В., Горбунов Н.А., Дергилев А.П. 105 **Forecasting importance of ultrasound semiotics for the choice of further diagnostic procedures and treatment methods for patients with abdominal abscesses (literature review)**
Grechikhina M.V., Gorbunov N.A., Dergilev A.P.
- Рак эндометрия (краткий обзор)**
Мимун Н., Аззуз М.Я., Бенаджель У., Келеф Д., Каиди Р. 116 **Uterine cancer at a glance**
Mimoun N., Azzouz M.Y., Benadjel O., Khelef D., Kaidi R.

Миокардиальный стресс левого желудочка при действии производственной вибрации

Третьяков С.В., Попова А.А.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Myocardial stress of the left ventricle during occupational vibration

Tretyakov S.V., Popova A.A.

Novosibirsk State Medical University

АННОТАЦИЯ

Цель. Изучение внутримиекардиального стресса левого желудочка (ЛЖ) у лиц, подвергающихся воздействию производственной вибрации и больных вибрационной болезнью (ВБ).

Материалы и методы. Обследовано 15 чел., контактирующих с вибрацией, 44 чел. с ВБ 1-й степени (ст.), 10 чел. с ВБ 2-й ст. Группу контроля составили 20 лиц без сердечно-сосудистой патологии, не подвергавшиеся воздействию профессионально-вредных факторов. Основными производственными неблагоприятными факторами у лиц с ВБ являлись вибрация, шум, физическое напряжение.

Проводилось ультразвуковое исследование сердца с определением общего объема ЛЖ ($V_{\text{общ}}$); объема его миокарда (V_m); массы миокарда (ММЛЖ); индекса массы миокарда (ИММЛЖ); систолического внутрижелудочкового давления; интенсивности функционирования структур ЛЖ; внутримиекардиального циркулярного (кольцевого) и меридионального диастолического и систолического стрессов ($\sigma_{\text{кд}}$, $\sigma_{\text{кс}}$ и $\sigma_{\text{мд}}$, $\sigma_{\text{мс}}$ соответственно); внутримиекардиального напряжения в кольцевом и меридиональном направлении в систолу и диастолу ($T_{\text{кс}}$, $T_{\text{мс}}$ и $T_{\text{кд}}$, $T_{\text{мд}}$ соответственно).

Результаты. У лиц, имеющих контакт с вибрацией, по сравнению с лицами, не имевшими контакта с производственно-вредными факторами, отмечается возрастание $\sigma_{\text{мд}}$ в 2.5 раза ($p < 0.05$) и $\sigma_{\text{кд}}$ в 2.8 раза ($p < 0.05$). Напряжение повышается в систолу и диастолу как в кольцевом ($T_{\text{кс}}$ на 17.35 %, $p < 0.05$; $T_{\text{кд}}$ в 2.74 раза, $p < 0.05$), так и в меридиональном ($T_{\text{мс}}$ на 14.59 %, $p < 0.05$; $T_{\text{мд}}$ в 2.76 раза, $p < 0.05$) направлениях. У лиц с ВБ 1-й ст. наблюдается увеличение в диастолу как $\sigma_{\text{мд}}$ в 2.2 раза ($p < 0.05$), $\sigma_{\text{кд}}$ в 2.4 раза ($p < 0.05$), так и $T_{\text{мс}}$ ($p < 0.05$) и $T_{\text{кд}}$ в 2.5 раза ($p < 0.05$).

У больных ВБ 2-й ст., в отличие от больных ВБ 1-й ст. и лиц, контактирующих с вибрацией, происходит изменение условий работы ЛЖ. При таких же значениях $V_{\text{общ}}$, V_m , ММЛЖ и ИММЛЖ, как в описываемых группах, у больных ВБ 2-й ст. отмечается снижение систолического внутрижелудочкового давления на 12.3 % ($p < 0.05$) на фоне возрастания $\sigma_{\text{мд}}$ на 14.7 % ($p < 0.05$), $T_{\text{мд}}$ на 13.6 % ($p < 0.05$), а также $\sigma_{\text{мс}}$ в 2.25 раза ($p < 0.05$) и $T_{\text{мс}}$ в 1.97 раза ($p < 0.05$).

Заключение. В группе контактирующих с вибрацией и больных ВБ 1-й ст., в отличие от лиц, не подвергающихся воздействию производственно-вредных факторов, происходит возрастание стресса и напряжения прежде всего в кольцевом направлении в диастолу, что говорит об активации гетерометрического типа авторегуляции сердечной деятельности. У больных ВБ 2-й ст. стресс и напряжение повышаются в меридиональном направлении в систолу, что свидетельствует о нивелировании гиперфункции ЛЖ по изотоническому типу.

Ключевые слова: внутримиекардиальный стресс, внутримиекардиальное напряжение, вибрация, вибрационная болезнь, гемодинамика.

Поступила 26.01.2021
Принята 20.02.2021

Автор, ответственный за переписку
Третьяков Сергей Владиславович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: ser53953824@yandex.ru

Received 26.01.2021
Accepted 20.02.2021

Corresponding author
Tretyakov Sergey Vladislavovich: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: ser53953824@yandex.ru

ABSTRACT

Aim. Study of intramyocardial stress of the left ventricle (LV) in persons exposed to occupational vibration and patients with hand-arm vibration syndrome (HAVS).

Materials and methods. We examined 15 individuals exposed to vibration, 44 individuals with grade 1 HAVS, 10 individuals with grade 2. The control group consisted of 20 persons without cardiovascular pathology, who had not been exposed to hazardous occupational factors. The main occupational hazards in persons with HAVS were vibration, noise, physical exertion.

Echocardiography was carried out to determine the total volume of LV (V_{total}); the volume of myocardium (V_m); myocardial mass (LVMM); myocardial mass index (LVMMI); systolic intraventricular pressure; the intensity of the functioning of the LV structures; LV circumferential and meridional diastolic and systolic stresses (σ_{cd} , σ_{cs} and σ_{md} , σ_{ms} respectively); LV tension in the circumferential and meridional direction during systole and diastole (T_{cs} , T_{cd} and T_{ms} , T_{md} respectively).

Results. In persons exposed to vibration, in comparison with those who have not been exposed to occupational hazards, there is an increase in σ_{md} by 2.5 times ($p < 0.05$) and σ_{cd} by 2.8 times ($p < 0.05$). The tension increases during systole and diastole both in the circumferential (T_{cs} by 17.35%, $p < 0.05$; T_{ms} by 2.74 times, $p < 0.05$) and in the meridional (T_{cd} by 14.59%, $p < 0.05$; T_{md} by 2.76 times, $p < 0.05$) directions. In persons with grade 1 HAVS, there is an increase during diastole σ_{md} by 2.2 times ($p < 0.05$), σ_{cd} by 2.4 times ($p < 0.05$), and T_{md} ($p < 0.05$) and T_{ms} by 2.5 times ($p < 0.05$).

In patients with grade 2 HAVS, in contrast to those with grade 1 and persons exposed to vibration, there is a change in the working conditions of LV. With the same values of V_{total} , V_m , LVMM and LVMMI, as in the described groups, in patients with grade 2 HAVS, there is a decrease by 12.3% ($p < 0.05$) in systolic intraventricular pressure against the background of an increase in σ_{md} by 14.7% ($p < 0.05$), T_{md} by 13.6% ($p < 0.05$), as well as σ_{ms} by 2.25 times ($p < 0.05$) and T_{cd} by 1.97 times ($p < 0.05$).

Conclusion. In the group of persons exposed to vibration and patients with grade 1 HAVS, in contrast to those who are not exposed to occupational hazards, there is an increase in stress and tension, primarily in the circumferential direction during diastole, which indicates the activation of the heterometric type of autoregulation of activity of the heart. In patients with grade 2 HAVS, stress and tension increase in the meridional direction during systole, which indicates the levelling of LV hyperfunction by isotonic type.

Keywords: intramyocardial stress, intramyocardial tension, vibration, hand-arm vibration syndrome, hemodynamics.

ВВЕДЕНИЕ

Миокардиальный стресс (МС) характеризует силу натяжения волокон миокарда на единицу поперечного сечения стенки левого желудочка (ЛЖ) и является количественным отражением величины пред- и постнагрузки ЛЖ. В конце диастолы он выражает преднагрузку, в конце систолы — постнагрузку [1]. По мнению ряда авторов повышение МС может расцениваться как прогностический фактор гипертрофии ЛЖ, которая, в свою очередь, является важным звеном в процессе ремоделирования сердца [2]. Показано, что ключевую роль в регулировании миокардиального ответа на биомеханическую перегрузку в фибробластах и кардиомиоцитах играет белок ST2, который является членом семейства рецепторов интерлейкина-1 и участвует в функционировании кардиопротективной сигнальной системы в миокарде, контролируя гипертрофию и фиброз [3–5]. Несмотря на различия в этиологии и патогенезе кардиальных заболеваний, некоторые молекулярные, биохимические и механические процессы, приводящие к выраженным нарушениям структуры и функции сердца, во многом схожи [6]. В клинике профессиональных болезней существует насущная необходимость вы-

INTRODUCTION

Myocardial stress (MS) characterizes the tension force of the myocardial fibers per unit cross-section of the left ventricle (LV) wall and is a quantitative reflection of the magnitude of LV pre- and afterload. At the end of diastole, it expresses preload, at the end of systole — afterload [1]. According to several authors, an increase in MS can be regarded as a predictor of LV hypertrophy, which, in turn, is an important link in the process of remodelling of the heart [2]. It has been shown that the key role in regulating the myocardial response to biomechanical overload in fibroblasts and cardiomyocytes is played by the ST2 protein which is a member of the interleukin-1 receptor family and is involved in the functioning of the cardioprotective signalling system in the myocardium, controlling hypertrophy and fibrosis [3–5]. Despite the differences in the etiology and pathogenesis of cardiac diseases, some molecular, biochemical, and mechanical processes that lead to pronounced structural and functional heart disorders are largely similar [6]. For management patients with occupational diseases, there is an urgent need to identify predictors of possible unfavourable cardiovascular developments under the action of occupational hazards, in particular, vibration [7].

явления предикторов возможного неблагоприятного развития событий, в том числе со стороны сердечно-сосудистой системы, при действии производственно-вредных факторов, в частности, вибрации [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение миокардиального стресса левого желудочка у лиц, подвергающихся воздействию производственной вибрации, и больных вибрационной болезнью (ВБ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 15 чел., контактирующих с вибрацией (средний возраст 50.4 ± 3.6 года, средний стаж работы с вибрацией 25.4 ± 2.8 года), 54 больных вибрационной болезнью (средний возраст 66.6 ± 2.3 года, средний общий стаж 36 лет, стаж во вредных условиях труда 17.8 года, длительность послеконтактного периода 11.3 года). В зависимости от степени тяжести ВБ группа разделена на две подгруппы. Первую составили больные ВБ 1-й степени (ст.) (44 чел., средний возраст 51.4 ± 3.1 года, средний стаж работы с вибрацией 23.8 ± 4.4 года); вторую — больные ВБ 2-й ст. (10 чел., средний возраст 54.0 ± 3.5 года, средний стаж работы с вибрацией 24.3 ± 2.6 года). Группу контроля составили лица без сердечно-сосудистой патологии, не подвергавшиеся воздействию профессионально-вредных факторов (20 чел., средний возраст 43.4 ± 3.2 года).

Основными производственными неблагоприятными факторами у лиц с вибрационной болезнью являлись вибрация, шум, физическое напряжение.

Вибрационные параметры основных пневмоинструментов характеризуются превышением санитарных норм на 2–15 дБ в октавных полосах со среднегеометрическими частотами 16, 63, 125 и 250 Гц. Наиболее высокие уровни виброскорости, превышающие предельно допустимые значения до 14 дБ, отмечены при выполнении технологических операций по «зачистке сварочных швов». Дополнительными неблагоприятными факторами у рабочих были шум, превышающий предельно допустимые уровни при работе пневмоинструментов на 5–20 дБ в зависимости от характера операций, места их выполнения и физическое перенапряжение мышечно-суставного аппарата верхних конечностей.

Верификация диагноза вибрационной болезни осуществлялась на основе капилляроскопии лимба, ногтевого ложа, реовазографии, допле-

AIM OF THE RESEARCH

Study of myocardial stress of the left ventricle in persons exposed to occupational vibration and in patients with hand-arm vibration syndrome (HAVS).

MATERIALS AND METHODS

We examined 15 individuals exposed to vibration (average age was 50.4 ± 3.6 years, average work experience with vibration was 25.4 ± 2.8 years), 54 patients with HAVS (average age was 66.6 ± 2.3 years, the average total experience was 36 years, experience in hazardous working conditions was 17.8 years, the duration of the post-exposure period was 11.3 years). Depending on the severity of HAVS, the group is divided into two subgroups. The first subgroup consisted of patients with grade 1 HAVS (44 individuals, average age was 51.4 ± 3.1 years, average work experience with vibration was 23.8 ± 4.4 years); the second subgroup included patients with grade 2 HAVS (10 individuals, average age was 54.0 ± 3.5 years, average work experience with vibration was 24.3 ± 2.6 years). The control group consisted of persons without cardiovascular pathology, who were not exposed to hazardous occupational factors (20 individuals, average age 43.4 ± 3.2 years).

The main occupational hazards in persons with HAVS were vibration, noise, physical exertion.

The vibration parameters of the main pneumatic tools are characterized by an excess of sanitary standards by 2–15 dB in octave bands with geometric mean frequencies of 16, 63, 125 and 250 Hz. The highest level of vibration velocity, exceeding the maximum permissible values of up to 14 dB, was noted when performing technological operations for “cleaning welded seams”. Additional unfavourable factors among workers were noise exceeding the maximum permissible levels during the operation of pneumatic tools by 5–20 dB, depending on the nature of operations, the place of their performance, and physical overexertion of the muscles and joints of the upper extremities.

The diagnosis of hand-arm vibration syndrome was verified based on capillaroscopy of the limbus, nail bed, rheovasography, Doppler ultrasonography and electromyography of the upper and lower extremities, assessment of pain and vibration sensitivity, dynamometry, and thermometry of the upper extremities. In the clinical picture of the disease, peripheral angiodystonic syndrome and vegetative-sensory polyneuropathy syndrome of the upper extremities were noted.

рангиографии и электромиографии верхних и нижних конечностей, исследования болевой и вибрационной чувствительности, динамометрии и термометрии верхних конечностей. В клинической картине заболевания отмечались периферический ангиодистонический синдром и синдром вегетативно-сенсорной полинейропатии верхних конечностей.

В исследование не включались лица с гипертонической болезнью, вторичной артериальной гипертензией, с врожденными и приобретенными пороками сердца, ишемической болезнью сердца, поражением гепатобилиарной системы, эндокринологическими заболеваниями.

Проводилось ультразвуковое исследование сердца. Определялись конечно-систолический (КСО, мл), конечно-диастолический (КДО, мл) и ударный (УО, мл) объемы левого желудочка. Используя методику Трой в модификации Ю.Н. Беленкова [8], определяли общий объем левого желудочка ($V_{\text{общ}}$, мл), объем его миокарда (V_m , мл), массу миокарда (ММЛЖ, г), индекс массы миокарда (ИММЛЖ, г/м²). Систолическое внутрижелудочковое давление (СВЖД, дин/см²) рассчитывали по М. Quinones et al. [9]. Этот показатель использовался для расчета интенсивности функционирования структур (ИФС) левого желудочка. Внутримиекардиальный циркулярный (кольцевой) диастолический (σ_{cd}) и систолический (σ_{cs}) стрессы рассчитывали по методу Н. Sandler [10] и Н. Dodge [11] в модификации R.A. Ratshin et al. [12]. Расчет внутримиекардиального меридионального систолического (σ_{ms}) и диастолического (σ_{md}) стрессов производили по формуле G. Marsh et al. [13]. Определялось внутримиекардиальное напряжение в экваториальном (кольцевом) и меридиональном направлениях в систолу ($T_{\text{кс}}$ и $T_{\text{мс}}$) и диастолу ($T_{\text{кд}}$ и $T_{\text{мд}}$) по методу Н. Sandler [10] и Н. Dodge [11]. При этом в качестве показателя преднагрузки левого желудочка использовали конечно-диастолическое экваториальное стеночное напряжение. Для определения постнагрузки, согласно К.М. Borow et al. [14], применяли максимальное систолическое стеночное напряжение в конце фазы изометрического сокращения [12].

Полученный цифровой материал был обработан с помощью вариационно-статистических методов путем расчета средней арифметической (M), среднеквадратичного отклонения (σ). Различия показателей рассчитывалось методом разностной статистики по критерию Стьюдента и считалось статистически значимым при $p < 0.05$ (при 5% уровне значимости).

The study did not include persons with hypertension, secondary arterial hypertension, congenital and acquired heart defects, coronary heart disease, damage of the hepatobiliary system, endocrinological diseases.

Echocardiography was performed. The end-systolic (ESV, ml), end-diastolic (EDV, ml) and stroke (SV, ml) volumes of the left ventricle were determined. Using the Troy technique modified by Yu.N. Belenkov [8], the total volume of the left ventricle (V_{total} , ml), the volume of its myocardium (V_m , ml), myocardial mass (LVMM, g), and myocardial mass index (LVMMI, g/m²) were determined. Systolic intraventricular pressure (SIVP, dyne/cm²) was calculated according to M. Quinones et al. [9]. This indicator was used to calculate the intensity of functioning of structures (IFS) of the left ventricle. Intramyocardial circumferential diastolic (σ_{cd}) and systolic (σ_{cs}) stresses were calculated using the method of H. Sandler [10] and H. Dodge [11] modified by R.A. Ratshin et al. [12]. To calculate intramyocardial meridional systolic (σ_{ms}) and diastolic (σ_{md}) stresses, we used the formula of G. Marsh et al. [13]. The intramyocardial tension was determined in the circumferential and meridional directions during systole (T_{cs} и T_{ms}) and diastole (T_{cd} и T_{md}) by the method of H. Sandler [10] and H. Dodge [11]. In this case, end-diastolic circumferential wall tension was used as an indicator of left ventricular preload. To determine the afterload, according to K.M. Borow et al. [14] maximum systolic wall tension at the end of isometric contraction was applied [12].

The qualitative data obtained were processed using variational statistical methods by calculating the arithmetic mean (M), standard deviation (σ). The difference in indicators was calculated by the method of difference statistics according to the Student's test and was considered statistically significant at $p < 0.05$ (at 5% significance level).

RESULTS AND DISCUSSION

In persons exposed to vibration, there is a moderate increase in the total volume of the left ventricle by 1.23 times ($p < 0.05$), which is associated with an increase in the volume of the left ventricular myocardium (by 17.75%, $p < 0.05$), as well as an increase in both the mass of the left ventricular myocardium by 17.70% ($p < 0.05$) and its index by 11.57% ($p < 0.05$). A high correlation ($r = +0.9$) between the values of the total volume of the left ventricle and the mass of its myocardium was revealed. An increase in σ_{md} by 2.5 times ($p < 0.05$) and σ_{cd} by 2.8 times ($p < 0.05$) is noted. In this case, there is an increase in the tension

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У лиц, имеющих контакт с вибрацией, отмечается умеренное увеличение общего объема левого желудочка в 1.23 раза ($p < 0.05$), что связано с ростом объема миокарда левого желудочка (на 17.75 %, $p < 0.05$), а также повышением как массы миокарда левого желудочка на 17.70 % ($p < 0.05$), так и его индекса на 11.57 % ($p < 0.05$). Выявлена высокая корреляционная взаимосвязь ($r = +0.9$) значений общего объема левого желудочка и массы его миокарда. Отмечается возрастание $\sigma_{\text{мд}}$ в 2.5 раза ($p < 0.05$) и $\sigma_{\text{кд}}$ в 2.8 раза ($p < 0.05$). При этом наблюдается увеличение напряжения стенки левого желудочка, которое представляет собой силу, действующую на единицу длины и связанную с применением стресса [11]. Напряжение повышается в систолу и диастолу как в кольцевом ($T_{\text{кс}}$ на 17.35 %, $p < 0.05$; $T_{\text{кд}}$ в 2.74 раза, $p < 0.05$), так и в меридиональном ($T_{\text{мс}}$ на 14.59 %, $p < 0.05$; $T_{\text{мд}}$ в 2.76 раза, $p < 0.05$) направлениях, т.е. укорочение циркулярных мышечных волокон происходит хотя и практически с той же скоростью, но при больших напряжениях (табл. 1).

of the left ventricular wall, which is a force acting per unit length and associated with the application of stress [11]. The tension increases during systole and diastole both in the circumferential (T_{cs} by 17.35%, $p < 0.05$; T_{cd} by 2.74 times, $p < 0.05$) and in the meridional (T_{ms} by 14.59%, $p < 0.05$; T_{md} by 2.76 times, $p < 0.05$) directions, i.e., contraction of circular muscle fibres occurs, although at practically the same rate, but at high stresses (Table 1).

In the studied individuals, the observed increase in the mass of the myocardium is aimed at reducing the tension of its wall, which leads to a decrease in the intensity functioning of the heart structures in comparison with the control group by 1.2 times ($p < 0.05$) due to the removal of a part of the load per unit of heart mass and, accordingly, to a decrease in oxygen consumption per unit mass of the myocardium. In this case, the stroke volume of the left ventricle increases due to an increase in its end-diastolic volume (see Table 1), which indicates Frank-Starling mechanism triggering. The Frank-Starling phenomenon is based on a molecular mechanism, the essence of which is that the degree of overlap of thick myosin

Таблица 1. Внутримыокардиальный стресс, напряжение и некоторые показатели сократительной функции левого желудочка у лиц, контактирующих с вибрацией ($M \pm \sigma$)

Table 1. Intramyocardial stress, tension and some indicators of the contractile function of the left ventricle in persons exposed to vibration ($M \pm \sigma$)

Показатель Parameter	Лица без сердечно-сосудистой патологии, не подвергавшиеся воздействию профессионально-вредных факторов Persons without cardiovascular pathology who have not been exposed to occupational hazards ($n = 20$)	Контакт с вибрацией Exposure to vibration ($n = 15$)	p
УО, мл / SV, ml	67.65 $\pm$ 19.66	88.50 $\pm$ 21.95	<0.05
КДО, мл / EDV, ml	97.05 $\pm$ 22.17	118.00 $\pm$ 23.61	<0.05
КСО, мл / ESV, ml	30.40 $\pm$ 6.52	30.50 $\pm$ 6.04	>0.05
$V_{\text{общ}}$, мл / V_{total} , ml	207.08 $\pm$ 30.07	254.67 $\pm$ 31.09	<0.05
$V_{\text{м}}$, мл / V_{m} , ml	102.48 $\pm$ 15.91	124.59 $\pm$ 17.37	<0.05
ММЛЖ, г / LVMM, g	107.66 $\pm$ 16.63	130.82 $\pm$ 18.24	<0.05
ИММЛЖ, г/м ² LVMMI, g/m ²	67.61 $\pm$ 10.86	76.46 $\pm$ 8.87	<0.05
СВЖД, дин/см ² SIVP, dyn/cm ²	109.15 $\pm$ 14.39	113.01 $\pm$ 19.28	>0.05
$\sigma_{\text{мд}}$, дин/см ² σ_{md} , dyn/cm ²	47.16 $\pm$ 5.37	118.61 $\pm$ 23.07	<0.05
$\sigma_{\text{кд}}$, дин/см ² σ_{cd} , dyn/cm ²	91.24 $\pm$ 11.98	253.59 $\pm$ 41.78	<0.05
$\sigma_{\text{мс}}$, дин/см ² σ_{ms} , dyn/cm ²	38.76 $\pm$ 4.47	40.17 $\pm$ 5.37	>0.05
$\sigma_{\text{кс}}$, дин/см ² σ_{cs} , dyn/cm ²	105.15 $\pm$ 8.72	108.06 $\pm$ 9.03	>0.05
$T_{\text{кс}}$, дин/см ² T_{cs} , dyn/cm ²	139.83 $\pm$ 18.16	169.19 $\pm$ 38.70	<0.05
$T_{\text{кд}}$, дин/см ² T_{cd} , dyn/cm ²	90.25 $\pm$ 9.71	247.11 $\pm$ 21.79	<0.05
$T_{\text{мс}}$, дин/см ² T_{ms} , dyn/cm ²	51.28 $\pm$ 5.54	60.04 $\pm$ 0.25	>0.05
$T_{\text{мд}}$, дин/см ² T_{md} , dyn/cm ²	41.81 $\pm$ 4.66	115.23 $\pm$ 11.95	<0.05
ИФС / IFS	69.55 $\pm$ 14.01	59.47 $\pm$ 7.64	>0.05

У изучаемых лиц наблюдаемое повышение массы миокарда направлено на уменьшение напряжения его стенки, что приводит к снижению интенсивности функционирования структур сердца по сравнению с группой контроля в 1.2 раза ($p < 0.05$) за счет снятия части нагрузки на единицу массы сердца и соответственно к уменьшению потребления кислорода на единицу массы миокарда. При этом ударный объем левого желудочка увеличивается в связи с ростом его конечно-диастолического объема (см. табл. 1), что свидетельствует о включении механизма Франка — Старлинга. В основе феномена Франка — Старлинга лежит молекулярный механизм, суть которого состоит в том, что от начальной длины мышцы зависит степень перекрытия толстых миозиновых и тонких актиновых нитей. Эта степень перекрытия определяет потенциально возможное (при данной концентрации кальция в саркоплазме) число замкнутых поперечных мостиков [15]. Увеличение конечно-диастолического объема желудочка ведет к более мощному его сокращению, а нарастание размера его полости позволяет выбрасывать больший объем крови [16]. Формируется изотоническая гиперфункция. Известно, что преимущественно изотоническая гиперфункция характеризуется увеличением ударного и минутного объемов сердца при неизменном давлении в желудочке [17]. Длина миокардиального волокна может увеличиваться при повышении венозного возврата крови к сердцу [18], т.е. преднагрузки. При этом возрастает конечно-диастолическое экваториальное стеночное напряжение ($\sigma_{\text{кд}}$). Таким образом, в группе лиц, контактирующих с вибрацией, наблюдаются адаптационно-приспособительные реакции, затрагивающие всю гемодинамическую систему. Очевидно, изменения, развивающиеся при долговременной адаптации, не могут быть ограничены рамками даже самой широкой функциональной системы, они в той или иной мере охватывают весь организм. Развитие адаптации происходит как процесс формирования системного структурного следа, а адаптационная перестройка сердца — необходимое звено этой системы [19]. Полученные данные свидетельствуют о формировании гетерометрического механизма авторегуляции сердечной деятельности.

Результаты изучения функционального состояния сердца у группы лиц с ВБ 1-й ст. также демонстрируют активацию гетерометрического

and thin actin filaments depends on the initial length of the muscle. This degree of overlap determines the potentially possible (at a given calcium concentration in the sarcoplasm) number of closed transverse bridges [15]. An increase in the end-diastolic volume of the ventricle leads to a more powerful contraction, and an increase in the size of its cavity allows a larger volume of blood to be ejected [16]. Isotonic hyperfunction is formed. It is known that predominantly isotonic hyperfunction is characterized by an increase in stroke and cardiac output at a constant pressure in the ventricle [17]. The length of the myocardial fiber can increase with an increase in venous return of blood to the heart [18], i.e., preload. In this case, the end-diastolic circumferential wall tension (σ_{cd}) increases. Thus, in the group exposed to vibration, adaptive reactions affect the entire hemodynamic system. Obviously, the changes that develop during long-term adaptation cannot be limited by the framework of even the broadest functional system, they in one way or another cover the entire body. The adaptations occur as a process of forming a systemic structural trace, and the adaptive restructuring of the heart is a necessary link in this system [19]. The data obtained indicate the formation of a heterometric mechanism of autoregulation of cardiac activity.

The results of the study of the heart functional state in persons with grade 1 HAVS also demonstrate activation of the heterometric mechanism of autoregulation of cardiac activity, expressed in an increase during diastole as σ_{md} by 2.2 times ($p < 0.05$), σ_{cd} 2.4 times ($p < 0.05$), and T_{md} ($p < 0.05$) and T_{cd} by 2.5 times ($p < 0.05$). This resulted in an increase in EDV by 10.2% ($p < 0.05$), which contributed to an increase in SV by 7.2%. An increase in V_{total} by 13.4% ($p < 0.05$) is associated not only with an increase in EDV but also V_{m} by 18.3% ($p < 0.05$). This was reflected in an increase in LVMM by 17.2% ($p < 0.05$), LVMMI by 11.8% ($p < 0.05$) and SIVP by 12.99% ($p < 0.05$), and a decrease in IFC by 13.8% ($p < 0.05$) (Table 2).

In patients with grade 2 HAVS, in contrast to patients with grade 1 and persons exposed to vibration, there is a change in the working conditions of the left ventricle. With the same values of V_{total} , V_{m} , LVMM and LVMMI, as in the described groups, in patients with 2 grade HAVS there is a 12.3% decrease in SIVP ($p < 0.05$) against the background of an increase in σ_{md} by 14.7% ($p < 0.05$), T_{md} by 13.6% ($p < 0.05$), as well as σ_{ms} by 2.25 times ($p < 0.05$) and T_{ms} by 1.97 times ($p < 0.05$). The latter indicates an increase in afterload for the left ventricle, which led to an increase in ESV by 14.5% ($p < 0.05$). This indicates more pro-

механизма авторегуляции сердечной деятельности, выражающуюся в увеличении в диастолу как $\sigma_{\text{мд}}$ в 2.2 раза ($p < 0.05$), $\sigma_{\text{кд}}$ в 2.4 раза ($p < 0.05$), так и $T_{\text{мд}}$ ($p < 0.05$) и $T_{\text{кд}}$ в 2.5 раза ($p < 0.05$). Это повлекло повышение КДО на 10.2 % ($p < 0.05$), что способствовало росту УО ЛЖ на 7.2 %. Увеличение $V_{\text{общ}}$ на 13.4 % ($p < 0.05$) связано не только с увеличением КДО, но и $V_{\text{м}}$ на 18.3 % ($p < 0.05$). Это нашло свое отражение в возрастании ММЛЖ на 17.2 % ($p < 0.05$), ИММЛЖ на 11.8% ($p < 0.05$) и СВЖД на 12.99 % ($p < 0.05$) и снижении ИФС на 13.8 % ($p < 0.05$) (табл. 2).

У больных ВБ 2-й ст., в отличие от больных ВБ 1-й ст. и лиц, контактирующих с вибрацией, происходит изменение условий работы левого желудочка. При таких же значениях $V_{\text{общ}}$, $V_{\text{м}}$, ММЛЖ и ИММЛЖ, как в описываемых группах, у больных ВБ 2-й ст. отмечается снижение СВЖД на 12.3 % ($p < 0.05$) на фоне возрастания $\sigma_{\text{мд}}$ на 14.7 % ($p < 0.05$), $T_{\text{мд}}$ на 13.6 % ($p < 0.05$), а также $\sigma_{\text{мс}}$ в 2.25 раза ($p < 0.05$) и $T_{\text{мс}}$ в 1.97 раза ($p < 0.05$). Последнее свидетельствует об увеличении постна-

nounced changes in the geometry of the left ventricle (Table 3) when the process of transition to a more spherical shape is stimulated. A limitation of the implementation of the Frank-Starling mechanism occurs and the heterometric mechanism of autoregulation of cardiac activity is limited.

CONCLUSION

The study of intramyocardial stresses and left ventricular stresses in the circumferential and meridional directions in persons exposed to occupational vibration showed that in the group of individuals that had been exposed to vibration and patients with grade 1 HAVS, in contrast to those who had not been exposed to occupational hazards, there is an increase in stress and tension, primarily in the circumferential direction during diastole, which indicates an increase in blood flow to the left sections, the start of the Frank-Starling mechanism, i.e., about the activation of the heterometric type of autoregulation of cardiac activity. In patients with grade 2 HAVS, there is an increase in stress and ten-

Таблица 2. Внутримыокардиальный стресс, напряжение и некоторые показатели сократительной функции левого желудочка у больных с ВБ 1-й степени ($M \pm \sigma$)

Table 2. Intramyocardial stress, tension and some indicators of the contractile function of the left ventricle in patients with grade 1 HAVS ($M \pm \sigma$)

Показатель Parameter	Лица без сердечно-сосудистой патологии, не подвергавшиеся воздействию профессионально-вредных факторов Persons without cardiovascular pathology who have not been exposed occupational hazards ($n = 20$)	Больные с ВБ 1-й степени Patients with grade 1 HAVS ($n = 44$)	p
УО, мл / SV, ml	67.65 ± 19.66	73.67 ± 16.67	>0.05
КДО, мл / EDV, ml	97.05 ± 22.17	108.00 ± 25.10	<0.05
КСО, мл / ESV, ml	30.40 ± 6.52	35.20 ± 13.17	<0.05
$V_{\text{общ}}$, мл / V_{total} , ml	207.08 ± 30.07	238.86 ± 31.94	<0.05
$V_{\text{м}}$, мл / V_{m} , ml	102.48 ± 15.91	125.33 ± 14.94	<0.05
ММЛЖ, г / LVMM, g	107.66 ± 16.63	131.59 ± 15.69	<0.05
ИММЛЖ, г/м ² LVMMI, g/m ²	67.61 ± 10.86	76.59 ± 7.97	<0.05
СВЖД, дин/см ² SIVP, dyn/cm ²	109.15 ± 14.39	125.45 ± 23.06	<0.05
$\sigma_{\text{мд}}$, дин/см ² $\sigma_{\text{мд}}$, dyn/cm ²	47.16 ± 5.37	103.04 ± 15.47	<0.05
$\sigma_{\text{кд}}$, дин/см ² $\sigma_{\text{кд}}$, dyn/cm ²	91.24 ± 11.98	217.92 ± 44.79	<0.05
$\sigma_{\text{мс}}$, дин/см ² $\sigma_{\text{мс}}$, dyn/cm ²	38.76 ± 4.47	37.64 ± 6.93	>0.05
$\sigma_{\text{кс}}$, дин/см ² $\sigma_{\text{кс}}$, dyn/cm ²	105.15 ± 8.72	106.63 ± 11.95	>0.05
$T_{\text{кс}}$, дин/см ² $T_{\text{кс}}$, dyn/cm ²	139.83 ± 18.16	172.10 ± 17.11	<0.05
$T_{\text{кд}}$, дин/см ² $T_{\text{кд}}$, dyn/cm ²	90.25 ± 9.71	221.15 ± 46.87	<0.05
$T_{\text{мс}}$, дин/см ² $T_{\text{мс}}$, dyn/cm ²	51.28 ± 5.54	60.18 ± 7.67	>0.05
$T_{\text{мд}}$, дин/см ² $T_{\text{мд}}$, dyn/cm ²	41.81 ± 4.66	104.19 ± 14.39	<0.05
ИФС / IFS	69.55 ± 14.01	59.98 ± 12.60	>0.05

Таблица 3. Внутримиекардиальный стресс, напряжение и некоторые показатели сократительной функции левого желудочка у больных ВБ 2-й степени ($M \pm \sigma$)**Table 3.** Intramyocardial stress, tension and some indicators of the contractile function of the left ventricle in patients with grade 2 HAVS ($M \pm \sigma$)

Показатель Parameter	Больные с ВБ 1-й степени Patients with grade 1 HAVS (n = 44)	Больные с ВБ 2-й степени Patients with grade 2 HAVS (n = 10)	p
УО, мл / SV, ml	73.67 ± 16.67	67.83 ± 17.74	>0.05
КДО, мл / EDV, ml	108.00 ± 25.10	108.00 ± 17.52	>0.05
КСО, мл / ESV, ml	35.20 ± 13.17	41.16 ± 7.25	<0.05
$V_{\text{общ}}, \text{мл} / V_{\text{total}}, \text{мл}$	238.86 ± 31.94	237.94 ± 18.14	<0.05
$V_{\text{м}}, \text{мл} / V_{\text{м}}, \text{мл}$	125.33 ± 14.94	123.61 ± 8.45	<0.05
ММЛЖ, г / LVMM, g	131.59 ± 15.69	129.79 ± 8.88	<0.05
ИММЛЖ, г/м ² LVMMI, g/m ²	76.59 ± 7.97	78.69 ± 6.41	<0.05
СВЖД, дин/см ² SIVP, dyn/cm ²	125.45 ± 23.06	110.06 ± 4.20	>0.05
$\sigma_{\text{мд}}, \text{дин/см}^2 \sigma_{\text{мд}}, \text{дин/см}^2$	103.04 ± 15.47	120.74 ± 26.68	<0.05
$\sigma_{\text{кд}}, \text{дин/см}^2 \sigma_{\text{кд}}, \text{дин/см}^2$	217.92 ± 44.79	230.41 ± 35.57	<0.05
$\sigma_{\text{мс}}, \text{дин/см}^2 \sigma_{\text{мс}}, \text{дин/см}^2$	37.64 ± 6.93	84.85 ± 5.89	<0.05
$\sigma_{\text{кс}}, \text{дин/см}^2 \sigma_{\text{кс}}, \text{дин/см}^2$	106.63 ± 11.95	113.82 ± 13.08	<0.05
$T_{\text{кс}}, \text{дин/см}^2 T_{\text{кс}}, \text{дин/см}^2$	172.10 ± 17.11	162.39 ± 11.79	<0.05
$T_{\text{кд}}, \text{дин/см}^2 T_{\text{кд}}, \text{дин/см}^2$	221.15 ± 46.87	227.80 ± 24.64	<0.05
$T_{\text{мс}}, \text{дин/см}^2 T_{\text{мс}}, \text{дин/см}^2$	60.18 ± 7.67	118.69 ± 7.03	<0.05
$T_{\text{мд}}, \text{дин/см}^2 T_{\text{мд}}, \text{дин/см}^2$	104.19 ± 14.39	120.59 ± 31.71	<0.05
ИФС / IFS	59.98 ± 12.60	60.53 ± 11.48	>0.05

грузки для левого желудочка, что привело к росту КСО ЛЖ на 14.5 % ($p < 0.05$). Это говорит о более выраженных изменениях в геометрии левого желудочка (табл. 3), когда стимулируется процесс перехода к более сферической его форме. Происходит ограничение реализации механизма Франка — Старлинга, гетерометрический механизм авторегуляции сердечной деятельности ограничивается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение внутримиекардиальных стрессов и напряжений левого желудочка в кольцевом и меридиональном направлениях у лиц, подвергающихся воздействию производственной вибрации, показало, что в группе контактирующих с вибрацией и больных ВБ 1-й ст., в отличие от лиц, не подвергающихся воздействию производственно-вредных факторов, происходит возрастание стресса и напряжения прежде всего в кольцевом направлении в диастолу, что говорит об увеличении притока крови к левым отделам, запуске механизма Франка — Старлинга, т.е. об активации гетерометрического типа авторегуляции сердечной деятельности. У больных ВБ 2-й ст.

сходит в меридиональном направлении во время систолы, что указывает на увеличение нагрузки для левого желудочка и, в контексте других гемодинамических параметров этой камеры сердца, о нивелировании гиперфункции левого желудочка по изотоническому типу, что связано, в частности, с более продолжительным постконтактным периодом у лиц этой группы.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

происходит возрастание стресса и напряжения в меридиональном направлении в систолу, что свидетельствует о росте постнагрузки для левого желудочка и, в контексте других гемодинамических параметров этой камеры сердца, о нивелировании гиперфункции левого желудочка по изотоническому типу, что связано, в частности, с более продолжительным постконтактным периодом у лиц этой группы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Губарева И.В., Крюков Н.Н. Изучение взаимосвязи миокардиального стресса и натрийуретических пептидов у больных с различными типами диастолической дисфункции левого желудочка // Вестн. Волгоград. гос. мед. ун-та. 2014. № 1 (49). С. 108–110.
2. Нечесова Т.А., Коробко И.Ю., Кузнецова Н.И. Ремоделирование левого желудочка: патогенез и методы оценки // Мед. новости. 2008. № 11. С. 7–13.
3. Pascual-Figal D.A., Januzzi J.L. The biology of ST2: the International ST2 Consensus Panel // Am. J. Cardiol. 2015. Vol. 115 (7). P. 3B–7B.
4. Шиляева Н.В., Щукин Ю.В., Лимарева Л.В., Данильченко О.П. Биомаркеры миокардиального стресса и фиброза в определении клинических исходов у пациентов с сердечной недостаточностью, перенесших инфаркт миокарда // Рос. кардиол. журн. 2018. Т. 23, № 1. С. 32–36.
5. Каретникова В.Н., Кашталап В.В., Косарева С.Н., Барабаш О.Л. Фиброз миокарда: современные аспекты проблемы // Терапевт. арх. 2017. Т. 89, № 1. С. 88–93.
6. Воробьев А.С., Коваленко Л.В., Николаев К.Ю. и др. Роль миокардиального стресса и воспалительного ответа в формировании постинфарктного ремоделирования миокарда // Вестн. СурГУ. Медицина. 2020. № 1 (43). С. 66–74.
7. Третьяков С.В. Сердечно-сосудистая система при действии вибрации (гемодинамические и психокardiологические аспекты). М.: Русайнс, 2020. 160 с.
8. Беленков Ю.Н. Роль нарушений систолы и диастолы в развитии сердечной недостаточности // Терапевт. арх. 1994. № 9. С. 3–5.
9. Quinones M.A., Mokotoft D.M., Nouri S., Winters jr W.L., Miller R.R. Noninvasive quantification of left ventricular wall stress. Validation of method and application to assessment of chronic pressure overload // Am. J. Cardiol. 1980. Vol. 45 (4). P. 782–790.
10. Sandler H., Dodge H.T. Left ventricular tension and stress in man // Circ. Res. 1963. Vol. 13 (2). P. 91–104.
11. Dodge H.T., Hay R.E., Sandler H. An angiocardigraphic method for directly determining left ventricular stroke volume in man // Circ. Res. 1962. Vol. 11 (4). P. 739–745.
12. Ratshin R.A., Rackley C.E., Russell jr R.O. Determination of left ventricular preload and afterload by quantitative echocardiography in man // Circ. Res. 1974. Vol. 34 (5). P. 711–718.
13. Marsh G., Green L., Wynne J., Cohn P., Grossman W. Left ventricular end-systolic pressure-dimension and stress-length relations in normal human subject // Am. J. Cardiol. 1979. Vol. 44 (7). P. 1311–1317.
14. Borrow K.M., Green L.H., Grossman W., Braunwald E. Left ventricular end-systolic stress-shortening and stress-length relations in humans: Normal values and sensitivity to inotropic state // Am. J. Cardiol. 1982. Vol. 50 (6). P. 1301–1308.
15. Мархасин В.С., Изаков В.Я., Шумаков В.И. Физиологические основы нарушения сократительной функции миокарда. СПб.: Наука, 1994. 256 с.

REFERENCES

1. Gubareva I.V., Kryucov N.N. (2014). Studying the relationship between myocardial stress and natriuretic peptides in patients with various types of left ventricular diastolic dysfunction. *Journal of Volgograd State Medical University*, 1 (49), 108–110.
2. Nechesova T.A., Korobko I.Yu., Kuznetsova N.I. (2008). Left ventricular remodelling: pathogenesis and assessment methods. *Med. News*, 11, 7–13. In Russ.
3. Pascual-Figal D.A., Januzzi J.L. (2015). The biology of ST2: the International ST2 Consensus Panel. *Am. J. Cardiol.*, 115 (7), 3B–7B.
4. Shilyaeva N.V., Shchukin Yu.V., Limareva L.V., Danilchenko O.P. (2018). Biomarkers of myocardial stress and fibrosis for clinical outcomes assessment in post myocardial infarction heart failure patients. *Russ. Journal of Cardiology*, 23 (1), 32–36.
5. Karetnikova V.N., Kashtalap V.V., Kosareva S.N., Barabash O.L. (2017). Myocardial fibrosis: current aspects of the problem. *Therapeutic Archive*, 89 (1), 88–93.
6. Vorobyov A.S., Kovalenko L.V., Nikolaev K.Yu. et al. (2020). Myocardial stress and inflammatory response in the formation of post-infarction myocardial remodelling. *Vestnik SurGU. Medicina*, 1 (43), 66–74.
7. Tretyakov S.V. (2020). *The Cardiovascular System under the Influence of Vibration (Hemodynamic and Psychocardiological Aspects)*. M.: Ruscience, 2020, 160 p. In Russ.
8. Belenkov Yu.N. (1994). The role of systole and diastole disorders in the development of heart failure. *Therapeutic Archive*, 9, 3–5. In Russ.
9. Quinones M.A., Mokotoft D.M., Nouri S., Winters jr W.L., Miller R.R. (1980). Noninvasive quantification of left ventricular wall stress. Validation of method and application to assessment of chronic pressure overload. *Am. J. Cardiol.*, 45 (4), 782–790.
10. Sandler H., Dodge H.T. (1963). Left ventricular tension and stress in man. *Circ. Res.*, 13 (2), 91–104.
11. Dodge H.T., Hay R.E., Sandler H. (1962). An angiocardigraphic method for directly determining left ventricular stroke volume in man. *Circ. Res.*, 11 (4), 739–745.
12. Ratshin R.A., Rackley C.E., Russell jr R.O. (1974). Determination of left ventricular preload and afterload by quantitative echocardiography in man. *Circ. Res.*, 34 (5), 711–718.
13. Marsh G., Green L., Wynne J., Cohn P., Grossman W. (1979). Left ventricular end-systolic pressure-dimension and stress-length relations in normal human subject. *Am. J. Cardiol.*, 44 (7), 1311–1317.
14. Borrow K.M., Green L.H., Grossman W., Braunwald E. (1982). Left ventricular end-systolic stress-shortening and stress-length relations in humans: Normal values and sensitivity to inotropic state. *Am. J. Cardiol.*, 50 (6), 1301–1308.
15. Markhasin V.S., Izakov V.Ya., Shumakov V.I. (1994). *Physiological Bases of Myocardial Contractile Dysfunction*. Saint Petersburg: Nauka, 256 p. In Russ.
16. Mukharlyamov N.M. (1978). *Early Stages of Circulatory Failure and Mechanisms of its Compensation*. Moscow: Medicine, 248 p. In Russ.

16. Мухарлямов Н.М. Ранние стадии недостаточности кровообращения и механизмы ее компенсации. М.: Медицина, 1978. 248 с.
17. Меерсон Ф.З. Гиперфункция. Гипертрофия. Недостаточность сердца. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина; Берлин: Народ и здоровье (ГДР), 1968. 388 с.
18. Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. М.: Наука, 1993. 157 с.
19. Меерсон Ф.З. Адаптация, деадаптация и недостаточность сердца. М.: Медицина, 1978. 343 с.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Третьяков Сергей Владиславович — д-р мед. наук, профессор кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики (семейной медицины) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Попова Анна Александровна — д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой поликлинической терапии и общей врачебной практики (семейной медицины) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Образец цитирования: Третьяков С.В., Попова А.А. Миокардиальный стресс левого желудочка при действии производственной вибрации // Journal of Siberian Medical Sciences. 2021. № 3. С. 4–13.

17. Meerson F.Z. (1968). *Hyperfunction. Hypertrophy. Heart Failure*. 2nd ed., rev. and add. Moscow: Medicine; Berlin: People and Health (GDR), 388 p. In Russ.
18. Meerson F.Z., Malyshev I.Yu. (1993). *The Phenomenon of Adaptive Stabilization of Structures and Protection of the Heart*. Moscow: Nauka, 157 p. In Russ.
19. Meerson F.Z. (1978). *Adaptation, Deadaptation, and Heart Failure*. Moscow: Medicine, 343 p. In Russ.

ABOUT THE AUTHORS

Tretyakov Sergey Vladislavovich — Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Outpatient Therapy and General Medical Practice (Family Medicine), Novosibirsk State Medical University.

Popova Anna Aleksandrovna — Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Outpatient Therapy and General Medical Practice (Family Medicine), Novosibirsk State Medical University.

Citation example: Tretyakov S.V., Popova A.A. (2021). Myocardial stress of the left ventricle during occupational vibration. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 4–13.

Влияние методов измельчения бересты на выход биологически активных веществ

Лигостаева Ю.В.¹, Ханина М.А.², Грек О.Р.¹, Родин А.П.²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

²ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (Орехово-Зуево)

Influence of grinding methods of birch bark on the yield of biologically active substances

Ligostaeva Yu.V.¹, Khanina M.A.², Grek O.R.¹, Rodin A.P.²

¹Novosibirsk State Medical University

²State University of Humanities and Technology (Orehovo-Zuevo)

АННОТАЦИЯ

Введение. Береста содержит ценные биологически активные вещества (БАВ). В связи с этим актуален поиск путей увеличения выхода из нее БАВ.

Цель. Изучить влияние методов измельчения бересты на извлечение из нее БАВ при экстрагировании.

Материалы и методы. Образцы бересты березы повислой (*Betula pendula* Roth.) и березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) измельчались на аппаратах с различными силовыми воздействиями на растительный материал — дисковой (преимущественно сдавливающие, сдвиговые, растягивающие и срезающие усилия), трехвалковой кольцевой (раздавливающие и истирающие усилия) и шаровой (раздавливающие, истирающие и ударно-сдвиговые усилия) мельницах. Проводили морфологическое и микроскопическое исследования, определяли содержание экстрактивных веществ, влаги в измельченных образцах. Анализировали состав и содержание БАВ.

Результаты. Наименьшие изменения в морфологической и анатомической структуре растительного материала наблюдались при использовании дисковой мельницы (сохраняются морфологические признаки бересты и ее клеточное строение), измельчение на трехвалковой кольцевой и шаровой мельницах приводит к серьезным изменениям в морфологической и анатомической структуре бересты (утрачивается морфолого-анатомическое строение, разрушаются клеточные стенки). Сравнительный анализ выхода экстрактивных веществ из измельченных образцов бересты в зависимости от метода измельчения и используемого экстрагента (вода очищенная и спирт этиловый различной концентрации: 96, 80, 70, 40, 20 и 10 %) показал, что наилучшим экстрагентом является 80% спирт этиловый. Наибольший выход экстрактивных веществ отмечен для образца бересты, измельченного в шаровой мельнице — 36.85 %, для измельченного на дисковой мельнице — 29.96 %, на трехвалковой кольцевой — 30.88 %. При исследовании выхода основных групп БАВ (сапонины, дубильные вещества, кумарины, гидроксикоричные кислоты) из измельченных образцов бересты выявлено, что при использовании методов измельчения, не приводящих к разрушению клеточных стенок, выход БАВ лимитируется капиллярно-пористой структурой растительного материала.

Заключение. При использовании методов измельчения, приводящих к разрушению клеточных стенок, наибольший выход биологически активных веществ из бересты наблюдается в случае использования более жесткого воздействия на нее, включающего не только усилия истирания, раздавливания, но и удара (шаровые мельницы).

Ключевые слова: береста, методы измельчения, зависимость, экстракция, биологически активные вещества.

Поступила 08.03.2021
Принята 25.04.2021

Автор, ответственный за переписку
Лигостаева Юлия Валерьевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: ligos.yuv@mail.ru

Received 08.03.2021
Accepted 25.04.2021

Corresponding author
Ligostaeva Yulya Valeryevna: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: ligos.yuv@mail.ru

ABSTRACT

Introduction. Birch bark contains biologically active substances (BAS). In this regard, the search for ways to increase yield of its bioactive agents is relevant.

Aim. To study the effect of birch bark grinding methods on the extract of its BAS during extraction.

Materials and methods. Samples of birch bark of silver birch (*Betula pendula* Roth.) and downy birch (*Betula pubescens* Ehrh.) were ground up on devices with various force effects on plant material — disk (mainly squeezing, shear, tensile and shearing forces), three-roll annular (crushing and abrasive forces) and ball (crushing, abrasive and shock-shear forces) mills. Morphological and microscopic studies were carried out, the content of extractive substances and moisture in the ground up samples was determined. The composition and content of BAS were analyzed.

Results. The smallest changes in the morphological and anatomical structure of plant material were observed when using a disk mill (the morphological features of birch bark and its cellular structure are preserved), grinding on three-roll ring and ball mills leads to serious changes in the morphological and anatomical structure of birch bark (the morphological and anatomical structure is lost, cell walls are destroyed). Comparative analysis of the yield of extractive substances from ground up birch bark samples, depending on the grinding method and the extractant used (purified water and ethyl alcohol of different concentrations: 96, 80, 70, 40, 20 and 10%) showed that the best extractant is 80% ethyl alcohol. The highest yield of extractive substances was noted for a sample of birch bark ground up in a ball mill — 36.85%, for ground up in a disc mill — 29.96%, on a three-roll ring mill — 30.88%. When studying the yield of the main groups of BAS (saponins, tannins, coumarins, hydroxycinnamic acids) from ground up birch bark samples, it was found that when using grinding methods that do not lead to the destruction of cell walls, the yield of BAS is limited by the capillary-porous structure of the plant material.

Conclusion. When using grinding methods that lead to the destruction of cell walls, the greatest yield of BAS from birch bark is observed in the case of using a more severe impact on it, including not only abrasion, crushing, but also impact (ball mills).

Keywords: birch bark, grinding methods, dependence, extraction, biologically active substances.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы рационального использования растительных ресурсов в нашей стране закреплена на законодательном уровне. Создание в России платформы «БиоТех2030», направленной на использование возобновляемого сырья для химической промышленности и органического синтеза, подтверждает необходимость поиска рентабельного способа переработки растительного сырья. Одним из путей ее решения является предварительная обработка лекарственного растительного сырья различными методами: физическими, химическими, биологическими, биохимическими, энзиматическими и их комбинациями [1–3]. Использование перечисленных методов направлено, в первую очередь, на повышение выхода биологически активных веществ (БАВ) из сырья.

Одним из самых простых и эффективных методов увеличения выхода БАВ из сырья является его измельчение, что приводит к увеличению поверхности раздела твердой и жидкой фаз и большему выходу целевого продукта при экстрагировании [4]. Для измельчения растительного сырья могут быть использованы различные машины, отличающиеся конструкцией, принципом воздействия на исходный материал. В дисковой (ножевой) мельнице измельчение проис-

INTRODUCTION

The relevance of the rational use issue of plant resources in our country is fixed at the legislative level. The creation of the BioTech2030 platform in Russia, aimed at using renewable raw material for the chemical industry and organic synthesis, confirms the need to find a cost-effective way of processing plant raw material. One of the ways to solve it is the pretreatment of medicinal plant raw material by various methods: physical, chemical, biological, biochemical, enzymatic and their combinations [1–3]. The use of these methods is primarily aimed at increasing the yield of biologically active substances (BAS) from raw material.

One of the simplest and most effective methods of increasing the yield of BAS from raw material is its grinding, which leads to an increase in the interface between the solid and liquid phases and a greater yield of the target product during extraction [4]. For grinding plant raw material, various machines can be used, differing in design, the principle of influencing the source material. In a disc (knife) mill, grinding occurs due to cutting when shear deformations emerge. A distinctive feature of the force action on the fiber during grinding in knife mills is the presence of mainly squeezing and shear forces. Along with these components, tensile and shear forces act on the fibers, while chemical changes in the source

ходит за счет резания при возникновении сдвиговых деформаций. Отличительной особенностью силового воздействия на волокно при измельчении в ножевых машинах является наличие преимущественно сдавливающего и сдвигового усилий. Наряду с указанными составляющими на волокна действуют растягивающие и срезающие усилия, при этом химических изменений в исходном материале обычно не происходит [5]. В кольцевых мельницах измельчаемый материал прижимается вращающимися вальцами (шарами) к неподвижному или вращающемуся кольцевому вкладышу, и измельчение происходит путем раздавливания и истирания материала под действием силы веса размазывающих тел (вальцов или шаров), силы натяжения пружин или центробежных сил. Шаровые мельницы относят по принципу действия к машинам со стесненным ударом, т.е. диспергирование растительного сырья происходит под действием мелющих тел при раздавливании, истирании и ударе [6].

Одним из перспективных для внедрения в медицину видов растительного сырья является береста, скапливающаяся на лесосеках после рубки и на деревообрабатывающих предприятиях в результате окорки древесины и не имеющая промышленного применения [7]. Береста содержит ценные биологически активные вещества: тритерпеновые сапонины, дубильные вещества, флавоноиды, кумарины, терпеноиды и др. [8–10]. Поскольку бетулины и экстракты, полученные из бересты, проявляют широкий спектр биологической активности [10–12], исследования ряда отечественных и зарубежных ученых направлены на поиск путей увеличения выхода БАВ из бересты [2, 7, 13], что подчеркивает актуальность данного исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить зависимость выхода биологически активных веществ из бересты от методов ее измельчения на дисковой, трехвалковой кольцевой и шаровой мельницах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами для исследования служили образцы бересты (внешней части коры) березы повислой (*Betula pendula* Roth.) и березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) семейства березовые (Betulaceae), измельченные на дисковой (ножевой) мельнице (образец № 1), на шаровой мельнице (образец № 2) и на трехвалковой кольцевой мельнице (образец № 3).

material usually do not occur [5]. In ring mills, the ground up material is pressed by rotating rollers (balls) to a stationary or rotating ring liner, and grinding occurs by crushing and abrasion of the material under the influence of the weight of the grinding bodies (rollers or balls), the tension force of springs or centrifugal forces. Ball mills are referred by the principle of operation to machines with a constrained impact, i.e., the dispersion of plant raw material occurs under the action of grinding bodies during crushing, abrasion and impact [6].

One of the most promising types of plant raw material for the introduction into medicine is birch bark, which accumulates in logging areas after logging and at woodworking enterprises as a result of debarking wood and has no industrial application [7]. Birch bark contains valuable BAS: triterpenoid saponins, tannins, flavonoids, coumarins, terpenoids, etc. [8–10]. Since betulins and extracts obtained from birch bark exhibit a wide range of biological activity [10–12], the research of a number of domestic and foreign scientists is aimed at finding ways to increase the yield of BAS from birch bark [2, 7, 13], which emphasizes the relevance of this study.

AIM OF THE RESEARCH

To study the dependence of the yield of BAS from birch bark on the methods of its grinding in disk, three-roll ring and ball mills.

MATERIALS AND METHODS

The objects for the study were samples of birch bark (the outer part of the bark) of silver birch (*Betula pendula* Roth.) and downy birch (*Betula pubescens* Ehrh.) of the birch family (Betulaceae), ground up in a disc (knife) mill (sample 1), in a ball mill (sample 2) and in a three-roll ring mill (sample 3).

The birch bark was ground up in a ball mill using a centrifugal type activator, the AGO-2 mill. Steel balls with a diameter of 6 mm were used as grinding bodies, the loading of the balls was 200 g per 10 g of the processed plant material, the calculated acceleration of the grinding bodies was 200–600 m/s, the calculated processing intensity was 1 W/g, the processing time was 30 min. Conditions for grinding birch bark using a three-roll ring mill: rotation speed was 900 rpm, temperature was 27–28°C, pressure was 40 Hz, productivity was 1 kg of raw material per hour. Birch bark was ground up on ball and three-roll ring mills in the laboratory of the Institute of Solid State Chemistry and Mechanochem-

Измельчение бересты на шаровой мельнице проведено с использованием активатора центробежного типа — мельницы АГО-2. В качестве мелющих тел использовались стальные шары диаметром 6 мм, загрузка шаров — 200 г на 10 г обрабатываемого вещества, расчетное ускорение мелющих тел — 200–600 м/с, расчетная интенсивность обработки — 1 Вт/г, время обработки — 30 мин. Условия измельчения бересты с использованием трехвалковой кольцевой мельницы: скорость вращения — 900 об./мин, температура — 27–28 °С, давление — 40 Гц, производительность — 1 кг сырья/ч. Измельчение бересты на шаровой и трехвалковой кольцевой мельницах проводили в лаборатории Института химии твердого тела и механохимии СО РАН (Академгородок, г. Новосибирск), на дисковой мельнице — на мельнице «Эксцельсиор», широко применяемой в фармацевтическом производстве. Основной деталью данной мельницы являются два вертикально установленных диска, один из которых вращается со скоростью 250–300 об./мин. Поверхность дисков покрыта мелкими зубцами, расположенными по окружности таким образом, чтобы зубцы движущегося диска попадали в промежутки между зубцами неподвижного диска. Производительность при диаметре дисков 400 мм — до 50 кг/ч.

Описание внешних признаков, морфологические и микроскопические исследования, определение экстрактивных веществ (метод 2), влажности проводили в соответствии с Государственной фармакопеей (ГФ) XIV [14].

Микроскопические исследования проводили на микроскопе проходящего и отраженного света Axioskop 2 plus (Zeiss), цифровая камера AxioCam HRc (Zeiss), программное обеспечение AxioVision (Zeiss). Отдельные фрагменты исследований выполнены на люминесцентном микроскопе SteREO Lumar.V12 (Zeiss), цифровая камера CoolSNAP fx с программным обеспечением WinView 32 (Roper Scientific) и на конфокальном сканирующем лазерном микроскопе LSM-510 Meta (Zeiss) при увеличении до 600 раз в проходящем свете в Институте цитологии и генетики СО РАН (Академгородок, г. Новосибирск).

Анализ компонентного состава, количественного содержания БАВ проведен с помощью фармакопейных методик в соответствии с ГФ XIV [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный визуальный анализ образцов бересты, измельченных на дисковой мельнице (образец № 1), шаровой мельнице (образец № 2) и трехвалковой кольцевой мельнице (образец

istry (Akademgorodok, Novosibirsk), on a disk mill — on the Excelsior mill, widely used in pharmaceutical production. The main part of this mill is two vertically mounted disks, one of which rotates at a speed of 250–300 rpm. The surface of the disks is covered with small teeth arranged around the circumference so that the teeth of the moving disk fall into the gaps between the teeth of the stationary disk. Productivity with a disk diameter of 400 mm was up to 50 kg/h.

Description of external signs, morphological and microscopic studies, determination of extractive substances (method 2), humidity were carried out in accordance with State Pharmacopoeia of Russia [14].

Microscopic studies were carried out on the Axioskop 2 plus (Zeiss) transmitted and reflected light microscope, the AxioCam HRc digital camera (Zeiss), the AxioVision software (Zeiss). Individual fragments of the studies were performed on the SteREO Lumar.V12 luminescent microscope (Zeiss), the CoolSNAP fx digital camera with the WinView 32 software (Roper Scientific) and on the confocal scanning laser microscope LSM-510 Meta (Zeiss) at magnification up to 600 times in transmitted light at the Institute of Cytology and Genetics (Akademgorodok, Novosibirsk).

The analysis of the component's composition, the quantitative content of BAS was carried out using pharmacopoeial methods in accordance with the State Pharmacopoeia of Russia [14].

RESULTS AND DISCUSSION

A comparative visual analysis of birch bark samples ground up in a disc mill (sample 1), a ball mill (sample 2) and a three-roll ring mill (sample 3) showed the influence of mechanical pretreatment of raw material on morphological characteristics: birch bark sample 1 is a mixture of pieces of birch bark of various shapes, with a predominance of the fraction passing through a sieve with holes in a diameter of 3 mm. The color of the pieces ranges from white, light beige to beige-brown. The odor is faint, the taste is peculiar, slightly astringent. Birch bark sample 2 is a dense dark brown powder with a predominance of a fraction with a particle size of 0.3 mm, with a faint odor and a bitter astringent taste. Birch bark sample 3 is a dense brown powder with a whitish hue, with a predominance of a fraction with a particle size of 0.3 mm, with a faint odor and a bitter astringent taste (Fig. 1).

Microscopic examination of ground up birch bark samples revealed that the cell structure was not dis-

№ 3), показал влияние механической предобработки сырья на морфологические признаки: образец бересты № 1 представляет собой смесь кусочков бересты различной формы, с преобладанием фракции, проходящей сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм. Цвет кусочков от белого, светло-бежевого до бежево-коричневого. Запах слабый, вкус своеобразный, слегка вязущий. Образец бересты № 2 представляет собой плотный темно-коричневый порошок с преобладанием фракции с размером частиц 0.3 мм, со слабым запахом и горьковатым вязущим вкусом. Образец бересты № 3 — плотный коричневый порошок с белесым оттенком, с преобладанием фракции с размером частиц 0.3 мм, со слабым запахом и горьковатым вязущим вкусом (рис. 1).

При микроскопическом исследовании измельченных образцов бересты было установлено, что в образце № 1 клеточная структура не нарушена: на продольном срезе бересты наблюдаются прозенхимные клетки с заостренными концами и утолщенными стенками (рис. 2, А). В УФ-свете отмечается собственное свечение клеточных стенок, что объясняется присутствием в них веществ фенольной природы (полифенольные соединения) (рис. 2, В, С). В образцах № 2 и 3 при световой микроскопии наблюдаются бесформенные фрагменты материи, что свидетельствует о разрушении стенок клеток (рис. 2, D, G). При наблюдении тех же препаратов в УФ-свете установлено, что светятся не только фрагменты клеточных стенок (рис. 2, F, I), но и включающая их жидкость (рис. 2, E, H), что говорит о том, что фе-

turbed in sample 1: prosenchymatous cells with pointed ends and thickened walls were observed on the longitudinal section of birch bark (Fig. 2, A). In UV light, the cell wall's luminescence is noted, which is explained by the presence of substances of a phenolic nature (polyphenolic compounds) in them (Fig. 2, B, C). In samples 2 and 3, shapeless fragments of matter are observed under light microscopy, which indicates the destruction of the cell walls (Fig. 2, D, G). When observing the same preparations in UV light, it was found that not only fragments of the cell walls glow (Fig. 2, F, I), but also the liquid that includes them (Fig. 2, E, H), which indicates that phenolic compounds are washed out of the destroyed cell walls.

The moisture content in the birch bark samples does not exceed 3%: for sample 1, it is $2.65 \pm 0.05\%$, for sample 2 it is $2.10 \pm 0.04\%$, for sample 3 it is $2.70 \pm 0.07\%$.

In the comparative analysis of the content of extractive substances in the studied birch bark samples, a number of extractants were used as solvent: purified water and ethyl alcohol of various concentrations (96, 80, 70, 40, 20 and 10%). A comparative analysis of the yield of extractive substances, depending on the extractant used, showed that 80% ethyl alcohol is the best for all the studied samples. The content of extractive substances for sample 1 is 29.96%, for sample 2 is 36.85%, for sample 3 is 30.88%. The highest yield of extractive substances was established for a sample of birch bark ground up in a ball mill (sample 2) (Fig. 3).

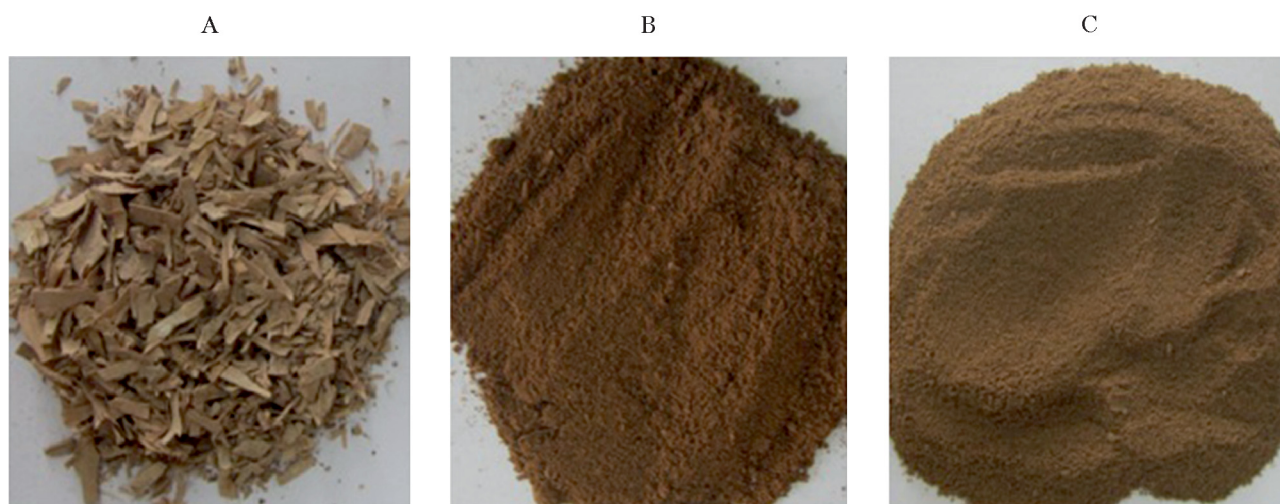


Рис. 1. Влияние методов измельчения на морфологическую структуру образцов бересты: А — образец № 1, измельченный на дисковой мельнице; В — образец № 2, измельченный на шаровой мельнице; С — образец № 3, измельченный на трехвалковой кольцевой мельнице

Fig. 1. The influence of grinding methods on morphological structure of birch bark samples: A — sample 1, ground up in a disc mill; B — sample 2, ground up in a ball mill; C — sample 3, ground up in a three-roll ring mill

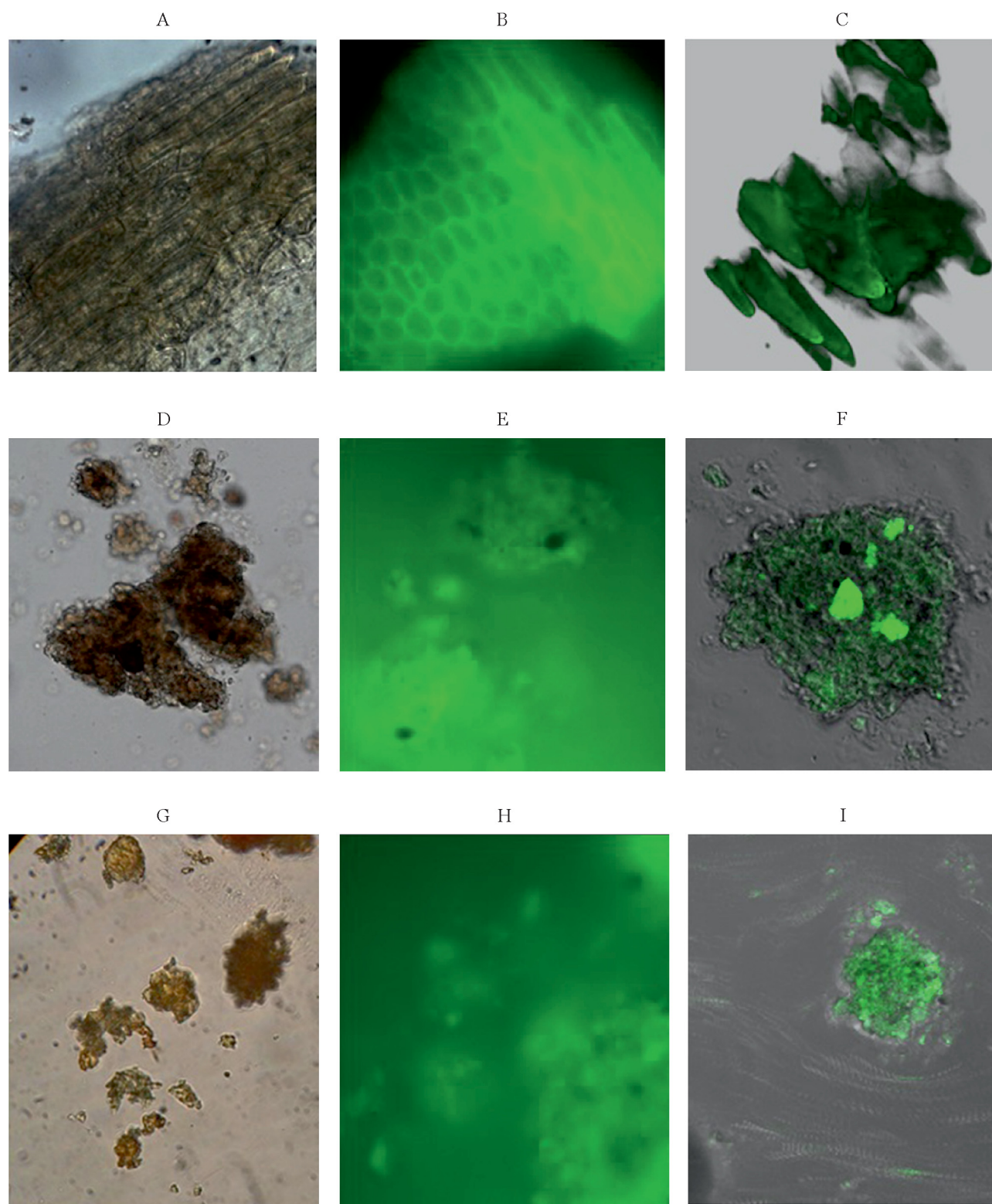


Рис. 2. Фрагменты микроскопической структуры образцов бересты. Образец № 1 (А, В, С), образец № 2 (D, E, F), образец № 3 (G, H, I) (А, D, G — световой микроскоп; В, Е, H — люминесцентный микроскоп; С, F, I — конфокальный сканирующий лазерный микроскоп). А, В, D–I — увеличение $\times 400$, С — $\times 600$
Fig. 2. Fragments of the microscopic structure of birch bark samples. Sample 1 (А, В, С), sample 2 (D, E, F), sample 3 (G, H, I) (А, D, G — light microscope; В, Е, H — fluorescent microscope; С, F, I — confocal scanning laser microscope). А, В, D–I — magnification $\times 400$, С — magnification $\times 600$

нольные соединения вымываются из разрушенных клеточных стенок.

Содержание влаги в исследуемых образцах бересты не превышает 3 %: для образца № 1 оно составляет 2.65 ± 0.05 %, для образца № 2 — 2.10 ± 0.04 %, для образца № 3 — 2.70 ± 0.07 %.

При сравнительном анализе содержания экстрактивных веществ в исследуемых образцах бересты в качестве экстрагентов использовали ряд растворителей: воду очищенную и спирт этиловый различной концентрации (96, 80, 70, 40, 20 и 10 %). Сравнительный анализ выхода экстрактивных веществ в зависимости от используемого экстрагента показал, что наилучшим для всех исследуемых образцов является 80% спирт этиловый. Содержание экстрактивных веществ для образца № 1 — 29.96 %, для образца № 2 — 36.85 %, для образца № 3 — 30.88 %. Наибольший выход экстрактивных веществ установлен для образца бересты, измельченного в шаровой мельнице (образец № 2) (рис. 3).

При проведении общего фитохимического анализа в исследуемых образцах бересты установлено присутствие тритерпеновых сапонинов, гидроксикоричных кислот, кумаринов, дубильных веществ (преимущественно гидролизуемой группы). По составу основных групп БАВ исследуемые образцы бересты не различались.

Сравнительный анализ влияния методов измельчения бересты на выход БАВ из нее выявил,

During the general phytochemical analysis, the presence of triterpene saponins, hydroxycinnamic acids, coumarins, tannins (mainly of the hydrolyzable group) was found in the studied birch bark samples. The studied birch bark samples did not differ in the composition of the main groups of BAS.

A comparative analysis of the effect of birch bark grinding methods on the yield of BAS from it revealed that the smallest amount of BAS is extracted from birch bark samples ground up on a disc (knife) mill, the largest — from samples ground up a ball mill, and samples ground up on a three-roll disc mill occupy an intermediate position (Fig. 4). Microscopic studies of ground up birch bark samples showed that particles of raw material of sample 1 passing through a sieve with a hole diameter of 1 mm or less retain their cellular structure (see Fig. 2, A). It is known that the extraction of plant objects (birch bark in particular) in order to isolate BAS is a mass-exchange process complicated by the capillary-porous structure of objects, and the yield of bioactive agents is directly dependent on the particle size of the raw material [4]. The cellular structure of samples 2 and 3 is broken (Fig. 2, D, G), which explains the greater yield of BAS from them (see Fig. 4).

The highest yield of BAS was noted for birch bark samples ground up in a ball mill. When grinding plant material in ball mills — under conditions of intensive mechanochemical action (crushing, abrasion

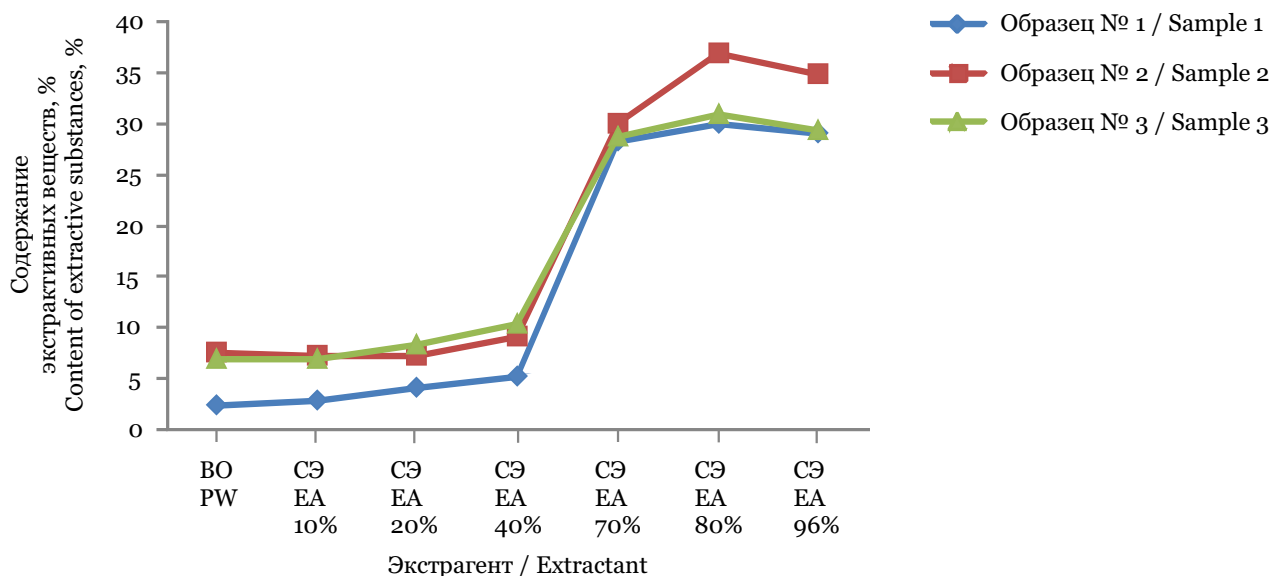


Рис. 3. Динамика содержания экстрактивных веществ в образцах бересты в зависимости от методов ее измельчения и используемого экстрагента (в %, в пересчете на абсолютно-сухое сырье;

ВО — вода очищенная; СЭ — спирт этиловый)

Fig. 3. Dynamics of the content of extractive substances in birch bark samples depending on the grinding methods and the extractant used (% , in terms of absolutely dry raw material; PW — purified water; EA — ethyl alcohol)

что наименьшее количество БАВ извлекается из образцов бересты, измельченных на дисковой (ножевой) мельнице, наибольшее — из образцов, измельченных на шаровой мельнице, а образцы, измельченные на трехвалковой дисковой мельнице, занимают промежуточное положение (рис. 4). Микроскопические исследования измельченных образцов бересты показали, что частицы сырья образца № 1, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм и менее, сохраняют свою клеточную структуру (см. рис. 2, А). Известно, что экстрагирование растительных объектов (бересты в частности) с целью выделения БАВ является мас-

and impact) — high rates of load changes on the raw plant material are realized, while the structure and texture of the material undergoes radical changes — the cell walls of not only parenchymal cells, but also cells of mechanical tissues are destroyed. Changes are observed not only in the anatomical and morphological structure of the ground up plant material, but also in the structure of polymer compounds (polyphenolic substances). There is an increase in excess free energy, a break of intermolecular bonds that stabilize the supramolecular structure, a change in the valence angles and intermolecular distances of polymer chains, a weakening of crystallinity (mechano-

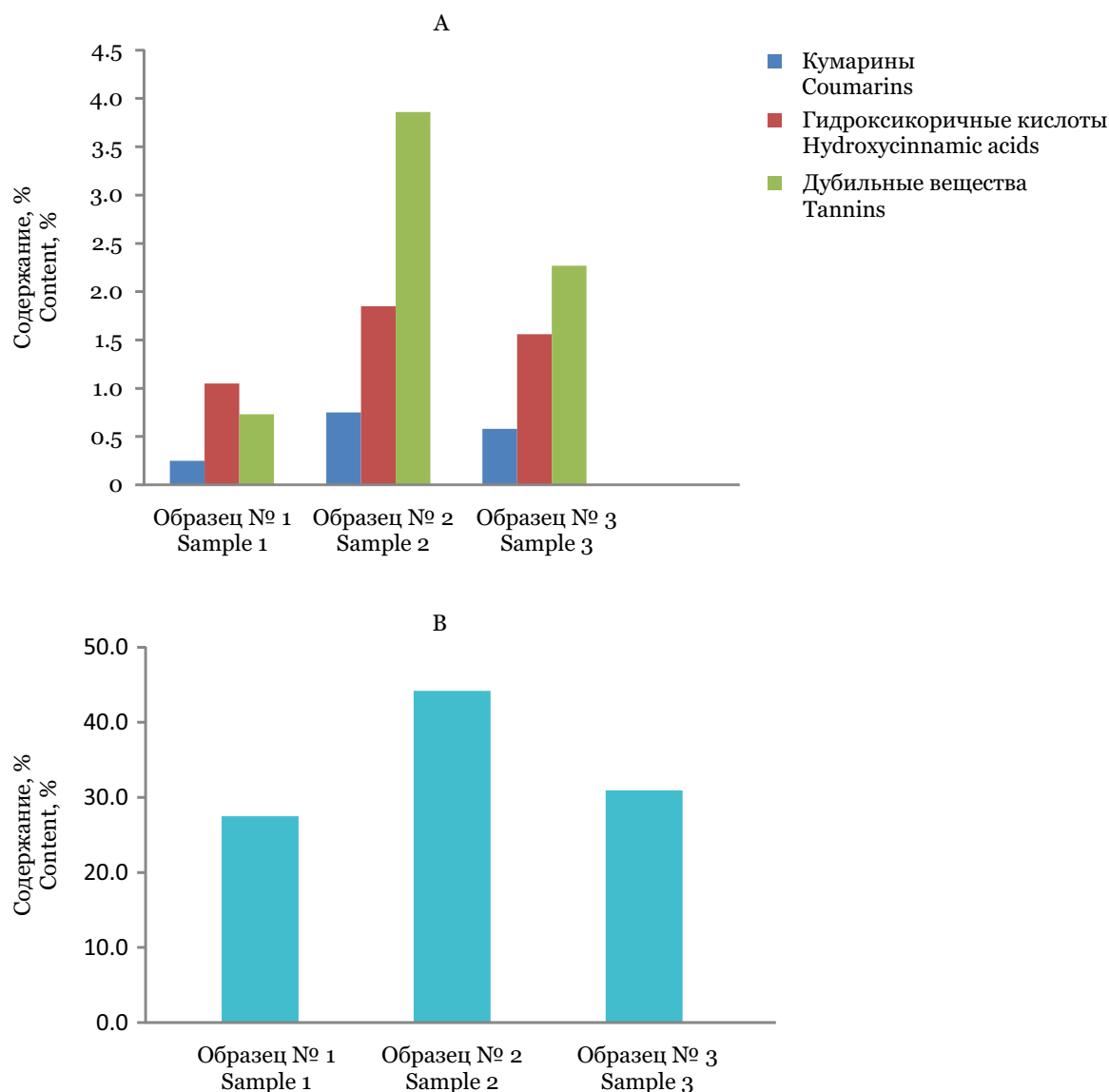


Рис. 4. Динамика содержания основных групп биологически активных веществ в образцах бересты в зависимости от методов ее измельчения (в %, в пересчете на абсолютно-сухое сырье):

А — кумарины, гидроксикоричные кислоты и дубильные вещества; В — тритерпеновые сапонины

Fig. 4. Dynamics of the content of the main groups of BAS in birch bark samples, depending on the grinding methods (% in terms of absolutely dry raw material): А — coumarins, hydroxycinnamic acids and tannins; В — triterpene saponins

сообменным процессом, осложненным капиллярно-пористой структурой объектов, и выход БАВ находится в прямой зависимости от размера частиц сырья [4]. Клеточная структура образцов № 2 и 3 нарушена (рис. 2, D, G), что и объясняет больший выход из них БАВ (см. рис. 4).

Наибольший выход БАВ отмечен для образцов бересты, измельченных на шаровой мельнице. При измельчении растительного материала в шаровых мельницах — в условиях интенсивного механохимического воздействия (раздавливания, истирания и удара) — реализуются большие скорости изменения нагрузки на исходное растительное сырье, при этом структура и текстура материала претерпевает радикальные изменения — разрушаются клеточные стенки не только паренхимных клеток, но и клеток механических тканей. Изменения наблюдаются не только в анатомо-морфологическом строении измельчаемого растительного материала, но и в структуре полимерных соединений (полифенольных окисляемых веществ). Происходит увеличение избыточной свободной энергии, разрыв межмолекулярных связей, стабилизирующих надмолекулярную структуру, изменение валентных углов и межмолекулярных расстояний полимерных цепей, ослабление кристалличности (механохимическая дезинтеграция) [2, 15]. Этими структурными и химическими изменениями и объясняется больший выход экстрактивных веществ и БАВ из образца № 2, так как при экстрагировании извлекаются не только свободные и низкомолекулярные природные соединения, но и полимерные и ранее связанные БАВ.

В случае измельчения образцов на трехвалковой кольцевой мельнице на бересту в основном воздействуют усилия раздавливания и истирания, т.е. происходит более «мягкая обработка» материала, если сравнивать с измельчением в шаровой мельнице, однако при этом клеточная структура образца утрачивается, что также влечет повышение выхода экстрактивных веществ и БАВ при экстрагировании (см. рис. 3, 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования свидетельствуют о значительном влиянии методов измельчения

chemical disintegration) [2, 15]. These structural and chemical changes explain the greater yield of extractive substances and BAS from sample 2, since during extraction not only free and low-molecular-weight natural compounds are extracted, but also polymer and previously bound BAS.

In the case of grinding samples on a three-roll ring mill, the birch bark is mainly affected by crushing and abrasion forces, i.e., there is a more “soft processing” of the material, if compared with grinding in a ball mill, but the cellular structure of the sample is lost, which also leads to an increase in the yield of extractive substances and BAS during extraction (see Fig. 3, 4).

CONCLUSION

The conducted studies indicate a significant influence of grinding methods of birch bark on the yield of BAS from it during further extraction. When using grinding methods that do not lead to the destruction of cell walls, the yield of BAS is limited by the capillary-porous structure of birch bark. When using grinding methods that cause the destruction of cell walls, the greatest yield of BAS from birch bark is observed in the case of using a more severe influence on it, including not only the forces of abrasion, crushing, but also impact.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

бересты на выход БАВ из нее при дальнейшем экстрагировании. При использовании методов измельчения, не приводящих к разрушению клеточных стенок, выход БАВ лимитируется капиллярно-пористой структурой бересты. При использовании методов измельчения, вызывающих разрушение клеточных стенок, наибольший выход БАВ из бересты наблюдается в случае использования более жесткого воздействия на нее, включающего не только усилия истирания, раздавливания, но и удара.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голязимова О.В., Политов А.А., Ломовский О.И. Увеличение эффективности измельчения лигноцеллюлозного растительного сырья с помощью химической обработки // Химия растительного сырья. 2009. № 2. С. 53–57.

REFERENCES

1. Golyazimova O.V., Politov A.A., Lomovskiy O.I. (2009). Increasing the efficiency of grinding lignocellulose plant raw material by chemical processing. *Chemistry of Plant Raw Materials*, 2, 53–57. In Russ.

2. Бычков А.Л., Ломовский О.И. Современные достижения в механоферментативной переработке растительного сырья // Химия растительного сырья. 2017. № 2. С. 35–47.
3. Кузнецова О.Ю., Абдуллин И.Ш., Шаехов М.Ф., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Оптимизация предварительной обработки лекарственного сырья ВЧЕ-плазмой перед экстракцией // Уч. зап. Казанск. ун-та. Серия: Естественные науки. 2016. Т. 158, кн. 2. С. 197–206.
4. Коптелова Е.Н., Кутакова Н.А., Третьяков С.И. Исследование кинетики массопереноса в процессе экстрагирования бересты // Лесной журнал. 2013. № 4. С. 119–128.
5. Алашкевич Ю.Д., Ковалев В.И. Размалывающая гарнитура для дисковой мельницы: Патент РФ № 2 649 145. Патентообладатель СибГУ им. М.Ф. Решетнева. 2018. Бюл. № 10. 8 с.
6. Касаткин А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологии. М.: Альянс, 2004. 751 с.
7. Кузнецов Б.Н., Кузнецова С.А., Левданский В.А., Судакова И.Г., Веселова О.Ф. Совершенствование методов выделения, изучения состава и свойств экстрактов березовой коры // Химия в интересах устойчивого развития. 2005. Т. 13, № 3. С. 391–400.
8. Абышев А.З., Агаев Э.М., Гусейнов А.Б. Исследование химического состава экстракта коры березы *cortex Betula* сем. Betulaceae // Хим.-фармацевт. журн. 2007. Т. 41, № 8. С. 22–26.
9. Кислицын А.Н. Экстрактивные вещества бересты: выделение, состав, свойства, применение // Химия древесины. 1994. № 3. С. 3–28.
10. Лигостаева Ю.В. Фармакогностическое исследование бересты и перспективы ее использования в медицине: дис. ... канд. фармацевт. наук. Самара, 2015. 201 с.
11. Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., Малиар Ю.Н., Скурыдина Е.С., Веселова О.Ф. Выделение бетулина из бересты березы и изучение его физико-химических и фармакологических свойств // Химия растительного сырья. 2013. № 2. С. 93–100.
12. Лаврова Л.Ю., Якутова И.А., Усов Г.А. Механоактивированные органопорошки — биокорректоры питания // Интеграция науки, образования и производства — стратегия развития инновационной экономики: материалы I междунар. науч.-практ. конф. (г. Екатеринбург, 2011). Екатеринбург: Изд-во Уральск. гос. эконом. ун-та, 2011. Ч. 1. С. 167–169.
13. Paže A., Zandersons J., Rižikovs J. et al. Apparatus and selective solvents for extraction of triterpenes from silver birch (*Betula pendula* Roth.) outer bark // Baltic Forestry. 2014. Vol. 20 (1). P. 88–97.
14. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. 2018. Т. 2. URL: www.femb.ru/femb/pharmacopea.php. Дата обращения: 19.05.2021.
15. Ошкордин О.В., Лаврова Л.Ю., Усов Г.А. Кинетика и динамика измельчения растительного сырья для производства пищевых продуктов // Ползуновский вестн. 2011. № 2/2. С. 202–206.
2. Bychkov A.L., Lomovskiy O.I. (2017). Current achievements in the mechano-enzymatic processing of plant raw material. *Chemistry of Plant Raw Materials*, 2, 35–47. In Russ.
3. Kuznetsova O.Yu., Abdullin I.Sh., Shaekhov M.F., Ziyatdinova G.K., Budnikov G.K. (2016). Optimizing pretreatment of medicinal plant raw material by radio-frequency plasma before extraction. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta*, 158, 2, 197–206. In Russ.
4. Koptelova E.N., Kutakova N.A., Tretyakov S.I. (2013). Study of mass transfer kinetics during birch bark extraction. *Russ. Forestry Journal*, 4, 119–128.
5. Alashkevich Yu.D., Kovalev V.I. (2018). Grinding set for disc mill: Patent RF No. 2649145. Patent holder of Reshetnev Siberian State University of Science and Technology, Bull. 10. 8 p. In Russ.
6. Kasatkin A.G. (2004). *The Main Processes and Apparatuses of Chemical Technology*. Moscow: Alliance, 751 p.
7. Kuznetsov B.N., Kuznetsova S.A., Levdansky V.A., Sudakova I.G., Veselova O.F. (2005). Improvement of extraction methods and studying the composition and properties of birch bark extracts. *Chemistry for Sustainable Development*, 13, 3, 391–400.
8. Abyshv A.Z., Agaev E.M., Huseynov A.B. (2007). Study of the chemical composition of birch bark extract *cortex Betula* fam. Betulaceae. *Khimico-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 41, 8, 22–26. In Russ.
9. Kislitsyn A.N. (1994). Extractive substances of birch bark: extraction, composition, properties, application. *Wood Chemistry*, 3, 3–28. In Russ.
10. Ligostaeva Yu.V. (2015). *Pharmacognostic study of birch bark and prospects for its use in medicine*. Cand. Sci. (Pharmaceut.) dissertation. Samara, 201 p. In Russ.
11. Kuznetsova S.A., Skvortsova G.P., Maliar Yu.N., Skurydina E.S., Veselova O.F. (2013). Extraction betulin from birch bark and study of its physicochemical and pharmacological properties. *Chemistry of Plant Raw Materials*, 2, 93–100. In Russ.
12. Lavrova L.Yu., Yakutova I.A., Usov G.A. (2011). Mechano-activated organic powders — biocorrectors of nutrition. Integration of Science, Education and Production — Strategy for the Development of An Innovative Economy: Materials of the I International Scientific and Practical Conference. Yekaterinburg: Ural State Economical University Publishing, 1, 167–169. In Russ.
13. Paže A., Zandersons J., Rižikovs J. et al. (2014). Apparatus and selective solvents for extraction of triterpenes from silver birch (*Betula pendula* Roth.) outer bark. *Baltic Forestry*, 20 (1), 88–97. In Russ.
14. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. (2018). 14th ed., 2. Retrieved on May 19, 2021 from www.femb.ru/femb/pharmacopea.php.
15. Oshkordin O.V., Lavrova L.Yu., Usov G.A. (2011). Kinetics and dynamics of grinding plant raw material for food production. *Polzunovskiy Vestnik*, 2/2, 202–206. In Russ.

ABOUT THE AUTHORS

Ligostaeva Yulya Valeryevna — Cand. Sci. (Pharmaceut.), Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лигостаева Юлия Валерьевна — канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Ханина Миниса Абдуллаевна — д-р фармацевт. наук, заведующий кафедрой химии ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (Орехово-Зуево).

Грек Олег Рувимович — д-р мед. наук, профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Родин Анатолий Петрович — канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (Орехово-Зуево).

Образец цитирования: Лигостаева Ю.В., Ханина М.А., Грек О.Р., Родин А.П. Влияние методов измельчения бересты на выход биологически активных веществ // Journal of Siberian Medical Sciences. 2021. № 3. С. 14–24.

Khanina Minisa Abdullayevna — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Head, Department of Chemistry, State University of Humanities and Technology (Orekhovo-Zuevo).

Grek Oleg Ruvimovich — Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-based Medicine, Novosibirsk State Medical University.

Rodin Anatoly Petrovich — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines, State University of Humanities and Technology (Orekhovo-Zuevo).

Citation example: Ligostaeva Yu.V., Khanina M.A., Grek O.R., Rodin A.P. (2021). Influence of grinding methods of birch bark on the yield of biologically active substances. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 14–24.



Влияние пчелиного яда и гипертермии на липопероксидацию и антиоксидантную активность крови животных-опухоленосителей

Шабалин М.А.¹, Дерюгина А.В.¹, Назарова В.В.¹, Грачева Е.А.¹, Лизунова А.С.²

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (Нижний Новгород)

²ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России

The effect of bee venom and hyperthermia on the lipoperoxidation and antioxidant activity of the blood of tumor-bearing animals

Shabalin M.A.¹, Deryugina A.V.¹, Nazarova V.V.¹, Gracheva E.A.¹, Lizunova A.S.²

¹Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

²Ryazan State Medical University n.a. academician I.P. Pavlov

АННОТАЦИЯ

Введение. На сегодняшний день показано, что одним из возможных путей повышения эффективности лечения злокачественных опухолей является применение комбинированных методов лечения.

Цель. Изучить интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность супероксиддисмутазы (СОД) при гипертермии на фоне действия пчелиного яда в крови крыс-опухоленосителей.

Материалы и методы. Экспериментальные животные были разделены на 5 групп: 1-я — интактные; 2-я — контроль (животные-опухоленосители (опухолевый штамм РС-1) с внутрибрюшинным (в/б) введением физиологического раствора); 3-я, 4-я и 5-я группы — животные-опухоленосители с в/б введением 0.5 мл р-ра пчелиного яда на фоне гипертермии 42, 43 и 44 °С соответственно. Определяли содержание в крови животных диеновых и триеновых конъюгатов, оснований Шиффа (ОШ) и активности СОД.

Результаты. С 1-х суток после окончания эксперимента регистрировалось статистически значимое снижение триеновых конъюгатов во всех опытных группах по сравнению с группой контроля. ОШ снижались на 1–7-е сутки после окончания эксперимента при действии гипертермии 42 °С и пчелиного яда, на 7–28-е сутки — при действии гипертермии 43 °С и пчелиного яда и на 28-е сутки — при действии пчелиного яда и гипертермии 44 °С, что сопровождалось ростом активности СОД с 7-х суток во всех опытных группах по сравнению с группой контроля.

Заключение. Гипертермия в комбинации с действием пчелиного яда обуславливает снижение продуктов липопероксидации и рост антиоксидантной активности в крови крыс-опухоленосителей. Наиболее эффективным действием, на наш взгляд, обладает использование пчелиного яда на фоне гипертермии 43 °С, при которой регистрируется пролонгированное действие как в отношении снижения концентрации ОШ, так и роста активности СОД.

Ключевые слова: гипертермия, пчелиный яд, антиоксидантная система, супероксиддисмутаза, прооксидантная система, животные-опухоленосители.

Поступила 05.02.2021

Принята 15.03.2021

Автор, ответственный за переписку

Лизунова Алла Сергеевна: ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России. 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9.
E-mail: lizunova-alla@mail.ru

Received 05.02.2021

Accepted 15.03.2021

Corresponding author

Lizunova Alla Sergeevna: Ryazan State Medical University n.a. academician I.P. Pavlov, 9, Vysokovoltynaya str., Ryazan, 390026, Russia.
E-mail: lizunova-alla@mail.ru

ABSTRACT

Introduction. Nowadays, it has been shown that one of the possible ways to increase the effectiveness of the treatment of malignant tumors is the use of combined treatment methods.

Aim. To study the intensity of lipid peroxidation (LPO) and the activity of superoxide dismutase (SOD) in hyperthermia against the background of bee venom in the blood of tumor-bearing rats.

Materials and methods. The experimental animals were divided into 5 groups: 1st — intact; 2nd — control (tumor-bearing animals (PS-1 tumor strain) with intraperitoneal (IP) administration of saline solution); 3rd, 4th and 5th groups — tumor-bearing animals with IP administration of 0.5 ml of bee venom against the background of hyperthermia 42, 43 and 44°C respectively. The content of diene and triene conjugates, Schiff bases (SB) and SOD activity in the blood of animals was determined.

Results. From the 1st day after the end of the experiment, a statistically significant decrease in triene conjugates was recorded in all experimental groups compared to the control group. SB decreased on the 1st–7th day after the end of the experiment with the action of hyperthermia 42°C and bee venom, on the 7th–28th day — with the action of hyperthermia 43°C and bee venom, and on the 28th day — with the action of bee venom and hyperthermia 44°C, which was accompanied by an increase in SOD activity from the 7th day in all experimental groups compared to the control group.

Conclusion. Hyperthermia in combination with the action of bee venom causes a decrease in lipid peroxidation products and an increase in antioxidant activity in the blood of tumor-bearing rats. The most effective action, in our opinion, is the use of bee venom against the background of hyperthermia of 43°C, at which a prolonged effect is recorded both with respect to a decrease in the concentration of SB and an increase in the activity of SOD.

Keywords: hyperthermia, bee venom, antioxidant system, superoxide dismutase, prooxidant system, tumor-bearing animals.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие опухолевого процесса сопровождается значительным увеличением в плазме крови продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1]. При этом естественная антиоксидантная система организма оказывается перегруженной и бывает не в состоянии инактивировать огромное количество свободных радикалов, что влечет за собой повышенный риск опухолевого роста [2].

Общая гипертермия организма относится к факторам, оказывающим угнетающее действие на рост опухоли [3]. При воздействии общей гипертермии происходит усиление окислительно-метаболической функции лейкоцитов крови и клеток костного мозга, что может оказывать позитивный эффект при опухолевых процессах. Однако усиление окислительного потенциала приводит к негативным последствиям в здоровых клетках организма [4]. В свою очередь, пчелиный яд, как и любой другой раздражитель (стрессор), способен вызывать в организме развитие стандартных приспособительных (неспецифических) реакций [5]. В малых концентрациях пчелиный яд выступает в качестве адаптогена [6, 7]. В связи с указанным важным представляется исследование совместного применения гипертермии и пчелиного яда у животных-опухоленосителей.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить интенсивность перекисного окисления липидов и активность супероксиддисмутазы

INTRODUCTION

The development of the tumor process is accompanied by a significant increase in the blood plasma of lipid peroxidation products (LPO) [1]. At the same time, the body's natural antioxidant system is overloaded and is unable to inactivate a huge amount of free radicals, which entails an increased risk of tumor growth [2].

Whole-body hyperthermia refers to factors that have a depressing effect on tumor growth [3]. When exposed to whole-body hyperthermia, the oxidative-metabolic function of blood leukocytes and bone marrow cells increases, which can have a positive effect in tumor processes. However, an increase in the oxidative potential leads to negative consequences in healthy cells of the body [4]. In turn, bee venom, like any other irritant (stressor), is able to cause the development of standard adaptive (non-specific) reactions in the body [5]. In low concentrations, bee venom acts as an adaptogen [6, 7]. In this regard, it is important to study the course of hyperthermia and bee venom in tumor-bearing animals.

AIM OF THE RESEARCH

To study the intensity of lipid peroxidation and the activity of superoxide dismutase (SOD) in hyperthermia against the background of the action of bee venom in the blood of tumor-bearing rats.

(СОД) при гипертермии на фоне действия пчелиного яда в крови крыс-опухоленосителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали крыс-опухоленосителей линии SD, массой 200–250 г. Животные были разделены на 5 групп (по 5 особей в каждой):

1. Интактные.
2. Контроль (животные-опухоленосители с внутрибрюшинным (в/б) введением 0.5 мл физиологического раствора).
3. Опыт 1 (животные-опухоленосители с в/б введением 0.5 мл раствора пчелиного яда при гипертермии 42 °C).
4. Опыт 2 (животные-опухоленосители с в/б введением 0.5 мл раствора пчелиного яда при гипертермии 43 °C).
5. Опыт 3 (животные-опухоленосители с в/б введением 0.5 мл раствора пчелиного яда при гипертермии 44 °C).

Опухолевый штамм PC-1 (30 % взвеси опухолевых клеток в растворе Хенкса), полученный в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.И. Блохина, перевивали подкожно в паховую область. Спустя 14 сут животных вводили в эксперимент. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к корму. Эксперименты проводились в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях (1986 г.), с учетом этических норм обращения с животными и отвечали требованиям Общества защиты животных [8].

Для увеличения адаптационных возможностей организма экспериментальных животных к гипертермии использовали раствор яда пчелы медоносной (фармакопейная статья 42-26583-89 «Яд пчелиный») в объеме 0.5 мл 0.9% физиологического раствора и дозе 0.5 мг/кг, который вводился внутрибрюшинно за 15 мин до начала гипертермического воздействия [6], проводившегося в климатической камере с автоматической стабилизацией температуры. Животным проводили сеансы общей гипертермии, достигая температуры тела 42, 43 и 44 °C. Ректальную температуру измеряли с помощью термометра медицинского ТПЭМ-1. Продолжительность экспериментального воздействия составляла 7 сут.

Кровь у экспериментальных животных забирали из подъязычной вены в пробирки с антикоагулянтном на 1, 7, 28-е сутки после проведения эксперимента. В крови определяли содержание

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте, SD tumor-bearing rats were used, weighing 200–250 g. The animals were divided into 5 groups (5 individuals each):

1. Intact.
2. Control (tumor-bearing animals with intraperitoneal (IP) administration of 0.5 ml of saline solution).
3. Experiment 1 (tumor-bearing animals with IP administration of 0.5 ml of bee venom solution at 42°C hyperthermia).
4. Experiment 2 (tumor-bearing animals with IP administration of 0.5 ml of bee venom solution with hyperthermia of 43°C).
5. Experiment 3 (tumor-bearing animals with IP administration of 0.5 ml of bee venom solution with hyperthermia of 44°C).

The PC-1 tumor strain (30% of the suspension of tumor cells in Hanks' solution), obtained at the NN Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, was transplanted subcutaneously into the inguinal region. After 14 days, the animals were introduced into the experiment. The animals were kept in standard vivarium conditions with free access to feeding stuff. The experiments were conducted in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purpose (1986), taking into account the ethical standards of animal treatment and met the requirements of the World Animals Protection [8].

To increase the adaptive capabilities of the body of experimental animals to hyperthermia, a solution of honey bee venom (pharmacopoeia article 42-26583-89 "Bee venom") was used in a volume of 0.5 ml of 0.9% saline solution and a dose of 0.5 mg/kg, which was administered intraperitoneally 15 min before the onset of hyperthermic exposure [6], carried out in a climate chamber with automatic temperature stabilization. The animals underwent sessions of whole-body hyperthermia, reaching body temperatures of 42, 43 and 44°C. Rectal temperature was measured using a TPЭM-1 medical thermometer. The duration of the experimental exposure was 7 days.

Blood from experimental animals was taken from the sublingual vein into tubes with anticoagulant on the 1st, 7th, 28th day after the experiment. The content of diene and triene conjugates (DC and TC), Schiff bases (SB) [9] and the activity of SOD indicators [10] were determined in the blood. The content of these indicators was expressed in arbitrary units.

The obtained data were processed using BIO-STAT (Analystsoft, USA) and Excel (Microsoft, USA) application software packages using the Student's t-

диеновых и триеновых конъюгатов (ДК и ТК), оснований Шиффа (ОШ) [9] и активность показателей СОД [10]. Содержание указанных показателей выражалось в относительных условных единицах.

Полученные данные были обработаны с помощью пакетов прикладных программ BIOSTAT (Analystsoft, США) и Excel (Microsoft, США) с использованием критерия Стьюдента для множественных сравнений. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — стандартная ошибка среднего. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0.05$ [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первые сутки после терапии было отмечено статистически значимое увеличение содержания ДК в контрольной и во всех опытных группах по сравнению с интактной группой (табл. 1). Рост концентрации ДК в опытных группах наблюдался на всем протяжении исследования. На 7–28-е сутки (кроме группы «Опыт 1» в 1-е сутки) содержание ДК было статистически значимо выше по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе. Менее выраженная динамика роста содержания ДК была зарегистрирована при действии пчелиного яда и гипертермии 42 °C (Опыт 1).

В отличие от ДК содержание ТК во всех опытных группах было снижено на 1-е сутки исследования относительно группы контроля, в которой значения показателя были выше значений интактной группы на протяжении всего срока наблюдения (табл. 2). На 7-е сутки после терапии в группах «Опыт 1» и «Опыт 2» сохранялось снижение уровня ТК относительно значений группы контроля. В группе «Опыт 3» на 7-е сутки было

test for multiple comparisons. The results are presented in the form $M \pm m$, where M is the arithmetic mean, m is the standard error of the mean. The differences were considered significant at the significance level $p < 0.05$ [11].

RESULTS AND DISCUSSION

On the first day after therapy, a statistically significant increase in the DC content was observed in the control and in all experimental groups compared to the intact group (Table 1). Throughout the study, an increase in the DC concentration was observed in the experimental groups. On the 7th–28th day (with the exception of the Experience 1 group on the 1st day), the content of DC was statistically significantly higher compared to the same indicator in the control group. A less pronounced dynamics of the growth of the DC content was recorded under the action of bee venom and hyperthermia of 42°C (Experiment 1).

In contrast to DC, the TC content in all experimental groups was reduced on the 1st day of the study relative to the control group, in which the values of the indicator were higher than the values of the intact group throughout the entire follow-up period (Table 2). On the 7th day after therapy, the TC level decreased relative to the values of the control group in the Experiment 1 and Experiment 2 groups. In the Experiment 3 group on the 7th day, a sharp increase in the content of TC was noted compared to the control and intact groups. On the 28th day, a decrease in the TG content was noted in the group of animals with hyperthermia of 44°C and the introduction of bee venom (Experiment 3).

The level of end products of LPO (SB) on the 1st day increased in the control and experimental groups with hyperthermia of 43 and 44°C compared with the intact group (Table 3). On the contrary, by

Таблица 1. Изменение содержания ДК в крови крыс-опухоленосителей при действии пчелиного яда и гипертермии (усл. ед.)

Table 1. Changes in the content of DC in the blood of tumor-bearing rats under the action of bee venom and hyperthermia (arbitrary units)

Группа / Group	1-е сутки / 1 st day	7-е сутки / 7 th day	28-е сутки / 28 th day
Интактные / Intact	0.071 ± 0.06	0.072 ± 0.06	0.177 ± 0.01
Контроль / Control	0.133 ± 0.01*	0.163 ± 0.01*	0.279 ± 0.05*
Опыт 1 / Experiment 1	0.279 ± 0.05*	0.173 ± 0.09*	0.475 ± 0.11**
Опыт 2 / Experiment 2	0.124 ± 0.03**	0.201 ± 0.08**	0.732 ± 1.15**
Опыт 3 / Experiment 3	0.134 ± 0.01*	0.822 ± 0.14**	0.771 ± 0.68**

* Статистически значимые различия по отношению к группе «Интактные» ($p < 0.05$).
Statistically significant differences in relation to the Intact group ($p < 0.05$).

* Статистически значимые различия по отношению к группе «Контроль» ($p < 0.05$).
Statistically significant differences in relation to the Control group ($p < 0.05$).

Таблица 2. Изменение содержания ТК в крови крыс-опухоленосителей при действии пчелиного яда и гипертермии (усл. ед.)**Table 2.** Changes in the TC content in the blood of tumor-bearing rats under the action of bee venom and hyperthermia (arbitrary units)

Группа / Group	1-е сутки / 1 st day	7-е сутки / 7 th day	28-е сутки / 28 th day
Интактные / Intact	0.075 ± 0.03	0.013 ± 0.01	0.024 ± 0.01
Контроль / Control	0.181 ± 0.01*	0.204 ± 0.06*	0.176 ± 0.02*
Опыт 1 / Experiment 1	0.022 ± 0.02*	0.104 ± 0.01**	0.465 ± 0.58**
Опыт 2 / Experiment 2	0.125 ± 0.01**	0.160 ± 0.01**	0.445 ± 1.77**
Опыт 3 / Experiment 3	0.158 ± 0.01**	0.892 ± 0.04**	0.048 ± 0.03

* Статистически значимые различия по отношению к группе «Интактные» ($p < 0.05$).Statistically significant differences in relation to the Intact group ($p < 0.05$).* Статистически значимые различия по отношению к группе «Контроль» ($p < 0.05$).Statistically significant differences in relation to the Control group ($p < 0.05$).

отмечено резкое увеличение содержания ТК по сравнению с контрольной и интактной группами. На 28-е сутки было отмечено снижение содержания ТК в группе животных с гипертермией 44 °С и введением пчелиного яда (Опыт 3).

Уровень конечных продуктов ПОЛ (ОШ) в 1-е сутки вырос в контрольной и опытных группах с гипертермией 43 и 44 °С по сравнению с интактной группой (табл. 3). Напротив, к 7-м суткам во всех опытных группах было выявлено снижение ОШ относительно значений интактной и контрольной групп. К 28-м суткам увеличение показателя было зарегистрировано только в группе с гипертермией 42 °С и введением пчелиного яда.

Активность СОД в контрольной группе возросла к 1–7-м суткам со значительным падением к 28-м суткам относительно интактной группы. В опытных группах регистрировался рост активности фермента к 7-м суткам относительно контрольной и интактной групп. Наиболее значимые изменения регистрировались при действии пчелиного яда и гипертермии 42 и 43 °С. К 28-м

the 7th day, a decrease in SB was detected in all experimental groups relative to the values of the intact and control groups. By the 28th day, an increase in the indicator was registered only in the group with hyperthermia of 42°C and the introduction of bee venom.

The activity of SOD in the control group increased by the 1st–7th day with a significant drop by the 28th day relative to the intact group. In the experimental groups, an increase in the activity of the enzyme was recorded by the 7th day relative to the control and intact groups. The most significant changes were registered under the action of bee venom and hyperthermia of 42 and 43°C. By the 28th day, the increased activity of SOD was observed in all experimental groups with bee venom and hyperthermia compared to the control (Table 4).

The results of the study showed that against the background of tumor growth, the content of the antioxidant enzyme, SOD decreases in the body. It is shown that during the tumor process, the enzymes of the antioxidant system are the first to be destructive-

Таблица 3. Изменение содержания оснований Шиффа в крови крыс-опухоленосителей при действии пчелиного яда и гипертермии (усл. ед.)**Table 3.** Changes in the content of Schiff bases in the blood of tumor-bearing rats under the action of bee venom and hyperthermia (arbitrary units)

Группа / Group	1-е сутки / 1 st day	7-е сутки / 7 th day	28-е сутки / 28 th day
Интактные / Intact	3.444 ± 0.93	6.510 ± 0.95	6.655 ± 0.79
Контроль / Control	7.812 ± 0.26	7.561 ± 0.88	6.397 ± 0.48*
Опыт 1 / Experiment 1	3.357 ± 0.18*	2.873 ± 0.01*	9.068 ± 1.91**
Опыт 2 / Experiment 2	8.159 ± 4.10*	2.142 ± 0.02**	4.345 ± 0.22**
Опыт 3 / Experiment 3	7.188 ± 1.95**	5.008 ± 0.44**	3.771 ± 0.68**

* Статистически значимые различия по отношению к группе «Интактные» ($p < 0.05$).Statistically significant differences in relation to the Intact group ($p < 0.05$).* Статистически значимые различия по отношению к группе «Контроль» ($p < 0.05$).Statistically significant differences in relation to the Control group ($p < 0.05$).

суткам наблюдалось сохранение повышенной активности СОД во всех опытных группах с пчелиным ядом и гипертермией по сравнению с контролем (табл. 4).

Результаты исследования показали, что на фоне роста опухоли в организме происходит снижение содержания антиоксидантного фермента — СОД. Показано, что при опухолевом процессе первыми подвергаются деструктивному воздействию ферменты антиокислительной системы. Снижение активности СОД способствует накоплению супероксидного радикала, что вызывает повреждение ДНК, рост числа мутаций и малигнизацию клеток [12]. В результате действия гипертермии и пчелиного яда наблюдается изменение про- и антиоксидантного статуса крыс-опухоленосителей. В частности, это выражается в угнетении процессов ПОЛ и усилении активности СОД.

На сегодняшний день известно, что одним из возможных путей повышения эффективности лечения злокачественных опухолей является применение комбинированных методов лечения, когда для достижения максимального эффекта последовательно используются два разных вида лечения [13]. В частности, применение гипертермии и пчелиного яда, по всей видимости, вызывает синергичное действие. Гипертермия приводит к активации фагоцитарной активности иммунокомпетентных клеток крови, влияет на развитие цитокинпродуцирующей функции клеток и тканей [14, 15]. Противоопухолевая активность пчелиного яда связана с его основным компонентом — мелиттином, который является мощным ингибитором кальмодулина [16] — клеточного посредника с широким спектром действия. Так, известна его регуляторная роль в формировании и функционировании нитей веретена деления при митозе клеток, поэтому угнетение ак-

ively affected. A decrease in the activity of SOD contributes to the accumulation of a superoxide radical, which causes DNA damage, an increase in the number of mutations and cell malignancy [12]. As a result of the action of hyperthermia and bee venom, a change in the pro- and antioxidant status of tumor-bearing rats is observed. In particular, this is expressed in the suppression of LPO processes and increased activity of SOD.

Today, it is known that one of the possible ways to increase the effectiveness of the treatment of malignant tumors is the use of combined methods of treatment, when two different types of treatment are consistently used to achieve the maximum effect [13]. In particular, the use of hyperthermia and bee venom, apparently, causes a synergistic effect. Hyperthermia leads to activation of phagocytic activity of immunocompetent blood cells, affects the development of cytokine-producing function of cells and tissues [14, 15]. The antitumor activity of bee venom is associated with its main component — melittin, which is a powerful inhibitor of calmodulin [16] — a cellular mediator with a wide spectrum of action. Thus, its regulatory role in the formation and functioning of the threads of the cleavage spindle during cell mitosis is known, therefore, the inhibition of calmodulin activity under the action of bee venom is probably the most important mechanism of its antitumor activity. In addition, it should be taken into account that bee venom causes activation of the pituitary-adrenal system [17]. The release of corticosteroids, on the one hand, leads to a decrease in LPO, on the other hand, it increases the adaptive capabilities of the body [18].

Consequently, hyperthermia and bee venom, acting on different targets, can provide an increase in the antitumor effect. The obtained data indicate the effectiveness of the combined use of hyperthermia

Таблица 4. Изменение активности супероксиддисмутазы в крови крыс-опухоленосителей при действии пчелиного яда и гипертермии (усл. ед.)

Table 4. Changes in the activity of superoxide dismutase in the blood of tumor-bearing rats under the action of bee venom and hyperthermia (arbitrary units)

Группа / Group	1-е сутки / 1 st day	7-е сутки / 7 th day	28-е сутки / 28 th day
Интактные / Intact	2.541 ± 0.34	2.473 ± 0.40	3.440 ± 0.61
Контроль / Control	5.863 ± 0.64*	6.975 ± 0.31*	0.265 ± 0.10*
Опыт 1 / Experiment 1	2.917 ± 0.32	38.761 ± 3.11**	6.716 ± 0.14*
Опыт 2 / Experiment 2	1.265 ± 0.24**	44.372 ± 2.1**	5.834 ± 0.65**
Опыт 3 / Experiment 3	1.513 ± 0.24**	7.994 ± 0.62*	2.183 ± 0.71*

* Статистически значимые различия по отношению к группе «Интактные» ($p < 0.05$).
Statistically significant differences in relation to the Intact group ($p < 0.05$).

* Статистически значимые различия по отношению к группе «Контроль» ($p < 0.05$).
Statistically significant differences in relation to the Control group ($p < 0.05$).

тивности кальмодулина при действии пчелиного яда, вероятно, является важнейшим механизмом его противоопухолевой активности. Кроме того, необходимо учитывать, что пчелиный яд вызывает активацию гипофизарно-надпочечниковой системы [17]. Выделение кортикостероидов, с одной стороны, приводит к снижению ПОЛ, с другой — повышает адаптационные возможности организма [18].

Таким образом, гипертермия и пчелиный яд, действуя на различные мишени, могут обеспечивать повышение противоопухолевого эффекта. Полученные данные свидетельствуют об эффективности комбинированного использования гипертермии и пчелиного яда в коррекции про- и антиоксидантного баланса животных-опухоленосителей. Наиболее эффективным действием, на наш взгляд, обладает использование пчелиного яда на фоне гипертермии 43 °С, при которой регистрируется пролонгированное действие как в отношении снижения концентрации ОШ, так и роста активности СОД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При гипертермии на фоне действия апитоксина в крови животных-опухоленосителей наблюдали наиболее значимое увеличение продуктов липопероксидации — ДК во всех опытных группах на 28-е сутки при первоначальном его снижении в группах с введением пчелиного яда и гипертермией 42 и 43 °С относительно значений группы контроля. Содержание ТК снижалось при действии пчелиного яда и гипертермии 42 и 43 °С на 1–7-е сутки, на 28-е сутки — при действии пчелиного яда и гипертермии 44 °С. Установлено снижение концентрации ОШ до уровня значений интактной группы при гипертермии 42 °С на 1, 7-е сутки, при гипертермии 43 °С — на 7 и 28-е сутки, при гипертермии 44 °С — на 28-е сутки. Выявлено увеличение активности СОД на 7, 28-е

and bee venom in correcting the pro- and antioxidant balance of tumor-bearing animals. The most effective action, in our opinion, is the use of bee venom against the background of hyperthermia of 43°C, at which a prolonged effect is recorded both with respect to a decrease in the SB concentration and an increase in the activity of SOD.

CONCLUSION

With hyperthermia against the background of the action of apitoxin in the blood of tumor-bearing animals, the most significant increase in lipid peroxidation products, DC was observed in all experimental groups on the 28th day, with its baseline decrease in the groups with the administration of bee venom and hyperthermia of 42 and 43°C relative to the values of the control group. The TC content decreased with the action of bee venom and hyperthermia 42 and 43°C on the 1st–7th day, also on the 28th day with the action of bee venom and hyperthermia 44°C. A decrease in the concentration of SB to the level of the values of the intact group was found in hyperthermia of 42°C on the 1st and 7th days, in hyperthermia of 43°C was on the 7th and 28th days, in hyperthermia of 44°C was on the 28th day. An increase in the activity of SOD on the 7th and 28th day was revealed in the experimental groups relative to the control group, the most significant one was under the action of bee venom and hyperthermia of 42 and 43°C.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

сутки в опытных группах относительно группы контроля, наиболее значительное при действии пчелиного яда и гипертермии 42 и 43 °С.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хасанов А.И. Антиоксидантная активность и перекисное окисление липидов у больных с местнораспространенными злокачественными опухолями верхней челюсти, полости носа и околоносовых пазух в зависимости от способа химиотерапии // *Вопр. онкологии*. 2009. Т. 55, № 1. С. 42–45.
2. Миromanova Н.А. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у детей при гриппе А H1N1pdm09 // *Журн. инфектологии*. 2014. Т. 6, № 1. С. 29–34.
3. Ефремов А.В., Хегай И.И., Молоков К.В., Пахомова Ю.В. Изменения в липидном обмене при росте опухоли Walker 256 и терапевтический эффект ги-

REFERENCES

1. Khasanov A.I. (2009). Influence of chemotherapy regimen on antioxidant level in patients with locally-advanced tumors of the maxilla, nasal and paranasal sinuses. *Problems in Oncology*, 55, 1, 42–45.
2. Miromanova N.A. (2014). Condition peroxidation and antioxidative system with children at the influenza A H1N1 pdm09. *Jurnal Infectologii*, 6, 1, 29–34.
3. Efremov A.V., Hehay I.I., Molokov K.V., Pakhomova Yu.V. (2013). Changes in lipid metabolism during Walker 256 tumor growth and the therapeutic effect of hyperthermia. *Bull. Experimental Biology and Medicine*, 156, 12, 808–810. In Russ.

- пертермии // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2013. Т. 156, № 12. С. 808–810.
4. Ефремов А.В., Овсянко Е.В., Сафронов И.Д., Тулеутаев М.Е., Колодин Д.Л. Саногенетические механизмы влияния общей гипертермии при канцерогенезе // Астана медициналык журналы. 2012. № 3 (71). С. 274–277.
 5. Гелашвили Д.Б., Крылов В.Н., Романова Е.Б. Зоотоксикология: биоэкологические и биомедицинские аспекты. Нижний Новгород, 2015. 770 с.
 6. Ягин В.В. Эколого-физиологические аспекты термopротекторного действия зоотоксинов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Нижний Новгород, 2007. 48 с.
 7. Шабалин М.А., Хомутов А.Е. Адаптогенное действие пчелиного яда при гипертермии у животных-опухоленосителей // Аписфера: научные достижения в пчеловодстве и апитерапии: сб. статей I Всероссийской науч.-практ. конф. Нижний Новгород, 2019. С. 43–49.
 8. Липатов В.А., Крюков А.А., Северинов Д.А., Саакян А.Р. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований in vivo. Часть I // Российский мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2019. Т. 27, № 1. С. 80–92.
 9. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии // Биохимия. 2004. Т. 69, № 1. С. 52–55.
 10. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник. М.: КолосС, 2004. 520 с.
 11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
 12. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопр. мед. химии. 2001. Т. 47, № 6. С. 561–581.
 13. Jones E.L., Marks L.B., Prosnitz L.R. Point: Hyperthermia with radiation for chest wall recurrences // J. Natl. Compr. Canc. Netw. 2007. Vol. 5 (3). P. 339–344.
 14. Лобанова Е.М., Таганович А.Д. Фагоцитарная активность стимулированных альвеолярных макрофагов в условиях гипоксии и гипертермии // Белорусский мед. журн. 2005. № 1. С. 66–68.
 15. Evans S.S., Fisher D.T., Skitzki J.J., Chen Q. Targeted regulation of a lymphocyte-endothelial-interleukin-6 axis by thermal stress // Int. J. Hyperthermia. 2008. Vol. 24 (1). P. 67–78.
 16. Крылов В.Н., Агафонов А.В., Кривцов Н.И. Теория и средства апитерапии: монография / Российская акад. с.-х. наук, Нижегородский гос. ун-т им. Н.И. Лобачевского. М., 2007. 295 с.
 17. Красникова О.В., Сметанина О.А., Кондрашина О.В. и др. Влияние пчелиного яда на состояние тканей пародонта // Науч. ведомости Белгородского гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. 2019. Т. 42, № 2. С. 235–243.
 18. Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Игнатьев П.С., Лодяной М.С., Самodelкин А.Г. Изменение фазового портрета и электрофоретической подвижности эритроцитов при различных видах заболеваний // Совр. технологии в медицине. 2019. Т. 11, № 2. С. 63–68.
 4. Efremov A.V., Ovsyanko E.V., Safronov I.D., Tuleutayev M.E., Kolodin D.L. (2012). Sanogenetic mechanisms of the influence of general hyperthermia in carcinogenesis. *Astana Medicine Journal*, 3 (71), 274–277.
 5. Gelashvili D.B., Krylov V.N., Romanova E.B. (2015). *Zootoxinology: Bioecological and Biomedical Aspects*. Nizhny Novgorod, 770 p. In Russ.
 6. Yagin V.V. (2007). *Ecological and physiological aspects of the thermoprotective effect of zootoxins*. Dr. Sci (Biol.) Thesis. Nizhny Novgorod, 48 p. In Russ.
 7. Shabalin M.A., Khomutov A.E. (2019). Adaptogenic effect of bee venom in hyperthermia in tumor-bearing animals. *Apisphere: Scientific Achievements in Beekeeping and Apitherapy: collection of articles of the I All-Russian Scientific and Practical Conference*. Nizhny Novgorod, 43–49. In Russ.
 8. Lipatov V.A., Kryukov A.A., Severinov D.A., Saakyan A.R. (2019). Ethical and legal aspects of in vivo experimental biomedical research. Part I. *I.P. Pavlov Russian Medical and Biological Herald*, 27, 1, 80–92.
 9. Vladimirov Yu.A. (2004). Active forms of oxygen and nitrogen: significance for diagnosis, prevention and therapy. *Biochemistry*, 69, 1, 52–55. In Russ.
 10. Kondrakhin I.P. (2004). *Methods of Veterinary Clinical Laboratory Diagnostics: Guide*. Moscow, 520 p. In Russ.
 11. Glants S. (1999). *Biomedical Statistics*. Moscow, 459 p. In Russ.
 12. Dubinina E.E. (2001). The role of reactive oxygen species as signal molecules in tissue metabolism under conditions of oxidative stress. *Problems of Medical Chemistry*, 47, 6, 561–581. In Russ.
 13. Jones E.L., Marks L.B., Prosnitz L.R. (2007). Point: Hyperthermia with radiation for chest wall recurrences. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.*, 5 (3), 339–344.
 14. Lobanova E.M., Taganovich A.D. (2005). Stimulated alveolar macrophages phagocytic activity in the hypothermic and hypoxic conditions. *Medical Journal, Minsk*, 1, 66–68.
 15. Evans S.S., Fisher D.T., Skitzki J.J., Chen Q. (2008). Targeted regulation of a lymphocyte-endothelial-interleukin-6 axis by thermal stress. *Int. J. Hyperthermia*, 24 (1), 67–78.
 16. Krylov V.N., Agafonov A.V., Krivtsov N.I. (2007). *Theory and Means of Apitherapy*. Russ. Academy of Agriculture Science; Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 295 p. In Russ.
 17. Krasnikova O.V., Smetanina O.A., Kondrashina O.V. et al. (2019). Influence of bee poison on the condition of peridont tissues. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine, Pharmacy*, 42, 2, 235–243.
 18. Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Ignatiev P.S., Lodyanov M.S., Samodelkin A.G. (2019). Alterations in the phase portrait and electrophoretic mobility of erythrocytes in various diseases. *Modern Technologies in Medicine*, 11, 2, 63–68.

ABOUT THE AUTHORS

Shabalin Mikhail Aleksandrovich — Assistant, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шабалин Михаил Александрович — ассистент кафедры физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (Нижегород).

Дерюгина Анна Вячеславовна — д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (Нижегород).

Назарова Виктория Вячеславовна — магистрант кафедры физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (Нижегород).

Грачева Елена Александровна — ассистент кафедры физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (Нижегород).

Лизунова Алла Сергеевна — канд. биол. наук, доцент кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова».

Образец цитирования: Шабалин М.А., Дерюгина А.В., Назарова В.В., Грачева Е.А., Лизунова А.С. Влияние пчелиного яда и гипертермии на липопероксидацию и антиоксидантную активность крови животных-опухоленосителей // Journal of Siberian Medical Sciences. 2021. № 3. С. 25–33.

Deryugina Anna Vyacheslavovna — Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Head, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.

Nazarova Viktoriya Vyacheslavovna — Graduate Student, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.

Gracheva Elena Aleksandrovna — Assistant Professor, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.

Lizunova Alla Sergeevna — Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy, Ryazan State Medical University n.a. academician I.P. Pavlov.

Citation example: Shabalin M.A., Deryugina A.V., Nazarova V.V., Gracheva E.A., Lizunova A.S. (2021). The effect of bee venom and hyperthermia on the lipoperoxidation and antioxidant activity of the blood of tumor-bearing animals. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 25–33.

Выраженность речевых и когнитивных нарушений у больных ишемическим инсультом на втором этапе реабилитации на фоне проведенной тромболитической терапии

Бахарева О.Н.¹, Чичановская Л.В.¹, Зайцева А.А.¹, Морозов А.С.¹, Бахарева С.А.²

¹ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России

²ФГКОУ ВО «Московский университет Министерства внутренних дел РФ им. В.Я. Кикотя», Тверской филиал

The intensity of speech and cognitive disorders in patients with ischemic stroke at the second stage of rehabilitation against the background of thrombolytic therapy

Bakhareva O.N.¹, Chichanovskaya L.V.¹, Zajtseva A.A.¹, Morozov A.S.¹, Bakharev S.A.²

¹Tver State Medical University

²Moscow University of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation named after V.Ya. Kikot', Tver branch

АННОТАЦИЯ

Введение. Нарастающая частота ишемического инсульта и его омоложение, приводящие к крайне неблагоприятным социально-экономическим последствиям, заставляют пересмотреть традиционную технологию лечения и реабилитации пациентов с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК). Тромболитическая терапия (ТЛТ) на сегодняшний день зарекомендовала себя как наиболее эффективный метод лечения ишемического инсульта.

Цель. Изучить влияние тромболитической терапии на восстановление речевых и когнитивных расстройств у больных ишемическим инсультом на втором этапе реабилитации.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 68 больных ОНМК по ишемическому типу, поступивших на второй этап реабилитации. Пациентов разделили на две группы: 1-я ($n = 14$) — больные, которым проведена тромболитическая терапия; 2-я ($n = 54$) — больные, получавшие стандартную терапию ОНМК. Оценка речевых нарушений проводилась на основании заключения логопеда. Тяжесть когнитивного дефицита оценивалась по шкале КНОКС (Краткое нейропсихологическое обследование когнитивной сферы) и на основании данных, полученных в ходе консультации психолога. Уровень удовлетворенности больных собственным состоянием оценивался по Визуально-аналоговой шкале.

Результаты. Описанный нейросоматический статус пациентов с ОНМК, которым была проведена ТЛТ, свидетельствует о преобладании мужчин пенсионного возраста с наличием полушарного инфаркта, который сочетается с расстройствами как импрессивной, так и экспрессивной речи и умеренными когнитивными нарушениями. В 1-й группе больных выявлены более грубые моторные и сенсорные речевые расстройства по сравнению со 2-й группой.

Заключение. Наличие более грубых речевых расстройств в 1-й группе больных, с одной стороны, связано с меньшим объемом выборки (целевой показатель ТЛТ 5 %; направление больных с отсутствием когнитивных, двигательных и речевых расстройств на 3-й этап реабилитации, минуя второй этап), а с другой — с наличием возможных геморрагических осложнений на фоне проводимой ТЛТ, что диктует необходимость более пристального контроля за ведением протоколов реперфузионной терапии в острейшем периоде ишемического инсульта.

Ключевые слова: инсульт, тромболизис, реабилитация, речь.

Поступила 07.02.2021
Принята 25.03.2021

Автор, ответственный за переписку
Бахарева Ольга Николаевна: ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России. 170100, г. Тверь, ул. Советская, 4.
E-mail: olgabach76@gmail.com

Received 07.02.2021
Accepted 25.03.2021

Corresponding author
Bakhareva Olga Nikolaevna: Tver State Medical University, 4, Sovetskaya str., Tver, 170100, Russia.
E-mail: olgabach76@gmail.com

ABSTRACT

Introduction. The increasing frequency of ischemic stroke and its rejuvenation, leading to extremely unfavorable socio-economic consequences, make us reconsider the traditional technology of treatment and rehabilitation of patients with acute cerebrovascular accident (CVA). Thrombolytic therapy (TLT) today has established itself as the most effective method of treatment of ischemic stroke.

Aim. To study the influence of thrombolytic therapy on the recovery of speech and cognitive disorders in patients with ischemic stroke at the second stage of rehabilitation.

Materials and Methods. The study involved 68 ischemic stroke patients who were admitted to the second stage of rehabilitation. The patients were divided into two groups: 1st ($n = 14$) — patients who received thrombolytic therapy; 2nd ($n = 54$) — patients who received conventional CVA therapy. The assessment of speech disorders was carried out on the basis of the conclusion of the speech therapist. The severity of cognitive deficit was assessed using the BNCE scale (Brief Neuropsychological Cognitive Examination) and on the basis of data obtained during the consultation with a psychologist. The level of satisfaction of patients with their own condition was assessed using the Visual Analogue Scale.

Results. The described neurosomatic status of patients with CVA, who underwent TLT, indicates the prevalence of men of retirement age with the presence of hemispheric infarction, which is combined with disorders of both impressive and expressive speech and mild cognitive impairments. In the 1st group of patients, more severe motor and sensory speech disorders were revealed compared to the 2nd group.

Conclusion. The presence of more severe speech disorders in the 1st group of patients, on the one hand, is associated with a smaller number of the 1st group (TLT target is 5%; referral of patients with the absence of cognitive, motor and speech disorders to the 3rd stage of rehabilitation, bypassing the second stage), and on the other hand, with the presence of possible hemorrhagic complications against the background of TLT, which dictates the need for closer control over the reperfusion therapy protocols in the acute period of ischemic stroke.

Keywords: stroke, thrombolysis, rehabilitation, speech.

ВВЕДЕНИЕ

Нарастающая частота ишемического инсульта (ИИ) и его омоложение, приводящие к крайне неблагоприятным социально-экономическим последствиям, заставляют пересмотреть традиционную технологию лечения и реабилитации пациентов с этим тяжелым заболеванием. Наряду со снижением показателей смертности при остром нарушении мозгового кровообращения (ОНМК) регистрируется рост первичной инвалидизации среди населения. Новые подходы к лечению ишемического инсульта включают применение современных высокоэффективных методов реперфузии вещества головного мозга в первые часы заболевания, направленных на восстановление кровотока в пораженном сосуде, что позволяет предотвратить развитие необратимого повреждения вещества головного мозга либо уменьшить его объем, т.е. минимизировать степень выраженности остаточного неврологического дефицита [1, 2].

Согласно последним рекомендациям Европейской организации по борьбе с инсультом (European Stroke Organization — ESO) и Американской ассоциации по изучению инсульта (American Stroke Association — ASA), тромболитическая терапия (ТЛТ), проводимая с использованием рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rt-PA, алтеплаза), является наи-

INTRODUCTION

The increasing frequency of ischemic stroke (IS) and its rejuvenation, leading to extremely unfavorable socio-economic consequences, are forcing a revision of the conventional technology of treatment and rehabilitation of patients with this serious disease. Along with a decrease in mortality rates in acute cerebrovascular accident (CVA), an increase in primary disability among the population is recorded. New approaches to the treatment of ischemic stroke include the use of modern highly effective methods of reperfusion of the brain substance in the first hours of the disease, aimed at recovery blood flow in the affected vessel, which makes it possible to prevent the development of irreversible damage to the brain substance or to reduce its volume, i.e., to minimize the severity of the residual neurological deficit [1, 2].

According to the latest recommendations from the European Stroke Organization (ESO) and the American Stroke Association (ASA), thrombolytic therapy (TLT) using recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA, alteplase) is the most effective treatment for ischemic stroke (class I, level of evidence A). The introduction of fibrinolytic drugs can be carried out in two ways:

a) systemic thrombolysis, when a fibrinolytic agent is injected into a peripheral vein; b) catheter-directed thrombolysis, in which the drug is adminis-

более эффективным методом терапии при ишемическом инсульте (класс I, уровень доказательности A). Введение фибринолитических препаратов может осуществляться двумя способами: а) системный тромболизис, когда фибринолитик вводится в периферическую вену; б) селективный тромболизис, при котором препарат вводится через катетер, установленный непосредственно в окклюзированной внутримозговой артерии. Тромболизис при инсульте призван разрушить тромботическую массу и возобновить движение крови по закупоренным мозговым сосудам. В основе действия методики — активация плазминогена крови и его перевод в плазмин.

Важнейшим фактором успешного тромболизиса при ишемическом инсульте является раннее начало лечения и правильное определение показаний к процедуре [3–5]. Проведение терапевтической реперфузии целесообразно в пределах первых часов с момента острой окклюзии, затем при ее применении значительно возрастает риск не только реперфузионного повреждения, но и геморрагических осложнений. Помимо временного фактора при проведении ТЛТ важно учитывать и возраст пациентов. Согласно инструкции по применению препарата алтеплазы и рекомендациям ESO, больным моложе 18 лет проводить ТЛТ не следует, а пациентам старше 80 лет — с особой осторожностью. Анализ данных регистра SITS-MOST показал, что у больных молодого возраста после проведенной ТЛТ наблюдается более благоприятный исход заболевания с низкой частотой симптомной геморрагической трансформации. Также продемонстрирована лучшая степень восстановления нарушенных неврологических функций у лиц до 45 лет (40 % против 22 % в группе больных старше 45 лет), при этом частота случаев геморрагической трансформации между группами значимо не различалась. Следовательно, ТЛТ эффективна и безопасна во всех возрастных группах. Однако чем старше больные, тем выше количество функционально неблагоприятных исходов и смертей [6–8].

Геморрагическая трансформация очага поражения головного мозга при ишемическом инсульте относится к серьезным осложнениям, особенно при проведении ТЛТ. Было предложено ввести различия между геморрагическим инфарктом и паренхиматозными гематомами. Исследования с использованием компьютерной и магнитно-резонансной томографии позволили установить, что геморрагическая трансформация по типу петехиальных кровоизлияний происходит у 15–45 % пациентов, а с образованием сим-

tered through a catheter placed directly in the occluded intracerebral artery. Thrombolysis in stroke is designed to destroy the thrombotic mass and resume the blood flow through the blocked cerebral vessels. The method is based on the activation of blood plasminogen and its conversion into plasmin.

The most important factor in successful thrombolysis in ischemic stroke is the early beginning of treatment and the correct determination of the indications for the procedure [3–5]. Carrying out therapeutic reperfusion is advisable within the first hours from the onset of acute occlusion, then when using it, the risk of not only reperfusion injury, but also hemorrhagic complications increases significantly. In addition to the time factor, when performing TLT, it is important to take into account the age of patients. According to the drug labeling of alteplase and the ESO guidelines, patients under 18 years old should not undergo TLT, and patients over 80 years old should be extremely careful. Analysis of the data from the SITS-MOST register showed that young patients after TLT had a more favorable outcome with a low frequency of symptomatic hemorrhagic transformation. Also, a better degree of neurorestoration was demonstrated in persons under 45 years old (40% versus 22% in the group of patients over 45 years old), while the incidence of hemorrhagic transformation between the groups did not differ significantly. Therefore, TLT is effective and safe in all age groups. However, the older the patients are, the higher the number of functionally unfavorable outcomes and deaths [6–8].

Hemorrhagic transformation of the focus of brain lesion in ischemic stroke is a serious complication, especially during TLT. It was proposed to introduce a distinction between hemorrhagic infarction and parenchymal hematomas. Studies using computed tomography and magnetic resonance imaging made it possible to establish that hemorrhagic transformation of the type of petechial hemorrhage occurs in 15–45% of patients, and with the formation of symptomatic parenchymal hematoma — in 5%. Hemorrhagic transformation of cerebral infarction against the background of thrombolytic therapy is *a priori* associated with the recanalization and is caused by reperfusion damage to the brain due to the flow of the blood into the ischemic zone. One of the possible mechanisms of hemorrhagic transformation is combined endothelial dysfunction, both premorbid and caused by damage to the endothelium by metalloproteinases, which include rt-PA. In most cases, hemorrhagic transformation is represented by petechial hemorrhage, however, in 16% of cases it is small, and in 8% of patients — large hematomas, while mild se-

птомной паренхиматозной гематомы — у 5%. Геморрагическая трансформация инфаркта мозга на фоне тромболитической терапии *a priori* связана с достижением реканализации и обусловлена реперфузионным повреждением мозга вследствие поступления крови в зону ишемии. Одним из возможных механизмов геморрагической трансформации является сочетанная эндотелиальная дисфункция — как преморбидная, так и вызванная повреждением эндотелия металлопротеиназами, к которым в том числе относится и rt-PA. В большинстве случаев геморрагическая трансформация представлена петехиальным пропитыванием, однако в 16 % случаев это малые, а у 8 % больных — большие гематомы, при этом умеренная выраженность геморрагической трансформации инфаркта мозга по типу диapedетического пропитывания является маркером реперфузии и, как правило, ассоциируется с хорошим клиническим исходом, в то время как паренхиматозное кровоизлияние — маркер замедленной реперфузии и, соответственно, увеличенной области ишемического повреждения мозга, сопровождающегося ухудшением состояния больного [9, 10].

Наиболее частыми последствиями инсульта являются нарушения речевой функции, проявляющиеся в форме афазий и дизартрий, которые нередко сочетаются с патологией других высших психических функций (различными видами агнозий и апраксий), а также когнитивными нарушениями разной степени выраженности [11–13]. Расстройства речи после инсульта возникают вследствие поражения речевых зон коры головного мозга и их проводящих путей.

В зависимости от локализации и величины зоны поражения нарушения речи могут проявляться в виде афазий, которые классифицируются на моторную и сенсорную. Моторная афазия, в свою очередь, может быть:

- афферентной — проявляется распадом отдельных артикуляционных поз, или артикулем. В устной речи выражается в поисках артикуляции;
- эфферентной — речь становится разорванной, сопровождается застреванием на отдельных фрагментах высказывания. Больной относительно легко произносит отдельные звуки, но испытывает существенные затруднения при произнесении слов и фраз.

Сенсорная афазия — расстройство фонематического слуха, которое обуславливает грубые нарушения импрессивной речи — понимания. Звуки теряют свое стабильное звучание и каждый

verity of hemorrhagic transformation of cerebral infarction by the type of diapedetic hemorrhage is a marker of reperfusion and, as a rule, is associated with favorable outcome, while parenchymal hemorrhage is a marker of delayed reperfusion and, accordingly, an increased area of ischemic brain damage, accompanied by a worsening of the patient's condition [9, 10].

The most frequent consequences of stroke are speech disorders, manifested in the form of aphasias and dysarthrias, which are often combined with pathologies of other higher mental functions (various types of agnosias and apraxias), as well as cognitive impairments of varying severity [11–13]. Speech disorders after a stroke occur as a result of damage to the language zones of the cerebral cortex and their pathways.

Depending on the location and size of the impaired zone, speech disorders can manifest themselves in the form of aphasias, which are classified into motor and sensory. Motor aphasia, in turn, can be:

- afferent — it is manifested by the disintegration of individual elementary sounds. In speaking, it is expressed in the search for articulation;
- efferent — speech becomes torn, accompanied by getting stuck in separate fragments of the utterance. The patient relatively easily pronounces individual sounds, but experiences significant difficulties in pronouncing words and phrases.

Sensory aphasia is a disorder of phonemic hearing, which causes gross impairments of impressive speech — understanding. Sounds lose their stable sounding and each time they are perceived distorted, mixed with each other according to one or another parameter.

In addition, special forms of aphasia are distinguished:

- dynamic aphasia — a speech disorder that manifests itself in speech as spontaneity and inactivity. The patient's speech is characterized by poverty, monosyllabic answers in dialogue;
- amnesic disorders — loss of the ability to retain the information perceived by hearing in the memory, narrowing of the volume of memorization;
- semantic aphasia — inability to perceive complex logical and grammatical turns of speech.

Speech disorders are considered the most difficult consequences of stroke. The recovery of speech functions requires a fairly long period of time, on average 2–3 years, and in some cases — up to 6 years. The effectiveness of treatment largely depends both on how quickly the rehabilitation process begins and on the methods of treatment in the acute period of

раз воспринимаются искаженно, смешиваются между собой по тем или иным параметрам.

Кроме того, выделяют особые формы афазий:

- динамическую афазия — речевой дефект, который проявляется в речевой спонтанности и инактивности. Речь пациента отличается бедностью, односложностью ответов в диалоге;
- амнестические нарушения — потеря способности к удержанию в памяти воспринимаемой на слух информации, сужение объема запоминания;
- семантическую афазия — неспособность воспринимать сложные логико-грамматические обороты речи.

Нарушения речи считаются наиболее сложными последствиями инсульта. На восстановление речевых функций требуется достаточно продолжительный период времени, в среднем 2–3 года, а в некоторых случаях — до 6 лет. Эффективность лечения во многом зависит как от того, насколько быстро начнется процесс реабилитации, так и от методов лечения в острейшем периоде ишемического инсульта. Поэтому представляется важным уточнение особенностей восстановления речевых и когнитивных нарушений у больных ишемическим инсультом в зависимости от методов лечения ОНМК в острейшем периоде.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние тромболитической терапии на восстановление речевых и когнитивных расстройств у больных ишемическим инсультом на втором этапе реабилитации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе ГБУЗ «Областной клинический лечебно-реабилитационный центр» (г. Тверь) проведено обследование 68 больных ОНМК по ишемическому типу, поступивших на второй этап реабилитации, которая проводилась с использованием возможностей двигательной реабилитации, механо- и кинезотерапии, технологий виртуальной реальности, транскраниальной магнитной стимуляции. Пациентов разделили на две группы: 1-я — 14 больных, которым в острейшем периоде ОНМК проведена реперфузионная терапия с применением системной ТЛТ (средний возраст 64.2 ± 0.6 года); 2-я — 54 больных, получавших стандартную терапию ОНМК без ТЛТ (средний возраст 67.65 ± 0.8 года).

Оценка речевых нарушений проводилась на основании заключения логопеда. Тяжесть когнитивного дефицита оценивалась по шкале КНОКС (Краткое нейропсихологическое обследование

ischemic stroke. Therefore, it seems important to clarify the features of the recovery of speech and cognitive disorders in patients with ischemic stroke, depending on the methods of CVA treatment in the acute period.

AIM OF THE RESEARCH

To study the influence of thrombolytic therapy on the recovery of speech and cognitive disorders in patients with ischemic stroke at the second stage of rehabilitation.

MATERIALS AND METHODS

On the basis of the Regional Clinical and Rehabilitation Center (Tver), 68 patients with acute cerebrovascular accidents of ischemic type which were admitted to the second stage of rehabilitation were examined. The rehabilitation was carried out using the possibilities of motor rehabilitation, mechano- and kinesitherapy, virtual reality technologies, transcranial magnetic stimulation. The patients were divided into two groups: 1st — 14 patients who underwent reperfusion therapy with the use of systemic TLT in the acute period (mean age 64.2 ± 0.6 years); 2nd — 54 patients who received conventional therapy without TLT (mean age 67.65 ± 0.8 years).

The assessment of speech disorders was carried out on the basis of the conclusion of the speech therapist. The severity of cognitive deficit was assessed using the BNCE scale (Brief Neuropsychological Cognitive Examination) in points and on the basis of data obtained during consultation with a psychologist. The level of satisfaction with the patient's own condition was assessed using the Visual Analogue Scale (VAS). To verify the CVA type, the following clinical investigations were carried out: magnetic resonance imaging, computed tomography, doppler ultrasound.

All patients participating in the study signed an informed consent, approved by the local ethics committee.

Statistical processing of the research results was carried out by methods of variation statistics and correlation analysis (the level of significance of differences $p < 0.05$) on an IBM PC PENTIUM computer using the Microsoft Excel 7.0 software package.

RESULTS AND DISCUSSION

Among the pathogenetic variants of IS identified in the examined both groups, the thromboembolic variant prevailed — 7 cases (50%) in the 1st group and 36 (67%) in the 2nd one. Ischemic strokes with high

когнитивной сферы) в баллах и на основании данных, полученных в ходе консультации психолога. Уровень удовлетворенности собственным состоянием пациента оценивался по Визуально-аналоговой шкале (ВАШ). Для верификации подтипа ОНМК проводились следующие инструментальные исследования: магнитно-резонансная и компьютерная томография, ультразвуковая доплерография.

Все пациенты, участвовавшие в исследовании, подписали информированное согласие, утвержденное локальным этическим комитетом.

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась методами вариационной статистики и корреляционного анализа (уровень достоверности различий $p < 0.05$) на компьютере IBM PC PENTIUM с помощью пакета программ Microsoft Excel 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди патогенетических вариантов ИИ, выявленных у обследованных обеих групп, преобладал тромбоэмболический вариант — 7 случаев (50 %) в 1-й группе и 36 (67 %) во 2-й. Ишемические инсульты с высоким эмбологенным потенциалом встречались в 3 случаях (21 %) в первой группе и в 9 случаях (17 %) — во второй. Гемодинамических ишемических инсультов не было выявлено ни в одной группе. Инфаркт мозга неуточненной этиологии встречался в 4 случаях (29 %) в первой группе и в 9 случаях (17 %) — во второй.

Здесь необходимо сказать о том, что, согласно данным литературы [2], патогенетический подтип ИИ не влияет на эффективность системного тромболизиса. При оценке эффективности тромболитической терапии необходимо учитывать и то обстоятельство, что медикаментозный тромболизис, по существу, является симптоматическим методом лечения [7] и не устраняет причин тромбообразования (атеросклероз с наличием стенозирующей просвет нестабильной бляшки, фибрилляция предсердий с образованием тромбов в ушке левого предсердия, деформация сосуда при артериальной гипертонии, протромботическое состояние крови и т.д.), вот почему возможен ретромбоз/реокклюзия. При тромболизисе rt-PA ранняя реокклюзия отмечалась в 34 %, обуславливая клиническое ухудшение в 2/3 случаев. Однако пациенты с реокклюзией все же прогностически более благоприятны по сравнению с больными без реканализации [1]. Для предупреждения реокклюзии теоретически обосновано сочетанное применение антиагрегантов, по-

эмбологенный потенциал возник в 3 случаях (21%) в первой группе и в 9 случаях (17%) во второй. Гемодинамические ишемические инсульты не были выявлены ни в одной группе. Неспецифический церебральный инфаркт возник в 4 случаях (29%) в первой группе и в 9 случаях (17%) во второй группе.

Здесь необходимо сказать, что, согласно литературе [2], патогенетический тип ИИ не влияет на эффективность системного тромболизиса. При оценке эффективности тромболитической терапии необходимо учитывать тот факт, что препаратный тромболизис является в основном симптоматическим методом лечения [7] и не устраняет причины тромбоза (атеросклероз с наличием нестабильной бляшки, стенозирующей просвет, фибрилляция предсердий с образованием тромбов в ушке левого предсердия, деформация сосудов при артериальной гипертонии, протромботическое состояние крови, и др.), поэтому возможен ретромбоз/реокклюзия. При тромболитическом лечении rt-PA ранняя реокклюзия отмечалась в 34%, вызывая клиническое ухудшение в 2/3 случаев. Однако пациенты с реокклюзией все же более благоприятно прогностически, чем пациенты без реканализации [1]. Для предупреждения реокклюзии теоретически обосновано комбинированное применение антиагрегантов, поскольку

Выбранные группы пациентов различались по полу: в первой группе преобладали мужчины — 9 человек (64%) и 5 (36%) женщины, а во второй группе различия по этому признаку были практически выровнены — 29 мужчин (54%) и 25 женщин (46%).

Что касается локализации церебрального инфаркта, гемисферическая локализация преобладала у исследуемых пациентов — 12 случаев (86%) в группе 1 и 46 случаев (85%) в группе 2. В 2 пациентах (14%) из 1-й и 8 пациентах (15%) из 2-й группы, инсульт был локализован в вертебробазилярной системе (рис. 1).

Приблизительно каждый четвертый пациент из обеих исследуемых групп страдал от 2-го типа сахарного диабета: 3 (21%) в первой группе и 14 (26%) во второй. Абсолютно все пациенты были диагностированы с артериальной гипертонией (среднее артериальное давление у пациентов из первой группы было $125 \pm 0.3 / 80.8 \pm 0.1$ мм рт.ст., во второй группе $130 \pm 0.3 / 80 \pm 0.2$ мм рт.ст.). В 5 пациентах

сколькx активаторы плазминогена могут индуцировать повышение функциональной активности тромбоцитов. У пациентов с ИИ через 24 ч после системного тромболизиса отмечается повышение агрегационной активности тромбоцитов (более выраженное при атеротромботическом подтипе ИИ) [2]. Более того, у пациентов с реокклюзией после успешно проведенного системного тромболизиса отмечаются более высокие показатели агрегации тромбоцитов по сравнению с пациентами, у которых ретромбоза не произошло.

Выделенные группы пациентов различались по половому составу: в первой группе преобладали мужчины — 9 чел. (64 %) и 5 (36 %) женщин, тогда как во второй группе различия по этому признаку были практически нивелированы — 29 мужчин (54 %) и 25 женщин (46 %).

Что касается локализации инфаркта мозга, то у исследуемых пациентов преобладала полушарная локализация — 12 случаев (86 %) в 1-й группе и 46 случаев (85 %) во 2-й. У 2 пациентов (14 %) 1-й и 8 пациентов (15 %) 2-й группы очаг инсульта располагался в вертебро-базилярном бассейне (рис. 1).

Приблизительно каждый четвертый пациент из общего числа обследованных обеих групп страдал от сахарного диабета 2-го типа: 3 (21 %) в первой группе и 14 (26 %) — во второй. Абсолютно у всех пациентов диагностировалась артериальная гипертензия (среднее артериальное давление у пациентов из первой группы составило $125 \pm 0.3/80.8 \pm 0.1$ мм рт. ст., во второй группе $130 \pm 0.3/80 \pm 0.2$ мм рт. ст.). У 5 пациентов (36 %) первой группы и 17 (32 %) второй наблюдалась постоянная форма фибрилляции предсердий.

Из числа основных неврологических симптомов ОНМК у обследованных пациентов выявлялись пирамидные расстройства (1-я группа — 11 случаев (72 %), 2-я — 48 (86 %), чувствитель-

(36%) of the first group and 17 (32%) of the second group, a permanent form of atrial fibrillation was observed.

Among the main neurological symptoms of CVA in the examined patients, pyramidal disorders were revealed (1st group — 11 cases (72%), 2nd group — 48 (86%), sensitive (1st group — 7 cases (52%), 2nd — 33 (61%)) and gait and balance (1st group — 11 cases (76%), 2nd group — 39 (73%)) disorders.

Speech disorders were assessed during the analysis of the speech therapist's conclusion. When analyzing speech, expressive (motor) speech is distinguished, which ensures the pronunciation of sounds, articulation, and impressive (sensory) speech — this is the perception and understanding of speech. Impressive speech disorders, in turn, are divided into speech and writing comprehension disorders. In patients of the first group, disorders of expressive speech were revealed in 7 cases (50%, $p < 0.05$), while in the second group — in 14 cases (26%). In the first group, difficulties in comprehension of speech were noted in 7 cases (50%, $p < 0.05$), while in the second group — in 9 (17%) cases. Writing language disorders were found in both groups. In the first group: dyslexia and dysgraphia — in one case (7%), in the second group: acalculia, dysgraphia — in one case (2%), dyslexia — in two cases (4%). Dysphasia was diagnosed in 10 patients (71%, $p < 0.05$) in the first group and in 15 patients (28%) — in the second group, and motor aphasia in the first group was 7% (1 person), and in the second group — 11% (6 patients); sensorimotor dysphasia — 64% (9 patients) and 17% (9 patients), respectively (Fig. 2).

As we can see, more complex motor and sensory speech disorders are observed in the group of patients who underwent TLT, which generally contradicts the available literature data that successful thrombolysis transfer at an angio suite provides a sufficiently high level of recovery of both motor and speech functions, therefore, it is often not required to

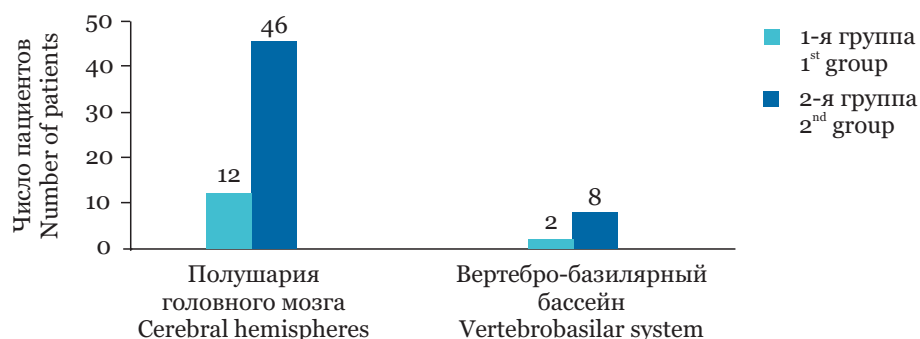


Рис. 1. Распределение пациентов 1-й и 2-й групп по локализации патологического очага
Fig. 1. Distribution of patients of the 1st and 2nd groups according to the localization of the pathological focus

ные (1-я группа — 7 случаев (52 %), 2-я — 33 (61 %)) и вестибуло-координаторные (1-я группа — 11 случаев (76 %), 2-я — 39 (73 %)) нарушения.

Речевые нарушения оценивались в ходе анализа заключения логопеда. При анализе речи выделяют экспрессивную (моторную) речь, которая обеспечивает произнесение звуков, артикуляцию, и импрессивную (сенсорную) речь — это восприятие и понимание речи. Нарушения импрессивной речи, в свою очередь, делятся на расстройства понимания устной и письменной речи. У больных первой группы были выявлены нарушения экспрессивной речи в 7 случаях (50 %, $p < 0.05$), тогда как во второй группе — в 14 случаях (26 %). В первой группе трудности понимания устной речи отмечались в 7 случаях (50 %, $p < 0.05$) случаев, тогда как во второй группе — в 9 (17 %). В обеих группах были выявлены нарушения письменной речи. В первой группе: дислексия и дисграфия — в одном случае (7 %), во второй группе: акалькулия, дисграфия — в одном случае (2 %), дислексия — в двух случаях (4 %). Дисфазия диагностирована у 10 чел. (71 %, $p < 0.05$) в первой группе и у 15 чел. (28 %) — во второй, причем моторная афазия в первой группе составила 7 % (1 чел.), а во второй — 11 % (6 чел.); сенсомоторная дисфазия — 64 % (9 чел.) и 17 % (9 чел.) соответственно (рис. 2).

Как мы видим, более сложные моторные и сенсорные речевые расстройства наблюдаются в группе больных, которым была проведена ТЛТ, что в целом противоречит имеющимся литературным данным о том, что успешно проведенный в первичном сосудистом отделении тромболизис обеспечивает достаточно высокий уровень восстановления как двигательных, так и речевых функций, поэтому часто не требуется направления больных на 2-й этап реабилитации. Это противоречие, на наш взгляд, связано с нарушением протоколов тромболитической терапии и ошибками в определении показаний и противопоказаний к ее проведению.

Уровень удовлетворенности собственным состоянием по ВАШ составил соответственно в первой группе 47 %, во второй группе — 39 %.

По результатам обследования психолога в первой группе у 5 больных (36 %) не выявлено когнитивных нарушений, у 1 пациента (7 %) — легкие когнитивные нарушения, у 2 (14 %) — нарушения средней степени тяжести, у 6 (43 %) — тяжелый когнитивный дефицит. Во второй группе только у 5 больных (9 %, $p < 0.05$) не зарегистрировано когнитивных расстройств, легкие

transfer patients to the 2nd stage of rehabilitation. This contradiction, in our opinion, is associated with a violation of the protocols of thrombolytic therapy and errors in determining the indications and contraindications for its implementation.

The level of satisfaction with one's own state according to the VAS was, respectively, in the first group 47%, in the second group — 39%.

According to the results of the psychologist's examination, in the first group, 5 patients (36%) did not have any cognitive impairments, 1 patient (7%) had low-grade cognitive impairments, 2 (14%) had mild impairments, 6 (43%) had severe cognitive deficits. In the second group, only 5 patients (9%, $p < 0.05$) did not have cognitive impairments; low-grade cognitive impairments were detected in 16 patients (30%, $p < 0.05$), mild severity — in 27 (50%, $p < 0.05$), and severe cognitive deficit — in 6 (11%, $p < 0.05$).

The results of assessing of cognitive deficit on the BNCE scale were as follows: the mean score in both groups was almost the same and amounted to 19.3 ± 0.1 in the 1st group and 18.9 ± 0.2 in the 2nd group, which indicates mild cognitive impairments. Thus, among patients admitted to the second stage of rehabilitation, a more pronounced cognitive deficit was also revealed among patients of the group 1, which may be associated with complications of TLT or incorrect management of TLT.

One of the confirmations of this assumption is that in most cases, hemorrhagic transformation does not affect the severity of neurological disorders and the prognosis of the disease (the so-called asymptomatic hemorrhagic transformation). In contrast, symptomatic hemorrhagic transformation is a life-threatening complication of thrombolysis. Thus, according to the SITS-ISTR register, the range of systolic blood pressure at which the risk of developing symptomatic intracerebral hemorrhage is minimal is 140–150 mm Hg [10]. Moreover, according to the same data, the risk of death and severe disability in patients who underwent systemic thrombolysis was the lowest in the systolic blood pressure range of 140–160 mm Hg [10], which must be strictly controlled during TLT at the level of an angio suite. The following factors are also distinguished, associated with an increased risk of developing symptomatic hemorrhagic transformations of myocardial infarction during therapy with rt-PA: an increased glucose level and/or diabetes mellitus in history, severe neurological disorders, advanced age, a long period of time before treatment, prior administration of acetylsalicylic acid preparations, congestive heart failure, violation of the rt-PA administration protocol.

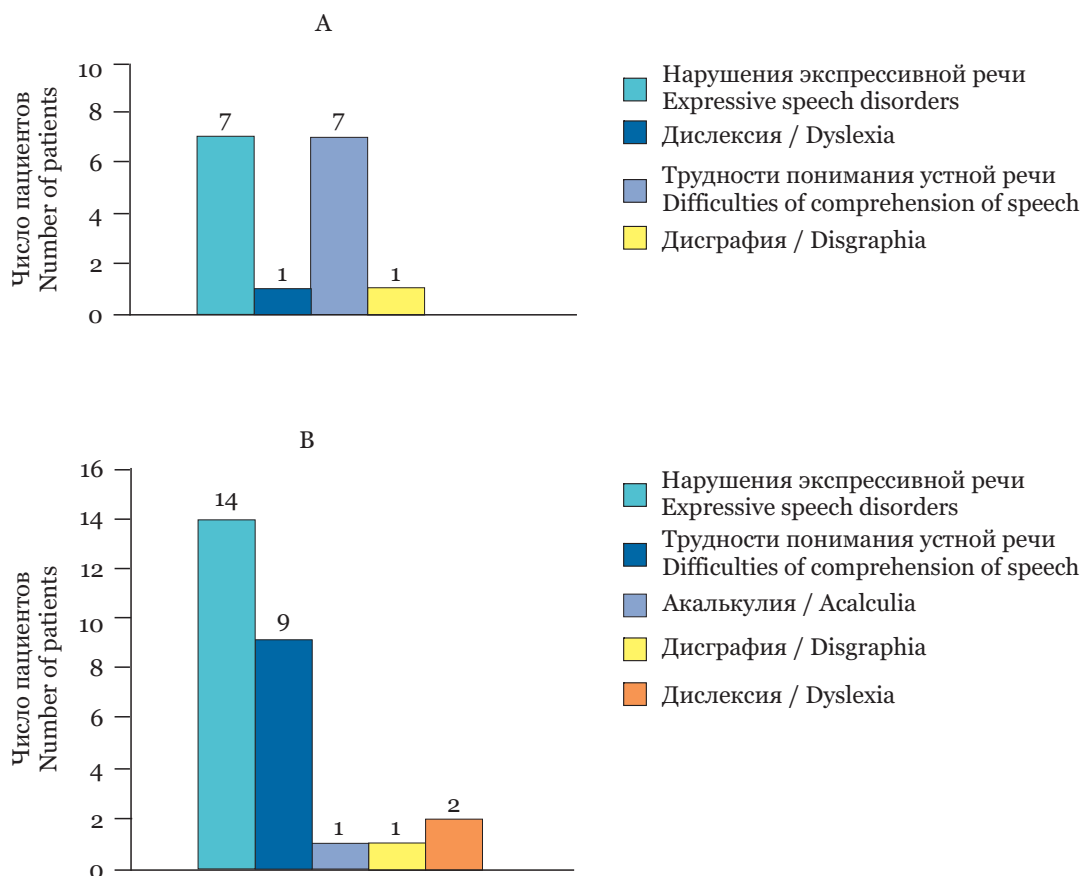


Рис. 2. Характер речевых нарушений в исследуемых группах:

А — группа с ТЛТ; В — группа без ТЛТ

Fig. 2. The nature of speech disorders in the studied groups:

А — group with TLT; В — group without TLT

когнитивные нарушения были выявлены у 16 чел. (30 %, $p < 0.05$), средней степени тяжести — у 27 (50 %, $p < 0.05$), а тяжелый когнитивный дефицит — у 6 (11 %, $p < 0.05$).

Результаты оценки когнитивного дефицита по шкале КНОКС были следующими: средний балл в обеих группах почти не отличался и составил 19.3 ± 0.1 в 1-й группе и 18.9 ± 0.2 во 2-й группе, что свидетельствует об умеренных когнитивных нарушениях. Таким образом, среди больных, поступивших на второй этап реабилитации, более выраженный когнитивный дефицит выявлен также среди больных 1-й группы, что, возможно, связано с осложнениями ТЛТ или некорректностью ведения протоколов ТЛТ.

Одним из подтверждений данного предположения является то, что в большинстве случаев геморрагическая трансформация не влияет на выраженность неврологических нарушений и прогноз заболевания (так называемая асимптомная геморрагическая трансформация). В противоположность этому симптомная геморрагическая

CONCLUSION

The described neurosomatic status of patients with CVA, who underwent TLT, indicates the prevalence of men of retirement age with the hemispheric infarction, which is combined with impairments of both impressive and expressive speech and mild cognitive impairments. The presence of more severe speech disorders in the first group of patients, on the one hand, is associated with a smaller number of the 1st group (TLT target is 5%), as well as with the fact that patients with the absence of cognitive, motor and speech disorders are transferred to the 3rd stage of rehabilitation, bypassing the 2nd stage), and on the other hand, with the appearance of possible hemorrhagic complications against the background of TLT, which dictates the need for closer control over the maintenance of reperfusion therapy protocols in the acute period of ischemic stroke.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

трансформация — грозное осложнение тромболизиса. Так, по данным регистра SITS-ISTR, диапазон систолического АД, при котором риск развития симптомных внутримозговых кровоизлияний является минимальным, составляет 140–150 мм рт. ст. [10]. Более того, по этим же данным, риск смерти и тяжелой инвалидизации у пациентов, которым был проведен системный тромболизис, был наименьшим в диапазоне систолического АД 140–160 мм рт. ст. [10], что необходимо строго контролировать при проведении ТЛТ на уровне первичного сосудистого отделения. Также выделяют следующие факторы, связанные с повышенным риском развития симптомных геморрагических трансформаций инфаркта на фоне терапии rt-PA: повышенный уровень глюкозы и/или сахарный диабет в анамнезе, выраженные неврологические нарушения, пожилой возраст, длительный промежуток времени до лечения, предшествующий прием препаратов ацетилсалициловой кислоты, застойная сердечная недостаточность, нарушение протокола введения rt-PA.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Академия инсульта. Альманах № 3. Материалы Школы Научного центра неврологии (ФГБНУ НЦН) по сосудистым заболеваниям мозга / ред. М.А. Пирадова, М.М. Танащян. М.: Медиа Менте, 2015. 176 с.
2. Мачинский П.А., Плотникова Н.А., Ульянов В.Е., Кемайкин С.П., Рыбаков А.Г. Сравнительная характеристика показателей смертности и летальности от ишемического и геморрагического инсультов в России // Известия вузов. Поволжский регион. Медицинские науки. Патологическая анатомия. 2019. № 3 (51). С. 101–118.
3. Попова Л.М., Пирогов В.Н. Тромболитическая терапия стрептодеказой при ишемическом инсульте // Журн. невропатологии и психиатрии. 1986. № 12. С. 1777–1781.
4. Суслина З.А., Кистенев Б.А., Гераскина Л.А., Танащян М.М. Тромболитическая терапия при ишемическом инсульте (опыт применения урокиназы) // Неврол. журн. 1997. Т. 2, № 5. С. 20–24.
5. Шамалов Н.А., Анисимов К.В., Кустова М.А., Толмачев А.П. Факторы, влияющие на эффективность и безопасность системного тромболизиса у пациентов с ишемическим инсультом // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2014. № 3. С. 61–68.
6. Максимов Р.С., Деомидов Е.С., Нестерин К.В. Тромболитическая терапия при ишемическом инсульте // Academy. 2017. Т. 1, № 6 (21). С. 84–88.
7. Menichelli A., Furlanis G., Sartori A. et al. Thrombolysis' benefits on early post-stroke language recovery in aphasia patients // J. Clin. Neurosci. 2019. Vol. 70. P. 92–95.
8. Scheitz J.F., Abdul-Rahim A.H., MacIsaac R.L. et al. Clinical selection strategies to identify ischemic stroke

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный нейросоматический статус пациентов с ОНМК, которым была проведена ТЛТ, свидетельствует о преобладании мужчин пенсионного возраста с наличием полушарного инфаркта, который сочетается с наличием расстройств как импрессивной, так и экспрессивной речи и умеренных когнитивных нарушений. Наличие более грубых речевых расстройств в первой группе больных, с одной стороны, связано с меньшим объемом выборки (целевой показатель ТЛТ 5 %), а также с тем, что больные с отсутствием когнитивных, двигательных и речевых расстройств направляются на 3-й этап реабилитации, минуя 2-й этап, а с другой — с появлением возможных геморрагических осложнений на фоне проводимой ТЛТ, что диктует необходимость более пристального контроля за ведением протоколов реперфузионной терапии в острейшем периоде ишемического инсульта.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Piradova M.A., Tanashyan M.M. (eds.) (2015). *Stroke Academy. Almanac No. 3. Materials of the School of the Research Center of Neurology on vascular diseases of the brain*. Moscow: Media Mente, 176 p. In Russ.
2. Machinsky P.A., Plotnikova N.A., Ul'yankin V.E., Kemaykin S.P., Rybakov A.G. (2019). Comparative characteristics of the indicators of mortality and letality from ischemic and hemorrhagic insult in Russia. *University Proceedings. Volga Region. Medical Sciences. Pathological Anatomy*, 3 (51), 101–118.
3. Popova L.M., Pirogov V.N. (1986). Thrombolytic therapy with streptodecase for ischemic stroke. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 12, 1777–1781. In Russ.
4. Suslina Z.A., Kistenev B.A., Geraskina L.A., Tanashyan M.M. (1997). Thrombolytic therapy for ischemic stroke (experience with urokinase). *Neurology Journal*, 2 (5), 20–24. In Russ.
5. Shamalov N.A., Anisimov K.V., Kustova M.A., Tolmachev A.P. (2014). Factors influencing the efficiency and safety of systemic thrombolysis in patients with ischemic stroke. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*, 3, 61–68.
6. Maksimov R.S., Deomidov E.S., Nesterin K.V. (2017). Thrombolytic therapy for ischemic stroke. *Academy*, 1, 6 (21), 84–88. In Russ.
7. Menichelli A., Furlanis G., Sartori A. et al. (2019). Thrombolysis' benefits on early post-stroke language recovery in aphasia patients. *J. Clin. Neurosci.*, 70, 92–95.
8. Scheitz J.F., Abdul-Rahim A.H., MacIsaac R.L. et al. (2017). Clinical selection strategies to identify ischemic stroke patients with large anterior vessel occlusion. *Stroke*, 48 (2), 290–297.

- patients with large anterior vessel occlusion // *Stroke*. 2017. Vol. 48 (2). P. 290–297.
9. Pedra E. de F.P., Pontes V.L., Mourão A.M., Braga M.A., Vicente L.C.C. Post-stroke patients with and without thrombolysis: analysis of deglutition in the acute phase of the disease // *CoDAS*. 2020. Vol. 32 (1): e20180229.
 10. Ahmed N., Wahlgren N., Grond M. Implementation and outcome of thrombolysis with alteplase 3–4,5 h after an acute stroke: an updated analysis from SITS-ISTR // *Lancet Neurol*. 2010. Vol. 9. P. 866–874.
 11. Furlanis G., Ridolfi M., Polverino P. et al. Early recovery of aphasia through thrombolysis: the significance of spontaneous speech // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2018. Vol. 27 (7). P. 1937–1948.
 12. Евстифеева Е.А., Филиппченкова С.И., Мурашова Л.А., Бахарева О.Н. Показатели качества жизни, когнитивные нарушения и тревожно-депрессивные расстройства у больных ишемическим инсультом на фоне медицинской реабилитации // *Вестн. Межнац. центра исследования качества жизни*. 2019. № 33–34. С. 68–77.
 13. Schwab-Malek S., Vatankeh B., Bogdahn U., Horn M., Audebert H.J. Depressive symptoms and quality of life after thrombolysis in stroke: the TEMPiS study // *J. Neurol*. 2010. Vol. 257 (11). P. 1848–1854.
 9. Pedra E. de F.P., Pontes V.L., Mourão A.M., Braga M.A., Vicente L.C.C. (2020). Post-stroke patients with and without thrombolysis: analysis of deglutition in the acute phase of the disease. *CoDAS*, 32 (1): e20180229.
 10. Ahmed N., Wahlgren N., Grond M. (2010). Implementation and outcome of thrombolysis with alteplase 3–4,5 h after an acute stroke: an updated analysis from SITS-ISTR. *Lancet Neurol.*, 9, 866–874.
 11. Furlanis G., Ridolfi M., Polverino P. et al. (2018). Early recovery of aphasia through thrombolysis: the significance of spontaneous speech. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, 27 (7), 1937–1948.
 12. Evstifeeva E.A., Filippchenkova S.I., Murashova L.A., Bakhareva O.N. (2019). Indicators of quality of life, cognitive disorders and anxiety-depressive disorders in patients with ischemic stroke during medical rehabilitation. *Bull. of the Multinational Center of Quality of Life Research*, 33–34, 68–77.
 13. Schwab-Malek S., Vatankeh B., Bogdahn U., Horn M., Audebert H.J. (2010). Depressive symptoms and quality of life after thrombolysis in stroke: the TEMPiS study. *J. Neurol.*, 257 (11), 1848–1854.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бахарева Ольга Николаевна — доцент кафедры неврологии, реабилитации и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России.

Чичановская Леся Васильевна — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии, реабилитации и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России.

Зайцева Александра Анатольевна — студентка 5-го курса ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России.

Морозов Александр Сергеевич — студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России.

Бахарев Станислав Александрович — преподаватель ФГКОУ ВО «Московский университет Министерства внутренних дел РФ им. В.Я. Кикотя», Тверской филиал.

Образец цитирования: Бахарева О.Н., Чичановская Л.В., Зайцева А.А., Морозов А.С., Бахарев С.А. Выраженность речевых и когнитивных нарушений у больных ишемическим инсультом на втором этапе реабилитации на фоне проведенной тромболитической терапии // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2021. № 3. С. 34–44.

ABOUT THE AUTHORS

Bakhareva Olga Nikolaevna — Assistant Professor, Department of Neurology, Rehabilitation and Neurosurgery, Tver State Medical University.

Chichanovskaya Lesya Vasil'evna — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Neurology, Rehabilitation and Neurosurgery, Tver State Medical University.

Zaytseva Aleksandra Analol'evna — 5th year Student, Tver State Medical University.

Morozov Aleksandr Sergeevich — 6th year Student, Tver State Medical University.

Bakharev Stanislav Aleksandrovich — Faculty Member, Moscow University of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation named after V.Ya. Kikot', Tver branch.

Citation example: Bakhareva O.N., Chichanovskaya L.V., Zaytseva A.A., Morozov A.S., Bakharev S.A. (2021). The intensity of speech and cognitive disorders in patients with ischemic stroke at the second stage of rehabilitation against the background of thrombolytic therapy. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 34–44.

Анальгетическая активность новых производных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов в тесте горячей пластины

Бибик Е.Ю.¹, Курбанов Л.И.¹, Григорян С.А.¹, Кривоколыско Д.С.¹, Кудрина М.А.¹, Панков А.А.², Фролов К.А.^{1,2}, Доценко В.В.^{2,3}, Кривоколыско С.Г.^{1,2}

¹ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки»

²ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет имени Владимира Даля» (Луганск)

³ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет» (Краснодар)

The analgesic activity of new sulfur-containing di- and tetrahydropyridine derivatives in the hot plate test

Bibik E.Yu.¹, Kurbanov L.I.¹, Grygoryan S.A.¹, Krivokolysko D.S.¹, Kudrina M.A.¹, Pankov A.A.², Frolov K.A.^{1,2}, Dotsenko V.V.^{2,3}, Krivokolysko S.G.^{1,2}

¹St. Luka Lugansk State Medical University

²Vladimir Dahl Lugansk State University

³Kuban State University (Krasnodar)

АННОТАЦИЯ

В настоящее время поиск новых высокоэффективных и безопасных средств фармакотерапии заболеваний, сопровождающихся болевым синдромом, является актуальным направлением современных фармакологических исследований.

Синтезированные на базе научно-исследовательской лаборатории «Химэкс» (Луганский государственный университет им. Владимира Даля) 170 новых производных ди- и тетрагидропиридинов были подвергнуты виртуальному биоскринингу с использованием комплекса программного обеспечения Swiss Target Prediction. В статье описаны скрининговые исследования *in vivo* 5 образцов серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов (лабораторные шифры d02-138, as-262, f02-079, cv-074, cv-143) в классическом тесте горячей пластины в сравнении с референтным препаратом — метамизолом натрия. Соединения вводили внутривенно в дозе 5 мг/кг за 1.5 ч до помещения крыс на горячую пластину, препарат сравнения — также за 1.5 ч до помещения на горячую пластину, внутривенно, в дозе 7 мг/кг.

Максимально выраженной анальгетической активностью в дозе 5 мг/кг обладают образцы с лабораторными шифрами as-262 (аллил 6-({2-[(4-ацетилфенил)амино]-2-оксоэтил}тио)-5-циано-4-(2-фурил)-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксилат) и d02-138 (этил 4-({[3-циано-5-[(2,4-дигидрофенил)амино]карбонил]-4-(2-фурил)-6-метил-1,4-дигидропиридин-2-ил}тио)ацетил)амино]бензоат), которые оказались в 2.03 и 1.9 раза соответственно эффективнее метамизола натрия. Остальные три образца показали аналогичную метамезолу натрия болеутоляющую активность.

Ключевые слова: серосодержащие ди- и тетрагидропиридины, анальгетическая активность.

ABSTRACT

Nowadays the search of new high-efficiency and safe drugs for the pharmacotherapy of diseases accompanied by pain syndrome is an active area of modern pharmacological research.

Поступила 01.02.2021

Принята 18.02.2021

Автор, ответственный за переписку

Бибик Елена Юрьевна: ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки». 91045, г. Луганск, квартал 50-летия Обороны Луганска, 1г, Луганская Народная Республика. E-mail: helen_bibik@mail.ru

Received 01.02.2021

Accepted 18.02.2021

Corresponding author

Bibik Elena Yuryevna: St. Luka Lugansk State Medical University, 1g, Kvaratal 50-letiya Oborony Luganska, Lugansk, 91045, Lugansk People's Republic. E-mail: helen_bibik@mail.ru

170 new derivatives of di- and tetrahydropyridines synthesized on the basis of the Chemex Research Laboratory, Vladimir Dahl Lugansk State University were exposed to the virtual bioscreening using the Swiss Target Prediction software. The paper describes screening studies *in vivo* of 5 samples of sulfur-containing di- and tetrahydropyridines (laboratory codes do2-138, as-262, fo2-079, cv-074, cv-143) in the standard hot plate test in comparison with the reference drug — metamizole sodium. The compounds in the dose of 5 mg/kg were given intragastrically 1 hour and a half before placing the rats on the hot plate, the reference drug in the dose of 7 mg/kg also was given intragastrically 1 hour and a half before placing the rats on the hot plate.

The compounds with laboratory codes as-262 (allyl 6-({2-[(4-acetylphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-5-cyano-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate) and do2-138 (ethyl 4-({[3-cyano-5-[(2,4-dichlorophenyl)amino]carbonyl]-4-(2-furyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridine-2-yl}thio}acetyl)amino]benzoate) possess the most pronounced analgesic activity in the dose of 5 mg/kg, they demonstrated 2.03 and 1.9-fold efficiency in comparison to metamizole sodium respectively. The rest three specimens demonstrated metamizole sodium-like analgesic activity.

Keywords: sulfur-containing di- and tetrahydropyridines, analgesic activity.

ВВЕДЕНИЕ

В современной клинической практике распространенность болевого синдрома чрезвычайно велика, учитывая многочисленные и разноплановые этиологические причины, его вызывающие [1–4]. Эксперты ВОЗ сообщают, что 90 % всех заболеваний связаны с болью. Современные исследователи осуществляют поиск новых методов обезболивания, поскольку практикующие врачи различных специальностей ежедневно сталкиваются с потребностью купирования болевого синдрома [5]. В анестезиологической практике, наряду с непосредственным эффективным и безопасным обезболиванием хирургического вмешательства, важно осуществить превентивную анальгезию и благоприятное течение послеоперационного периода [6].

Принимая во внимание наличие значительного количества разнообразных побочных эффектов у применяемых в настоящее время в клинической практике нестероидных противовоспалительных средств, поиск новых высокоэффективных и безопасных средств фармакотерапии воспалительных заболеваний является актуальным направлением современных фармакологических исследований [7–10]. Особый интерес в настоящее время представляют производные цианоацетамида, обладающие высокой активностью в отношении вирусов клещевого энцефалита и Повассан [11], а также выраженными противовоспалительным [12] и аналептическим [13] эффектами, адаптогенным действием [14] и умеренной анти-ВИЧ-активностью [15]. Эти соединения могут использоваться для ингибирования аутоаксина [16] и угнетения образования бета-амилоидного пептида [17].

INTRODUCTION

In current clinical practice the prevalence of pain syndrome is extremely high taking into consideration numerous and diverse etiological causing it [1–4]. WHO experts report that 90% of all the diseases are associated with pain. Present day researchers are searching for new analgesic techniques since medical practitioners of various specialties meet the necessity of pain management every day [5]. In practice of anesthesia it is important to control the preventive analgesia and favorable course of postoperative period alongside with directly effective and safe anesthesia of surgical intervention [6].

Taking into consideration the presence of significant number of various side effects in non-steroidal anti-inflammatory drugs applied in the clinical practice nowadays, the search of highly effective and safe drugs of inflammatory disease pharmacotherapy is the active area in current pharmacological research [7–10]. The derivatives of cyanothioacetamide possessing high activity with respect to tick-borne encephalitis and Powassan viruses [11], as well as pronounced anti-inflammatory [12] and analeptic [13] effects, adaptogenic effect [14] and mild anti-HIV-activity [15] are of particular interest nowadays. These compounds can be applied for autotaxin inhibition [16] and beta-amyloid peptide formation suppression [17].

Synthesized on the base of Chemex Scientific Laboratory (Vladimir Dahl Luhansk State University) 170 new derivatives of di- and tetrahydropyridines were subjected to virtual bioscreening using the complex software Swiss Target Prediction, developed by scientists from Swiss Institute of Bioinformatics (<http://swisstargetprediction.ch/in->

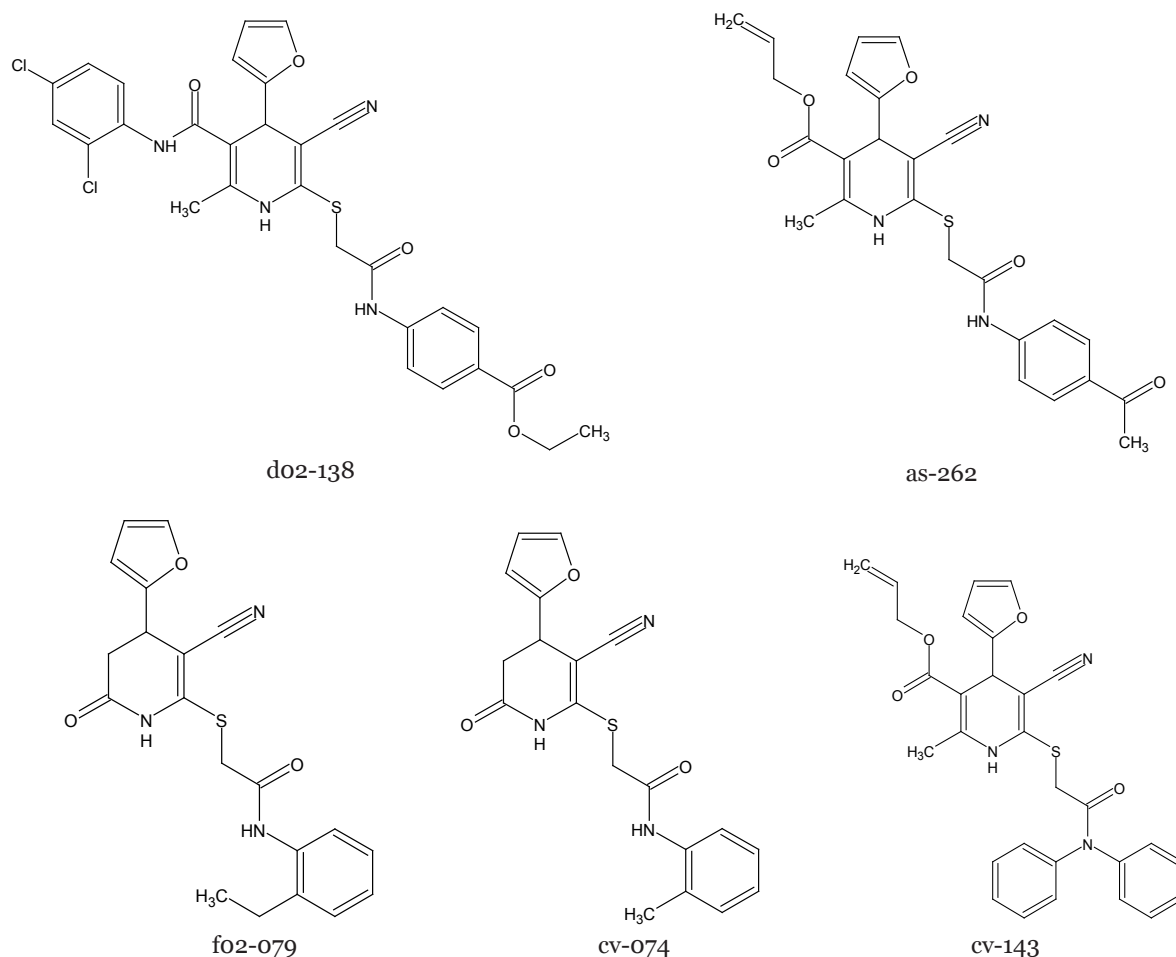


Рис. 1. Структурные химические формулы исследуемых производных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов
Fig. 1. Structural chemical formulas of studied sulfur-containing di- and tetrahydropyridines derivatives

Синтезированные нами на базе научно-исследовательской лаборатории «Химэкс» (Луганский государственный университет им. Владимира Даля) 170 новых производных ди- и тетрагидропиридинов были подвергнуты виртуальному биоскринингу с использованием комплекса программного обеспечения Swiss Target Prediction, разработанного учеными Swiss Institute of Bioinformatics (<http://swisstargetprediction.ch/index.php>), on-line pecyпов: Online SMILES Translator and Structure File Generator (U.S. National Cancer Institute; <https://cactus.nci.nih.gov/translate/>), OPSIN: Open Parser for Systematic IUPAC nomenclature (University of Cambridge, Centre for Molecular Informatics; <https://opsin.ch.cam.ac.uk/>) [18].

Отобранные с помощью программ виртуального биоскрининга пять образцов серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов являются наиболее перспективными, с учетом предполагаемых биомишеней для фармакокоррекции болевого синдрома. Их химические формулы пред-

даны (http://www.cheminformatics.org.uk/dex.php), on-line resources: Online SMILES Translator and Structure File Generator (U.S. National Cancer Institute; <https://cactus.nci.nih.gov/translate/>), OPSIN: Open Parser for Systematic IUPAC nomenclature (University of Cambridge, Centre for Molecular Informatics; <https://opsin.ch.cam.ac.uk/>) [18].

Five sulfur-containing di- and tetrahydropyridines specimens selected by means of virtual bio-screening software are the most promising ones considering the supposed biotargets for therapy of pain syndrome. Their chemical formulas are represented in Fig. 1. The compounds are recommended for further preclinical trials in the experiments with lab animals for the analgesic activity study.

Before then the experimental studies on the acute oral toxicity of compound with similar chemical structure have been conducted [19]. The advantage of the entire class of synthesized and studied cyanothioacetamide derivatives is their affiliation with low toxicity compounds (5 toxicity class, $LD_{50} \geq 5000$ mg/kg).

ставлены на рис. 1. Соединения рекомендуются для дальнейших доклинических исследований в опытах на лабораторных животных по изучению анальгетической активности.

Ранее нами были проведены экспериментальные исследования по изучению острой пероральной токсичности соединений сходной химической структуры [19]. Преимуществом всего класса синтезированных нами и исследуемых производных цианотиоацетамида является их принадлежность к малотоксичным соединениям (5-й класс токсичности, $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение анальгетической активности синтезированных образцов новых производных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов в классическом тесте горячей пластины (hot plate) на белых крысах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на белых беспородных крысах-самцах массой 220–250 г, полученных из вивария ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», в осенне-зимний период в лаборатории кафедры фундаментальной и клинической фармакологии при следующих условиях:

- режим освещения: естественный;
- температура окружающей среды: 22–24 °C;
- относительная влажность воздуха: 40–50 %.

Объем выборки — 70 особей, согласно расчетам онлайн-калькулятора (<https://medstatistic.ru/calculators/calsize.html>) и рекомендациям [20].

Исследования проводили в соответствии с правилами лабораторной практики, устанавливающими требования к доклиническим исследованиям в РФ (приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н), с правилами и Международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных исследованиях (1997 г.).

Экспериментальные группы формировали методом случайного отбора. Перед началом эксперимента все лабораторные животные проходили адаптацию в течение 14 дней. Крысы были разделены на 7 групп (по 10 особей в каждой): контрольную (без фармакокоррекции), референтную (группа сравнения — метамизол натрия) и 5 опытных групп по количеству исследуемых серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов.

AIM OF THE RESEARCH

To study the analgesic activity of the synthesized samples of new sulfur-containing di- and tetrahydropyridines derivatives in the standard hot plate test in white rats.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out in white outbred male rats weighing 220–250 g received from the vivarium of the St. Luka Lugansk State Medical University during autumn-winter period in the laboratory of Fundamental and Clinical Pharmacology Department in the following conditions:

- lighting mode: natural;
- temperature: 22–24 °C;
- relative humidity: 40–50%.

Sample size is 70 individuals according to on-line calculator computation (<https://medstatistic.ru/calculators/calsize.html>) and references [20].

The study was carried out in compliance with laboratory practice principles establishing the requirements for preclinical studies in the Russian Federation (the order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of August 23, 2010, No. 708н), with the principles and International References of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or other Scientific Purpose (1997).

The experimental groups were formed by the method of random selection. Before the experiment all the lab animals had undergone the adaption for 14 days. The rats were divided into 7 groups (10 individuals in each one): the control group (without drug therapy), the reference group (metamizole sodium) and 5 experimental groups according to the number of studied sulfur-containing di- and tetrahydropyridines.

The analgesic activity was estimated in the hot plate test based on behavioral reactions controlled by supraspinal structures in response to pain stimulation [21]. The animals were placed on the metal plate heated up to 52 °C (50–55 °C) on average, surrounded by the cylinder. The time from rats' being placed on the hot surface to the appearance of behavioral response to the nociceptive stimulation as springs, withdrawals, and licking the hind legs was recorded. The animals in the control group were introduced 2 ml of 0.9% sodium chloride solution intragastrically. As a reference drug for the reference group metamizole sodium was used (Analgin, Pharmstandard JSC) in a dose of 7 mg/kg. The drug was introduced intragastrically 1 hour and a half before rats' being

Определение анальгетической активности проводилось в тесте горячей пластины, основанном на поведенческих реакциях, контролируемых супраспинальными структурами, в ответ на болевое раздражение, согласно [21]. Животных помещали на разогретую в среднем до 52 °C (50–55 °C) металлическую пластину, окруженную цилиндром. Регистрировалось время с момента помещения на горячую поверхность до появления поведенческого ответа на ноцицептивную стимуляцию в виде прыжков, отдергиваний и облизываний задних лап. Животным контрольной группы вводили 2 мл 0.9% р-ра хлорида натрия внутривенно. В качестве препарата сравнения для референтной группы крыс использован метамизол натрия (Анальгин, ОАО «Фармстандарт») в дозе 7 мг/кг. Его вводили внутривенно за 1.5 ч до помещения крыс на поверхность горячей пластины. Пять образцов оригинальных вновь синтезированных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов вводили внутривенно в дозе 5 мг/кг за 1.5 ч до помещения крыс на горячую пластину. Критерием анальгетического эффекта принят количественный показатель — достоверное увеличение латентного периода реакции после введения вещества.

Поэтому статистическая обработка полученных результатов производилась согласно [22, 23] и по известным формулам и методам математической статистики, характеризующим количественную изменчивость принятого критерия. В процессе обработки экспериментальных данных определялись:

- среднее арифметическое времени латентного периода до начала прыжков с поверхности горячей пластины a , с;
- дисперсия значений σ^2 вокруг среднего арифметического;
- среднеквадратическое отклонение σ ;
- коэффициент вариации V .

Достоверность отличий рассчитывали по методу Уилкоксона, в сравнении с контрольной группой животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований анальгетической активности пяти оригинальных, вновь синтезированных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов в тесте горячей пластины представлены в табл. 1. На основе анализа данных, представленных в табл. 1, время до начала подпрыгиваний с поверхности горячей пластины у крыс контрольной группы составило 18.3 с. Предварительное введение ненаркотического

placed on the hot plate surface. Five original newly synthesized samples sulfur-containing di- and tetrahydropyridines were introduced intragastrically at a dose of 5 mg/kg 1 hour and a half before rats' being placed on the hot plate surface. The indicator of analgesic effect is considered a quantitative index — the reliable increase of latency after the substance injection.

Therefore, the statistical processing of obtained data was performed according to [22, 23] both well-known formulas and methods of mathematical statistics defining quantitative variability of the assumed indicator. In experimental data processing were defined following:

- the arithmetical mean of latency before the start of springs from the hot plate surface a , s;
- σ^2 value variance around the average mean;
- standard deviation σ ;
- variation coefficient V .

The significance of differences was calculated according to Wilcoxon signed-rank test in comparison with the control group of animals.

RESULTS AND DISCUSSION

The data of analgesic activity study of original newly synthesized sulfur-containing di- and tetrahydropyridines in the hot plate test are represented in Table 1. Based on data analyses represented in Table 1 the time before the beginning of springs off the hot plate surface is 18.3 s in the rats of the control group. The preliminary injection of metamizole sodium 1 hour and a half before rats' being placed in the hot plate demonstrates the longer latency before nociceptive impulse arises as much as 79.78% and is 32.9 s. It confirms the presence of marked analgesic effect in the range of pharmacological drug activity.

In the animals of five experimental groups receiving various samples of partially hydrogenated pyridines containing benzocaine fragment in their structure, the increased time before the beginning of the springs over the heated up metal plate surface is recorded, that proves the demonstration of antinociceptive activity exceeding the one in metamizole sodium (Fig. 2). It is evident from Fig. 2 that tetrahydropyridines with the codes fo2-079 and cv-143 demonstrated the values of latency of animals' staying on the hot plate being similar to same values in the reference group.

It has been revealed that 1,4-dihydrothiopyridine with lab code cv-074 increases nearly 2-folds the time before the beginning of the springs over the heated up metal plate surface in the rats of the corresponding experimental group in comparison with

Таблица 1. Дисперсионный анализ показателей аналгетической активности

(по длительности латентного периода пребывания животных на горячей пластине) вновь синтезированных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов в динамике повышения эффективности

Table 1. Analysis of variance of the analgesic activity values (according to the latency of the animals' being placed on the hot plate) of newly synthesized sulfur-containing di- and tetrahydropyridines in the dynamics of effectiveness increase

Группа животных Animal group	Среднее арифметическое $\bar{a}$, с Arithmetical mean $\bar{a}$, s	Дисперсия σ^2 Variance σ^2	Среднеквадратическое отклонение σ Standard deviation σ	Коэффициент вариации V Variation coefficient V
1. Контрольная (2 мл 0.9% р-ра хлорида натрия) Control (2 ml 0.9% sodium chloride solution)	18.3	38.7	6.2	33.9
2. Сравнения (метализол натрия, 7 мг/кг) Reference (metalizole sodium, 7 mg/kg)	32.9	154.9	12.4	37.8
3. fo2-079 (5 мг/кг) (5 mg/kg)	34.8	178.2	13.3	38.4
4. cv-143 (5 мг/кг) (5 mg/kg)	35.7	29.0	17.0	47.7
5. cv-074 (5 мг/кг) (5 mg/kg)	39.7	117.1	10.8	27.3
6. do2-138 (5 мг/кг) (5 mg/kg)	62.6	908.0	30.1	48.1
7. as-262 (5 мг/кг) (5 mg/kg)	66.8	392.2	19.8	29.6

анальгетика метамизола натрия за 1.5 ч до помещения крыс на разогретую пластину показывает увеличение латентного периода до возникновения ноцицептивного импульса на 79.78 % и составляет 32.9 с. Это подтверждает наличие выраженного болеутоляющего эффекта в спектре фармакологической активности препарата.

У животных пяти опытных групп, получавших различные образцы частично гидрированных пиридинов, содержащих в своей структуре анестезиновый фрагмент, зарегистрировано увеличение времени до начала подпрыгиваний над поверхностью разогретой металлической пластины, что подтверждает проявление антиноцицептивной активности, превосходящей таковую у метамизола натрия (рис. 2). Как видно из рис. 2, тетрагидропиридины с лабораторными шифрами fo2-079 и cv-143 показали значения длительности латентного периода пребывания животных на горячей пластине, аналогичные таковым в группе сравнения.

Выявлено, что 1,4-дигидротиопиридин с лабораторным шифром cv-074 увеличивает время до начала подпрыгиваний над поверхностью разогретой металлической пластины у крыс соответствующей опытной группы в сравнении с контрольной почти в два раза (на 195 %). В сравнении с показателями в референтной группе этот образец эффективнее метамизола натрия на 20.6 % по болеутоляющей активности.

the control one (by 195%). In comparison with the reference group values this sample is more effective than metamizole sodium by 20.6% according to the analgesic activity.

According to analgesic activity force the compounds do2-138 and as-262 are the leading ones among the studied samples in the conducted test.

The animals in the experimental group receiving 1,4-dihydropyridine containing benzocaine fragment in its structure (lab code do2-138) 1 hour and a half before algogene injection with the preventive purpose were defined by sudden significant increase (3.4-fold) of latency of the simulated standard acute pain syndrome while comparing with the same values in the rats of control group. If one compares the considered value with the similar one in the reference group it has 1.9-folds overdrawing.

The sample with lab code as-262 demonstrated the 3.7-fold increase of time of animals' staying on the surface of heated up metal plate from the experimental group in comparison to that in the rats from the control group. In comparative analysis of these values with the similar ones in rats from the reference group the compound with lab code as-262 proved to have 2.03-fold efficiency according to analgesic activity if compared to metamizole sodium.

Obtained data on the analgesic activity of five new sulfur-containing di- and tetrahydropyridines verify the presence of antinociceptive properties in the range of pharmacologic activity. It agrees with the data of virtual bioscreening. So, 1,4-dihydropyridine with lab code do2-138 with a high probability can in-

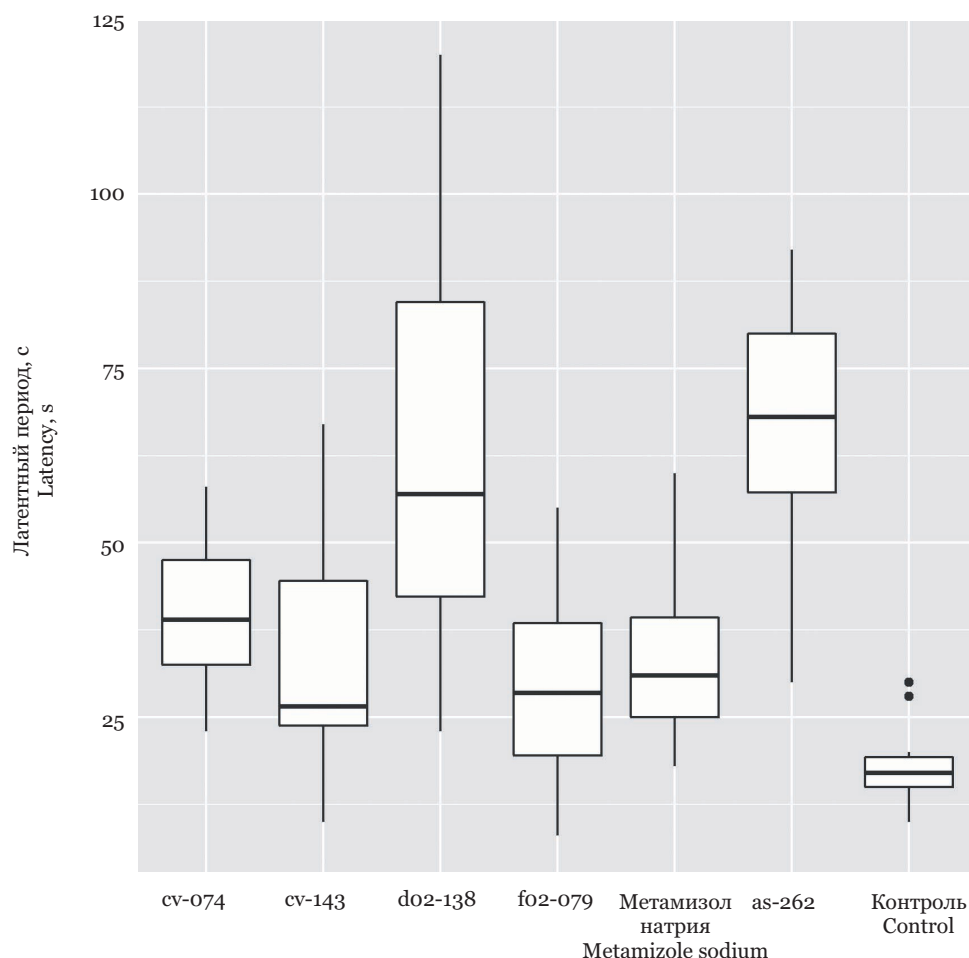


Рис. 2. Значение латентного периода в тесте горячей пластины у животных различных групп
Fig. 2. Value of latency in the hot plate test in the animals of different groups

По силе анальгетической активности в проведенном тесте соединения d02-138 и as-262 являются лидерами среди исследуемых образцов.

Животные опытной группы, получавшие с профилактической целью 1,4-дигидропиридин, содержащий в своей структуре фрагмент анестезина (лабораторный шифр d02-138), за 1.5 ч до введения альгогена, характеризовались резким, достоверным увеличением (в 3.4 раза) латентного периода моделируемого нами классического острого болевого синдрома, в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной группы. Если сравнивать рассматриваемый показатель с аналогичным в референтной группе, то он превышает его в 1.9 раза.

Образец с лабораторным шифром as-262 показал увеличение в 3.7 раза времени пребывания животных опытной группы на поверхности разогретой металлической пластины в сравнении с таковым у крыс контрольной группы. При сравнительном анализе этих показателей с аналогич-

fluence cyclooxygenase-2. Besides, the probable opportunity of its impact on cannabinoid receptors CB1 and CB2 is revealed that potentially increases the probability of pain sensation elimination. Tetrahydropyridines with lab codes cv-074 and f02-079 can bind with serotonin receptors (5-HT_{2A}), cannabinoid receptors CB1 and CB2, sigma-opioid receptors, as well as arachidonate-5-lipoxygenase. The data of conducted bioscreening also indicate their potential capacity to influence the metabotropic glutamate receptors type 5.

1,4-dihydropyridine with lab code cv-143 can have the analgesic activity due to potential impact on κ -opioids and cannabinoid receptors CB1 and CB2.

The sample with lab code as-262 with a high probability can bind to adenosine A₁-receptors. This sample can possess valuable features of a potential analgesic drug. It is a result of the impact on such biotargets as cyclooxygenase-2, serotonin (5-HT_{2A}), dopamine receptors (D2 and D3) and phosphodiesterase.

ными у крыс референтной группы соединение с лабораторным шифром as-262 оказалось в 2.03 раза эффективнее по болеутоляющей активности в сравнении с метамизолом натрия.

Полученные нами в эксперименте результаты по анальгетической активности пяти новых серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов подтверждают наличие в спектре их фармакологической активности антиноцицептивных свойств. Это согласуется с данными виртуального биоскрининга. Так, 1,4-дигидропиридин с лабораторным шифром do2-138 с высокой степенью вероятности способен воздействовать на циклооксигеназу-2. Кроме того, выявлена вероятная возможность его влияния на каннабиоидные рецепторы CB1 и CB2, что потенциально увеличит вероятность устранения болевых ощущений. Тетрагидропиридоны с лабораторными шифрами cv-074 и fo2-079 могут связываться с серотониновыми (5-HT_{2A}) рецепторами, каннабиоидными рецепторами CB1 и CB2, сигма-опиоидными рецепторами, а также с арахидонат-5-липоксигеназой. Результаты проведенного нами виртуального биоскрининга также указывают на их потенциальную способность воздействия на метаболитные глутаматные рецепторы пятого типа.

1,4-дигидропиридин с лабораторным шифром cv-143 может обладать анальгетической активностью вследствие потенциального влияния на капта-опиоидные рецепторы и каннабиоидные рецепторы CB1 и CB2.

Образец с лабораторным шифром as-262 с высокой степенью вероятности способен связываться с аденозиновыми A1-рецепторами. Данный образец может обладать ценными свойствами потенциального анальгетического средства. Это является следствием воздействия на такие биомишени, как циклооксигеназа-2, серотониновые (5-HT_{2A}), дофаминовые (D2 и D3) рецепторы и фосфодиэстераза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные *in vivo* исследования в тесте горячей пластины пяти новых серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов показали наличие максимально выраженной анальгетической активности в дозе 5 мг/кг у двух нижеприведенных соединений:

– as-262 (аллил 6-({2-[(4-ацетилфенил)амино]-2-оксоэтил}тио)-5-циано-4-(2-фурил)-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксилат) (в 2.03 раза эффективнее метамизола натрия);

CONCLUSION

The study of 5 new sulfur-containing di- and tetrahydropyridines in the hot plate test carried out *in vivo* demonstrated the presence of maximum pronounced analgesic activity in a dose of 5 mg/kg in two following compounds:

– as-262 (allyl 6-({2-[(4-acetylphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-5-cyano-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate) (possesses 2.03-fold efficacy *vs* metamizole sodium);

– do2-138 (ethyl 4-[[{3-cyano-5-[(2,4-dichlorophenyl)amino]carbonyl}-4-(2-furyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridine-2-yl]thio}acetyl)amino]benzoate) (possesses 1.9-fold efficacy *vs* metamizole sodium).

The sample with lab code cv-074 (2-{{3-cyano-4-(2-furyl)-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-2-yl}thio}-N-(2-methylphenyl)acetamide) demonstrates the moderately marked analgesic activity. The samples with lab codes fo2-079 (2-{{3-cyano-4-(2-furyl)-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-2-yl}thio}-N-(2-ethylphenyl)acetamide) and cv-143 (allyl 5-cyano-6-{{2-(diphenylamino)-2-oxoethyl}thio}-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate) demonstrated the analgesic activity compared to the effect of reference drug application (metamizole sodium).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

– do2-138 (этил 4-[[{3-циано-5-[(2,4-дигидрофенил)амино]карбонил}-4-(2-фурил)-6-метил-1,4-дигидропиридин-2-ил]тио}ацетил)амино]бензоат) (в 1.9 раза эффективнее метамизола натрия).

Умеренно выраженную болеутоляющую активность проявляет образец с шифром cv-074 (2-{{3-циано-4-(2-фурил)-6-оксо-1,4,5,6-тетрагидропиридин-2-ил]тио}-N-(2-метилфенил)ацетамид).

Анальгетическую активность, сравнимую с эффектом от применения препарата-референта (метамизол натрия), проявили образцы с шифрами fo2-079 (2-{{3-циано-4-(2-фурил)-6-оксо-1,4,5,6-тетрагидропиридин-2-ил]тио}-N-(2-этилфенил)ацетамид) и cv-143 (алил 5-циано-6-{{2-(дифениламино)-2-оксоэтил]тио}-4-(2-фурил)-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксилат).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pelletier J.P., Martel-Pelletier J., Rannou F., Cooper C. Efficacy and safety of oral NSAIDs and analgesics in the management of osteoarthritis: Evidence from real-life setting trials and surveys // *Semin. Arthritis and Rheum.* 2016. Vol. 45 (4). P. 22–27. doi: 10.1016/j.semarthrit.2015.11.009.
2. Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. NSAIDs attenuate hyperalgesia induced by TRP channel activation // *Data in Brief.* 2016. Vol. 6. P. 668–673.
3. Когония Л.М., Волошин А.Г., Новиков Г.А., Сидоров А.В. Практические рекомендации по лечению хронического болевого синдрома у онкологических больных // *Злокачественные опухоли.* 2018. Т. 8, № 3. С. 617–635.
4. Monaghan J., Adams N., Fothergill M. An evaluation of a pain education programme for physiotherapists in clinical practice // *Musculoskeletal Care.* 2018. Vol. 16 (1). P. 103–111. doi: 10.1002/msc.1218.
5. Mercadante S. New drugs for pain management in advanced cancer patients // *Expert Opin. Pharmacother.* 2017. Vol. 18 (5). P. 497–502. doi: 10.1080/14656566.2017.1299711.
6. Avez-Couturier J., Wood C. New analgesics in paediatrics // *Soins Pédiatr. Pueric.* 2016. Vol. 290. P. 26–30. doi: org/10.1016/j.spp.2016.03.009.
7. Larsen I.M., Drewes A.M., Olesen A. The effect of a combination of diclofenac and methadone applied as gel in a human experimental pain model — a randomized, placebo-controlled trial // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2018. Vol. 123 (2). P. 188–194.
8. Martins S.S., Segura L.E., Santaella-Tenorio J. et al. Prescription opioid use disorder and heroin use among 12–34 year-olds in the United States from 2002 to 2014 // *Addict. Behav.* 2017. Vol. 65. P. 236–241.
9. Lanas A., Garsia-Rodriguez L., Arroyo M. et al. Risk of upper gastrointestinal ulcer bleeding associated with selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors, traditional non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs, aspirin, and combinations // *Gut.* 2006. Vol. 55 (12). P. 1731–1738. doi: 10.1136/gut.2005.080754.
10. Stevens J.P., Wall M.J., Novack L. et al. The critical care crisis of opioid overdoses in the United States // *An. Am. Thorac. Soc.* 2017. Vol. 14 (12). P. 1803–1809.
11. Osolodkin D.I., Kozlovskaya L.I., Dueva E.V. et al. Inhibitors of tick-borne flavivirus reproduction from structured-based virtual screening // *ACS Med. Chem. Lett.* 2013. Vol. 4 (9). P. 869–874. doi: 10.1021/ml400226s.
12. Бибик Е.Ю., Ярошевская О.Г., Девдера А.В. и др. Поиск средств с противовоспалительной активностью среди производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина // *Хим.-фармацевт. журн.* 2017. Т. 51, № 8. С. 16–19.
13. Bibik E.Yu., Saphonova A.A., Yeryomin A.V. et al. Study of analeptic activity of tetrahydropyrido [2,1-b] [1,3,5] tiadiazine derivatives // *Res. Results Pharmacol.* 2017. Vol. 3 (4). P. 20–25. doi: 10.18413/2313-8971-2017-3-4-20-25.
14. Бибик Е.Ю., Некраса И.А., Деменко А.В. и др. Изучение адаптогенной активности производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина // *Бюл.*

REFERENCES

1. Pelletier J.P., Martel-Pelletier J., Rannou F., Cooper C. (2016). Efficacy and safety of oral NSAIDs and analgesics in the management of osteoarthritis: Evidence from real-life setting trials and surveys. *Semin. Arthritis and Rheum.* 45 (4), 22–27. doi: 10.1016/j.semarthrit.2015.11.009.
2. Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. (2016). NSAIDs attenuate hyperalgesia induced by TRP channel activation. *Data in Brief*, 6, 668–673.
3. Kogonia L.M., Voloshin A.G., Novikov G.A., Sidorov A.V. (2018) Practical recommendations on the chronic pain syndrome treatment in oncological patients. *Malignant Tumours*, 8, 3, 617–635. In Russ.
4. Monaghan J., Adams N., Fothergill M. (2018). An evaluation of a pain education programme for physiotherapists in clinical practice. *Musculoskeletal Care*, 16 (1), 103–111. doi: 10.1002/msc.1218.
5. Mercadante S. (2017). New drugs for pain management in advanced cancer patients. *Expert Opin. Pharmacother.*, 18 (5), 497–502. doi: 10.1080/14656566.2017.1299711.
6. Avez-Couturier J., Wood C. (2016). New analgesics in pediatrics. *Soins Pédiatr. Pueric.*, 290, 26–30. doi: org/10.1016/j.spp.2016.03.009.
7. Larsen I.M., Drewes A.M., Olesen A. (2018). The effect of a combination of diclofenac and methadone applied as gel in a human experimental pain model — a randomized, placebo-controlled trial. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 123 (2), 188–194.
8. Martins S.S., Segura L.E., Santaella-Tenorio J. et al. (2014). Prescription opioid use disorder and heroin use among 12–34 year-olds in the United States from 2002 to 2014. *Addict. Behav.*, 65, 236–241.
9. Lanas A., Garsia-Rodriguez L., Arroyo M. et al. (2006). Risk of upper gastrointestinal ulcer bleeding associated with selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors, traditional non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs, aspirin, and combinations. *Gut*, 55 (12), 1731–1738. doi: 10.1136/gut.2005.080754.
10. Stevens J.P., Wall M.J., Novack L. et al. (2017). The critical care crisis of opioid overdoses in the United States. *An. Am. Thorac. Soc.*, 14 (12), 1803–1809.
11. Osolodkin D.I., Kozlovskaya L.I., Dueva E.V. et al. (2013). Inhibitors of tick-borne flavivirus reproduction from structured-based virtual screening. *ACS Med. Chem. Lett.*, 4 (9), 869–874. doi: 10.1021/ml400226s.
12. Bibik E.Yu., Yaroshevskaya O.G., Devdera A.B. et al. (2017). Search of the drugs with anti-inflammatory activity among tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5] thiadiazine derivatives. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 51 (8), 16–19. In Russ.
13. Bibik E.Yu., Saphonova A.A., Yeryomin A.V. et al. (2017). Study of analeptic activity of tetrahydropyrido [2,1-b] [1,3,5] tiadiazine derivatives. *Res. Results Pharmacol.*, 3 (4), 20–25. doi: 10.18413/2313-8971-2017-3-4-20-25.
14. Bibik E.Yu., Nekrasa I.A., Demenko A.V. et al. (2019). Studying the adaptogenic activity of a series of tetrahydropyrido[2,1-b] [1,3,5] thiadiazine derivatives. *Bulletin of Siberian Medicine*, 18, 3, 21–28. doi: 10.20538/1682-0363-2019-3-21-28.

- сибирской медицины. 2019. Т. 18, № 3. С. 21–28. doi: 10.20538/1682-0363-2019-3-21-28.
15. Rice W.G., Turpin J.A., Schaeffer C.A. et al. Evaluation of selected chemotypes in coupled cellular and molecular target-based screens identifies novel HIV-1 zinc finger inhibitors // *J. Med. Chem.* 1996. Vol. 39 (19). P. 3606–3616. doi: 10.1021/jm9603750.
 16. Norman D.D., Ibezim A., Scott W.E. et al. Autotaxin inhibition: development and application of computational tools to identify site-selective lead compounds // *Bioorg. Med. Chem.* 2013. Vol. 21 (17). P. 5548–5560. doi: 10.1016/j.bmc.2013.05.061.
 17. Lusido M.J., Orlando B.J., Vecchio A.J., Malkowski M.G. Crystal structure of aspirin-acetylated human cyclooxygenase-2: insight into the formation of products with reversed stereochemistry // *Biochemistry*. 2016. Vol. 55 (8). P. 1226–1238. doi: 10.1021/acs.biochem.5b01378.
 18. Gfeller D., Michielin O., Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules // *Bioinformatics*. 2013. Vol. 29 (23). P. 3073–3079.
 19. Бибик И.В., Корокин М.В., Кривоколыско С.Г. и др. Определение острой пероральной токсичности отдельных производных тетрагидропиридонов и гексагидрохинолинов, производных α -цианотиоацетамида // *Человек и здоровье*. 2019. № 4. С. 96–103. doi: 10.21626/vestnik/2019-4/.
 20. Наркевич А.Н., Виноградов К.А. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях // *Социальные аспекты здоровья населения*. 2019. Т. 65, № 6. С. 10. doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10.
 21. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. 941 с.
 22. Агаянц И.М. Азы статистики в мире химии: Обработка экспериментальных данных. СПб.: НОТ, 2015. 618 с.
 23. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине. М.: ГЭОТАР-Мед, 2002. 144 с.
 15. Rice W.G., Turpin J.A., Schaeffer C.A. et al. (1996). Evaluation of selected chemotypes in coupled cellular and molecular target-based screens identifies novel HIV-1 zinc finger inhibitors. *J. Med. Chem.*, 39 (19), 3606–3616. doi: 10.1021/jm9603750.
 16. Norman D.D., Ibezim A., Scott W.E. et al. (2013). Autotaxin inhibition: development and application of computational tools to identify site-selective lead compounds. *Bioorg. Med. Chem.*, 21 (17), 5548–5560. doi: 10.1016/j.bmc.2013.05.061.
 17. Lusido M.J., Orlando B.J., Vecchio A.J., Malkowski M.G. (2016). Crystal structure of aspirin-acetylated human cyclooxygenase-2: insight into the formation of products with reversed stereochemistry. *Biochemistry*, 55 (8), 1226–1238. doi: 10.1021/acs.biochem.5b01378.
 18. Gfeller D., Michielin O., Zoete V. (2013). Shaping the interaction landscape of bioactive molecules. *Bioinformatics*, 29 (23), 3073–3079.
 19. Bibik I.V., Korokoin M.V., Krivokolysko S.G. et al (2019). Determination of acute oral toxicity of individual tetrahydropyridone and hexahydroquinoline derivatives, derivatives of α -cyanothioacetamide. *Kursk Scientific and Practical Bull. Man and his Health*, 4, 96–103. doi: 10.21626/vestnik/2019-4/.
 20. Narkevich A., Vinogradov K. (2019). Methods of determining the minimal required sample size in medical research. *Social Aspects of Population Health*, 65, 6, 10. doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10.
 21. Mironov A.N. (2012). *Guidance for Conducting the Preclinical Studies of Drugs*. Moscow: Grif and K., 941 p. In Russ.
 22. Agayants I.M. (2015). *Elements of Statistics in the World of Chemistry: Processing of Experimental Data*. St. Petersburg: NOT, 618 p. In Russ.
 23. Petri A., Sabin K. (2002). *Illustrative Statistics in Medicine* (Trans.). Moscow: GEOTAR-Med, 144 p. In Russ.

ABOUT THE AUTHORS

Bibik Elena Yuryevna — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Fundamental and Clinical Pharmacology, St. Luka Lugansk State Medical University.

Kurbanov Latif Ilyasovich — 4th year Student, St. Luka Lugansk State Medical University.

Grygoryan Stanislav Artashesovich — 4th year Student, St. Luka Lugansk State Medical University.

Krivokolysko Dmitryi Sergeevich — Doctoral Student, Department of Fundamental and Clinical Pharmacology, St. Luka Lugansk State Medical University.

Kudrina Marina Andreevna — Postgraduate Student, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, St. Luka Lugansk State Medical University.

Pankov Andrey Aleksandrovich — Dr. Sci. (Tech.), Associate Professor, Professor, Department of Transport Technologies, Vladimir Dahl Lugansk State University.

Frolov Konstantin Aleksandrovich — Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, St. Luka Lugansk State Medical University; Chief Engineer, Chemex Scientific Lab, Vladimir Dahl Lugansk State University.

Dotsenko Viktor Viktorovich — Dr. Sci. (Chem.), Professor, Department of Organic Chemistry and Tech-

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бибик Елена Юрьевна — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической фармакологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки».

Курбанов Латиф Ильясович — студент 4-го курса ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки».

Григорян Станислав Арташесович — студент 4-го курса ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки».

Кривоколыско Дмитрий Сергеевич — соискатель кафедры фундаментальной и клинической фармакологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки».

Кудрина Марина Андреевна — аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки».

Панков Андрей Александрович — д-р техн. наук, доцент, профессор кафедры транспортных техно-

логий ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет имени Владимира Даля».

Фролов Константин Александрович — канд. хим. наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки»; главный инженер научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) «Химэкс» ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет имени Владимира Даля».

Доценко Виктор Викторович — д-р хим. наук, профессор кафедры органической химии и технологий ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет» (Краснодар); ведущий научный сотрудник НИЛ «Химэкс» ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет имени Владимира Даля».

Кривоколыско Сергей Геннадиевич — д-р хим. наук, профессор, старший научный сотрудник, научный руководитель НИЛ «Химэкс» ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет имени Владимира Даля»; заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки».

Образец цитирования: Бибики Е.Ю., Курбанов Л.И., Григорян С.А., Кривоколыско Д.С., Кудрина М.А., Панков А.А., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. Анальгетическая активность новых производных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов в тесте горячей пластины // Journal of Siberian Medical Sciences. 2021. № 3. С. 45–55.

nology, Kuban State University (Krasnodar); Leading Researcher, Chemex Scientific Lab, Vladimir Dahl Luhansk State University.

Krivokolysko Sergey Gennadievich — Dr. Sci. (Chem.), Professor, Senior Researcher, Principal Investigator, Chemex Scientific Lab, Vladimir Dahl Luhansk State University; Head, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, St. Luka Lugansk State Medical University.

Citation example: Bibik E.Yu., Kurbanov L.I., Grygoryan S.A., Krivokolysko D.S., Kudrina M.A., Pankov A.A., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. (2021). The analgesic activity of new sulfur-containing di- and tetrahydropyridine derivatives in the hot plate test. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 45–55.

Изучение влияния иммобилизованных субтилизинов на коронарный кровоток в эксперименте на изолированном сердце крысы

Байкалов Г.И.^{1,2}, Князев Р.А.², Ершов К.И.², Бахарева К.И.¹, Солдатова М.С.¹, Мадонов П.Г.^{1,2}

¹НИИ клинической и экспериментальной лимфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск)

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Study of the immobilized subtilisins influence on coronary blood flow of an isolated rat heart

Baikalov G.I.^{1,2}, Knyazev R.A.², Ershov K.I.², Bakhareva K.I.¹, Soldatova M.S.¹, Madonov P.G.^{1,2}

¹Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology (Novosibirsk)

²Novosibirsk State Medical University

АННОТАЦИЯ

Введение. В клинической медицине отмечен феномен: у многих пациентов с ангинозными приступами при проведении коронарографии не выявляется значительных обструктивных процессов в коронарных артериях. Имеют место нарушения коронарной микроциркуляции из-за дисфункции эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Это обстоятельство инициирует поиск новых лекарственных препаратов для фармакологической коррекции вазомоторного статуса коронарных сосудов с целью устранения ишемии миокарда.

Цель. Изучить параметры коронарного потока при перфузии изолированного сердца иммобилизованными субтилизинами (ИС) в разных дозировках.

Материалы и методы. Влияние ИС на коронарный кровоток изучали на модели изолированного сердца крысы по Лангендорфу. Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах линии Вистар. Животные были разделены на 5 групп: контрольную (сердца, перфузируемые только раствором Кребса — Хензеляйта) и 4 опытных (1-я — перфузия ИС в концентрации 170 Ед./л; 2-я — перфузия ИС в концентрации 340 Ед./л; 3-я — перфузия ИС в концентрации 500 Ед./л; 4-я — перфузия ИС в концентрации 1000 Ед./л).

Результаты. При перфузии ИС в концентрациях 170 и 340 Ед./л наблюдалось нарастание коронарного потока. При перфузии ИС в концентрации 340 Ед./л был достоверно выражен вазодилатирующий эффект. При перфузии в концентрации 500 и 1000 Ед./л отмечалось уменьшение коронарного потока, что, вероятнее всего, вызвано вазоконстрикцией.

Заключение. При перфузии сердца раствором ИС наблюдается феномен вазомоторной активности коронарных сосудов. Обусловленный ИС вазомоторный эффект имеет дозозависимое и разнонаправленное действие и реализуется, вероятнее всего, посредством аллостерического воздействия на естественный механизм регуляции тонуса коронарных сосудов.

Ключевые слова: иммобилизованный субтилизин, коронарный кровоток, изолированное сердце.

ABSTRACT

Introduction. In clinical medicine, some phenomenon has been noted: in many patients with anginal attacks during coronary angiography, significant obstructive processes in the coronary arteries are not detected. There is impaired coronary microcirculation due to dysfunction of endothelial and smooth muscle cells. This circumstance initiates the

Поступила 08.04.2021
Принята 28.05.2021

Автор, ответственный за переписку
Байкалов Герман Игоревич: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: gbaikalov@yandex.ru

Received 08.04.2021
Accepted 28.05.2021

Corresponding author
Baikalov German Igorevich: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: gbaikalov@yandex.ru

search for new drugs for pharmacological correction of the vasomotor status of coronary vessels in order to eliminate myocardial ischemia.

Aim. To study the parameters of the coronary blood flow during the perfusion of an isolated heart with immobilized subtilisins (IS) in different dosages.

Materials and methods. The effect of IS on coronary blood flow was studied using the Langendorff-perfused rat heart. The experiments were carried out on 50 male Wistar rats. Animals were divided into 5 groups: control (hearts perfused only with Krebs-Henseleit solution) and 4 experimental (1st — perfusion with IS at a concentration of 170 U/l; 2nd — perfusion with IS at a concentration of 340 U/l; 3rd — perfusion with IS at a concentration of 500 U/l; 4th — perfusion with IS at a concentration of 1000 U/l).

Results. An increase in coronary blood flow was observed during perfusion with IS at concentrations of 170 and 340 U/l. With perfusion of IS at a concentration of 340 U/l, the vasodilating effect was significantly expressed. With perfusion at a concentration of 500 and 1000 U/l, a decrease in coronary flow was noted, which is most likely caused by vasoconstriction.

Conclusion. When the heart is perfused with IS solution, the phenomenon of vasomotor activity of the coronary vessels is observed. The vasomotor effect caused by IS has a dose-dependent and multidirectional effect and is realized, most likely, through an allosteric effect on the natural mechanism of regulation of the coronary vessels tone.

Keywords: immobilized subtilisins, coronary blood flow, isolated heart.

ВВЕДЕНИЕ

В клинической медицине отмечен следующий феномен: у многих пациентов с ангинозными приступами при проведении коронарографии не выявляются значительные обструктивные процессы в коронарных артериях. Имеют место нарушения коронарной микроциркуляции из-за дисфункции эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Это обстоятельство инициирует поиск новых лекарственных препаратов для фармакологической коррекции вазомоторного статуса коронарных сосудов с целью ликвидации ишемии миокарда [1].

Коронарная микроциркуляция и коронарный кровоток обеспечивают адекватный метаболизм миокарда. Вазоактивные производные эндотелия, различные метаболические факторы и нейроромоны передают сосудорасширяющие и вазоконстрикторные сигналы, которые должны быть сбалансированы для поддержания надлежащего тонуса коронарных сосудов, обеспечивающего полноценную коронарную микроциркуляцию [2].

Регуляция коронарного кровотока — довольно сложный процесс, опосредованный множеством механизмов, которые включают внесосудистые сжимающие силы (тканевое давление), давление коронарной перфузии, миогенные, местные метаболические, эндотелиальные, а также нервные и гормональные воздействия. Существует взаимосвязь между диаметром сосуда и величиной миогенного ответа. В связи с этим считается, что миогенный ответ играет важную роль в поддержании базального сосудистого тонуса в сосудистой сети сопротивления. Таким образом,

INTRODUCTION

In clinical medicine, the following phenomenon has been noted: in many patients with anginal attacks during coronary angiography, significant obstructive processes in the coronary arteries are not detected. There are impaired coronary microcirculation due to dysfunction of endothelial and smooth muscle cells. This circumstance initiates the search for new drugs for pharmacological correction of the vasomotor status of coronary vessels in order to eliminate myocardial ischemia [1].

Coronary microcirculation and coronary blood flow ensure adequate myocardial metabolism. Vasoactive endothelial derivatives, various metabolic factors and neurohormones transmit vasodilating and vasoconstrictive signals, which must be balanced to maintain the proper tone of the coronary vessels, ensuring full coronary microcirculation [2].

The regulation of coronary blood flow is a rather complex process mediated by many mechanisms, which include extravascular compressive forces (tissue pressure), coronary perfusion pressure, myogenic, local metabolic, endothelial, as well as neural and hormonal influences. There is a relationship between the diameter of the vessel and the magnitude of the myogenic response. In this regard, the myogenic response is believed to play an important role in maintaining of basal vascular tone in the resistance vasculature. Thus, it is in the presence of this “background” vasomotor tone that nonmyogenic factors bi-directionally affect the regulation of coronary blood flow, which is necessary to balance the delivery of oxygen by the myocardium and oxidative metabolism the latter [3].

Experimental studies of coronary circulation focus on various mechanisms — myogenic, local meta-

именно при наличии этого «фонового» вазомоторного тонуса немиогенные факторы двуправленно влияют на регуляцию коронарного кровотока, что необходимо для уравнивания доставки кислорода миокардом и окислительного метаболизма миокарда [3].

Экспериментальные исследования коронарного кровообращения сосредоточены на различных механизмах — миогенных, местных метаболических, эндотелиальных, нервных и гормональных. Установлено, что каждый из этих механизмов может иметь глубокое влияние на перфузию миокарда. По мнению некоторых исследователей до сих пор не ясны общие взаимосвязанные механизмы, ответственные за регуляцию коронарного кровотока [4]. Наряду с этим есть доказательства, что эти механизмы действуют параллельно и даже избыточно [5]. В настоящее время хорошо изучен феномен эндотелий-зависимой дисфункции как основная причина неокклюзионных ишемических состояний.

Эндотелий-зависимая дисфункция является следствием дисбаланса между факторами релаксации эндотелия, такими как оксид азота (NO), и констрикторами эндотелия, такими как эндотелин. Независимая от эндотелия дисфункция основана на тоне миоцитов [6]. Вазодилаторы локального происхождения играют доминирующую роль в регуляции микрососудистого сопротивления [7].

Сущность фармакологической регуляции эндотелиальной дисфункции коронарных сосудов заключается в устранении вазоконстрикции как прямыми, так и опосредованными механизмами. В этой связи представляется интересным не только поиск новых лекарственных средств, но и установление коронарорасширяющих эффектов у известных, зарегистрированных препаратов.

В России зарегистрирован и используется в клинической практике лекарственный препарат Тромбовазим, обладающий прямым тромболитическим действием. Показания к применению в кардиологии — острый инфаркт миокарда с подъемом зубца ST, во флебологии — хронические заболевания вен [8]. Активное действующее вещество лекарственного препарата Тромбовазим — иммобилизованный субтилизин (ИС). Субтилизин является протеолитическим ферментом, обладающим прямым фибринолитическим действием [9]. Для снижения аллергических свойств и увеличения энтеральной биодоступности субтилизина проводится электронно-лучевая иммобилизация фермента на полимерном носителе полиэтиленгликоле [10]. В ин-

бolic, endothelial, nervous and hormonal. It has been established that each of these mechanisms can have a profound effect on myocardial perfusion. According to some researchers, the general interrelated mechanisms responsible for the regulation of coronary blood flow are still not clear [4]. Along with this, there is evidence that these mechanisms operate in parallel and even redundantly [5]. Currently, the phenomenon of endothelium-dependent dysfunction is well studied as the main cause of non-occlusive ischemic conditions.

Endothelium-dependent dysfunction results from an imbalance between endothelial relaxation factors such as nitric oxide (NO) and endothelial constrictors such as endothelin. Endothelium-independent dysfunction is based on the myocyte tone [6]. Vasodilators of local origin play a dominant role in the regulation of microvascular resistance [7].

The essence of the pharmacological regulation of endothelial dysfunction of coronary vessels is the elimination of vasoconstriction by both direct and indirect mechanisms. In this regard, it seems interesting not only to search for new drugs, but also to establish vasodilatory effects for well-known, registered drugs.

In Russia, the drug, Trombovazim, which has a direct thrombolytic effect, is registered and is used in clinical practice. Indications for use in cardiology are acute myocardial infarction with ST elevation, in phlebology — chronic venous diseases [8]. The active ingredient of trombovazim is immobilized subtilisin (IS). Subtilisin is a proteolytic enzyme with a direct fibrinolytic effect [9]. To reduce the allergenic properties and increase the enteral bioavailability of subtilisin, electron-beam immobilization of the enzyme is carried out on a polyethylene glycol polymer carrier [10]. In the drug labeling, there is no indication of its effect on coronary blood flow. Since thrombovazim is positioned as a drug for the treatment of cardiovascular diseases, it seems relevant to evaluate the effect of immobilized subtilisin on coronary circulation in experiments on an isolated rat heart using the Langendorff method [11–13]. The choice of this experimental model is due to the possibility of a direct assessment of the vasomotor action of immobilized subtilisin in the absence of humoral and nervous regulation of the coronary circulation in an isolated heart.

AIM OF THE RESEARCH

To study the parameters of the coronary blood flow during the perfusion of an isolated heart with immobilized subtilisins in different dosages.

струкции по медицинскому применению лекарственного препарата нет указаний о его воздействии на коронарный кровоток. Поскольку Тромбовазим позиционируется как средство для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, представляется актуальным оценить влияние иммобилизованного субтилизина на коронарное кровообращение в экспериментах на изолированном сердце лабораторной крысы по методу Лангендорфа [11–13]. Выбор этой экспериментальной модели обусловлен возможностью прямой оценки вазомоторного действия иммобилизованного субтилизина в условиях отсутствия у изолированного сердца гуморальной и нервной регуляции коронарного кровообращения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить параметры коронарного потока при перфузии изолированного сердца иммобилизованными субтилизинами в разных дозировках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования. Эксперимент проведен на 50 крысах-самцах линии Вистар массой 280–320 г. Животные находились в условиях вивария на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде и пище, условия содержания и манипуляции с животными соответствовали стандартам, регламентирующим работу с лабораторными животными [14]. Животные были разделены на 5 групп: контрольную (сердца, перфузируемые только раствором Кребса — Хензеляйта) и 4 опытных (1-я — перфузия ИС в концентрации 170 Ед./л; 2-я — перфузия ИС в концентрации 340 Ед./л; 3-я — перфузия ИС в концентрации 500 Ед./л; 4-я — перфузия ИС в концентрации 1000 Ед./л).

Исследуемый препарат — иммобилизованный субтилизин. Использовалась фармацевтическая субстанция лекарственного препарата Тромбовазим (АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии», Новосибирск), представляющая собой лиофилизат для последующего растворения. Для экспериментов лиофилизат растворяли в буфере Кребса — Хензеляйта. Концентрация ИС в перфузионном растворе моделировала диапазон доз от однократной терапевтической для энтерального приема с постепенным увеличением до однократной терапевтической при внутривенном введении.

Метод Лангендорфа. Данная экспериментальная модель позволяет детально изучать физиологические и биохимические процессы в сердце, а также внешние воздействия на него в условиях отсутствия системных нейрогенных и гуморальных

MATERIALS AND METHODS

Study design. The experiment was carried out on 50 male Wistar rats weighing 280–320 g. The animals were kept in a vivarium on a normal diet and free access to water and food, the conditions of keeping and manipulating the animals corresponded to the standards for work with laboratory animals [14]. Animals were divided into 5 groups: control (hearts perfused only with Krebs-Henseleit solution) and 4 experimental (1st — perfusion with IS at a concentration of 170 U/l; 2nd — perfusion with IS at a concentration of 340 U/l; 3rd — perfusion with IS at a concentration of 500 U/l; 4th — perfusion with IS at a concentration of 1000 U/l).

The investigated drug is immobilized subtilisin. We used the pharmaceutical substance of the drug, Trombovazim (Siberian Center for Pharmacology and Biotechnology, Novosibirsk), which is a lyophilisate for solution. For experiments, the lyophilisate was diluted in Krebs-Henseleit buffer. The IS concentration in the perfusion solution modeled the dose range from a single therapeutic dose for enteral administration with a gradual increase to a single therapeutic dose for intravenous administration.

Langendorff method. This experimental model makes it possible to study in detail the physiological and biochemical processes in the heart, as well as external influences on it in the absence of systemic neurogenic and humoral factors. The principle of the Langendorff heart is that the perfusion solution enters the aorta through a cannula. The aortic valve is closed by the pressure in the aorta, and the perfusion solution flows only into the coronary arteries. Having passed the microvasculature of the heart, the solution is collected through the heart vein system into the coronary sinus and then enters the right atrium. There are two ways for the outflow of the perfusion solution: through the orifice of the venae cavae and through the tricuspid valve into the right ventricle and then through the pulmonary artery trunk. It follows that the solution does not enter the left chambers of the heart, so you can use sensors or catheters to record the pressure in the left ventricle and heart rate. In Fig. 1 you can see a diagram of the setup for operation on a rat heart isolated according to Langendorff.

According to the technique, for 1 h before the experiment, the animals were injected intraperitoneally with heparin (500 U per one). After decapitation, the skin cover was removed from the chest, the heart was quickly removed and placed in a container with

факторов. Принцип работы сердца по Лангендорфу заключается в том, что перфузионный раствор поступает в аорту через канюлю. Аортальный клапан закрывается за счет давления в аорте, и перфузионный раствор поступает только в коронарные артерии. Пройдя микроциркуляторное русло сердца, раствор собирается по системе вен сердца в коронарный синус и далее поступает в правое предсердие. Существуют два пути оттока перфузионного раствора: через устья полых вен и через трехстворчатый клапан в правый желудочек и далее через ствол легочной артерии. Отсюда следует, что раствор не попадает в левые камеры сердца, поэтому можно использовать датчики или катетеры для регистрации давления в левом желудочке и частоты сердечных сокращений. На рис. 1 представлена схема установки для работы на изолированном по Лангендорфу сердце крысы.

Согласно методике за 1 ч до опыта животным внутрибрюшинно вводили гепарин (500 ЕД на одну особь). После декапитации удаляли кожный покров с грудной клетки, быстро извлекали сердце и помещали его в емкость с охлажденным перфузионным раствором $t = 0^\circ\text{C}$. После прекращения сокращений выделяли аорту и вводили канюлю. Для исключения попадания пузырьков воздуха в коронарное русло сердце промывали через аортальную канюлю при помощи шприца, заполненного перфузионным раствором. Затем сердце подсоединяли к перфузионной системе. Перфузию проводили через коронарные сосуды при постоянном давлении 80 мм рт. ст. В каче-

а cooled perfusion solution at $t = 0^\circ\text{C}$. After stopping of cardiac beat, the aorta was isolated and a cannula was inserted. To exclude the ingress of air bubbles into the coronary bed, the heart was washed through the aortic cannula using a syringe filled with a perfusion solution. The heart was then connected to a perfusion system. Perfusion was performed through the coronary vessels at a constant pressure of 80 mm Hg. Krebs-Henseleit solution ($\text{pH} = 7.4$, $t = 37.5^\circ\text{C}$) was used as a perfusate. For adequate oxygenation of the heart, the perfusion solution was saturated with carbogen (95% O_2 and 5% CO_2).

In the experimental groups, after 20 min of perfusion against the background of stable work of the heart, the calculated dose of IS was introduced into container 2 (see Fig. 1). The moment of the introduction of IS was designated as the point 0 (zero) minute, at which the coronary blood flow was considered as baseline and was taken as 100%. Further, the perfusion with the test drug continued for 40 min. Changes in coronary blood flow were recorded at 5, 10, 20, 30 and 40 min. In the control group, from 0 to 40 min, perfusion was performed with Krebs-Henseleit solution.

The calculated indicator of coronary blood flow was the volumetric coronary flow rate, which reflects the time interval for the heart to pump the volume of perfusion fluid. On the measuring tube, 1 ml of volume was measured and when the perfusion pump was turned off, the stopwatch was used to determine how many seconds the heart was pumping the volume of perfusion fluid. In fact, coronary blood flow is

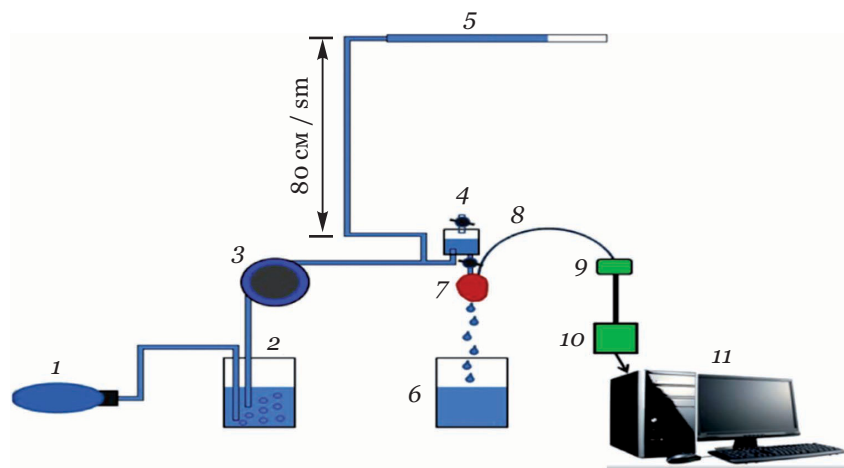


Рис. 1. Схема установки для работы на изолированном сердце по Лангендорфу: 1 – карбоген; 2 – емкость с перфузионным раствором; 3 – перистальтический насос; 4 – термостатируемая газоуловительная камера; 5 – мерная трубка; 6 – емкость для сбора оттекающего перфузата; 7 – сердце; 8 – катетер с латексным баллончиком; 9 – цифровой датчик давления; 10 – аналогово-цифровой преобразователь; 11 – персональный компьютер

Fig. 1. Installation diagram for working on an isolated heart according to Langendorff: 1 – carbogen; 2 – container with perfusion solution; 3 – peristaltic pump; 4 – thermostatically controlled gas trapping chamber; 5 – measuring tube; 6 – container for collecting the outflowing perfusate; 7 – heart; 8 – catheter with a latex balloon; 9 – digital pressure sensor; 10 – analog to digital converter; 11 – personal computer

стве перфузата использовался раствор Кребса — Хензеляйта (рН = 7.4, $t = 37.5^{\circ}\text{C}$). Для адекватной оксигенации сердца перфузионный раствор насыщался карбогеном (95% O_2 и 5% CO_2).

В опытных группах по истечении 20 мин перфузии на фоне стабильной работы сердца в емкость 2 (см. рис. 1) вносилась расчетная доза ИС. Момент введения ИС обозначался как точка 0 (нулевая) минута, в которой коронарный поток считался исходным и принимался за 100 %. Далее перфузия исследуемым препаратом продолжалась в течение 40 мин. Изменения коронарного потока фиксировались на 5, 10, 20, 30 и 40-й минутах. В контрольной группе с 0-й по 40-ю минуту перфузия производилась раствором Кребса — Хензеляйта.

Расчетным показателем коронарного кровотока выступала объемная скорость коронарного потока, отражающая, за какой промежуток времени сердце прокачивает объем перфузионной жидкости. На мерной трубке отмеряли 1 мл объема и при отключении перфузионного насоса по секундомеру определяли, за сколько секунд сердце прокачивает объем перфузионной жидкости. Фактически коронарный кровоток представляет собой соотношение объем/время (мл/мин). Далее значения вносили в таблицу Excel, и программа пересчитывала значения коронарного потока в минуты (мл/мин). Поскольку абсолютные значения представляют собой индивидуальную величину у каждого животного (размер сердца, объем сосудистого русла), динамику коронарного потока оценивали в относительных единицах (%) и производили пересчет в минуты (мл/мин).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ StatPlus Pro 7.3.0. Проверку нормальности распределения данных в группах выполняли с помощью критерия Колмогорова — Смирнова. Статистическую значимость полученных результатов оценивали с помощью t -критерия Стьюдента для связанных выборок (до введения и после введения исследуемого компонента) при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе при перфузии раствором Кребса — Хензеляйта отмечали нарастание коронарного потока с 5-й по 20-ю минуту (от 2 до 10 %), а далее наблюдалось плавное снижение до 7 % от исходного.

В опытной группе 1 (ИС в концентрации 170 Ед./л) не было выявлено достоверных отличий по сравнению с контрольной группой, но

the volume/time ratio (ml/min). Then the values were entered into an Excel spreadsheet, and the program recalculated the values of the coronary blood flow in minutes (ml/min). Since the absolute values represent an individual value for each animal (heart size, volume of the vascular bed), the dynamics of the coronary flow was estimated in relative units (%) and recalculated in minutes (ml/min).

The results were statistically processed using the StatPlus Pro 7.3.0 statistical software package. The normal distribution of data in the groups was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. The statistical significance of the obtained results was assessed using the Student's t -test for related samples (before and after administration of the studied component) at a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

In the control group, with perfusion with Krebs-Henseleit solution, an increase in coronary blood flow from 5 to 20 min (from 2 to 10%) was noted, and then a gradual decrease to 7% from baseline was observed.

In the 1st experimental group (IS at a concentration of 170 U/l), there were no significant differences compared with the control group, but there was an increase in coronary blood flow after 5 min by 3% ($p > 0.05$) and after 20 min by 12% ($p > 0.05$) (Fig. 2).

In the 2nd experimental group (IS at a concentration of 340 U/l), from the 5th to the 40th min of perfusion, the coronary blood flow significantly increased ($p < 0.05$), reaching its maximum at the 20th min of perfusion (increase of 23%) compared with the control group (Fig. 3).

In the 3rd experimental group (IS at a concentration of 500 U/l), there was a primary increase in coronary blood flow by the 5th min by 4% ($p > 0.05$), and then a significant decrease in the coronary blood flow from the 10th to 40th min of perfusion by 10% relatively to the control group (Fig. 4).

In the 4th experimental group (IS at a concentration of 1000 U/l), a gradual decrease in coronary blood flow from the 10th to the 40th min by 10–12% ($p < 0.05$) was observed relatively to the control group. The maximum decrease in coronary blood flow was noted at the 30th min of perfusion (Fig. 5).

By its physiological nature, the volume of the coronary circulation reflects the volume of the coronary bed, which directly depends on the tone of the coronary vessels. When the isolated heart was perfused with IS solution at a concentration of 170 and 340 U/l, an increase in coronary blood flow and, accordingly, a vasodilating effect of IS were noted. At a concentration of 340 U/l, this effect was clearly

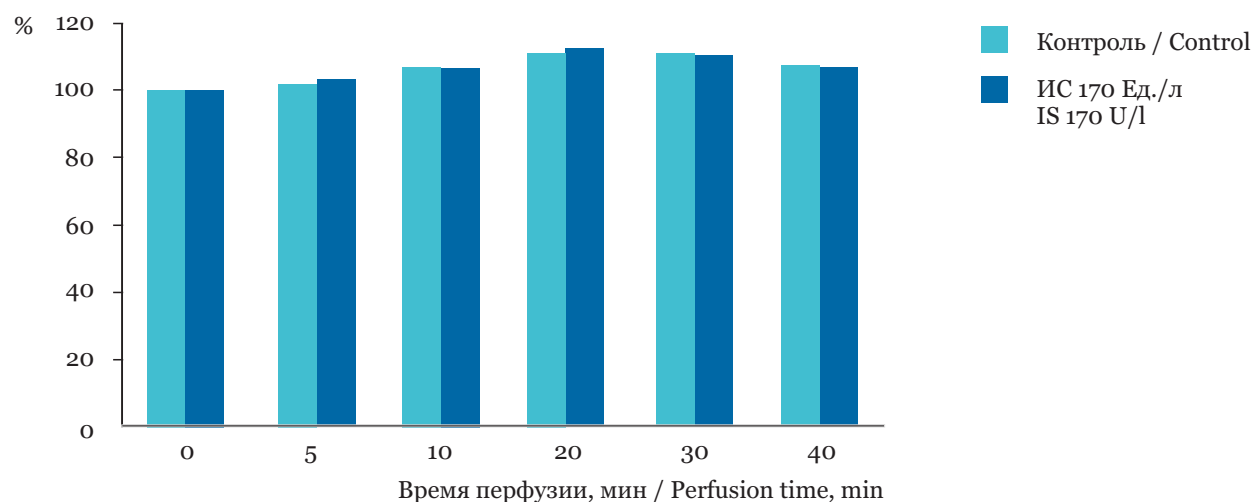


Рис. 2. Изменение коронарного потока при перфузии раствором ИС в концентрации 170 Ед./л по сравнению с контрольной группой

Fig. 2. Changes in coronary blood flow during perfusion with IS solution at a concentration of 170 U/l compared with the control group

было отмечено нарастание коронарного потока через 5 мин на 3 % ($p > 0.05$) и через 20 мин на 12 % ($p > 0.05$) (рис. 2).

В опытной группе 2 (ИС в концентрации 340 Ед./л) с 5-й по 40-ю минуту перфузии коронарный поток достоверно увеличивался ($p < 0.05$), достигая своего максимума на 20-й минуте перфузии (прирост на 23 %) по сравнению с группой контроля (рис. 3).

В опытной группе 3 (ИС в концентрации 500 Ед./л) отмечали первичное увеличение коронарного потока к 5-й минуте на 4 % ($p > 0.05$), а затем достоверное снижение коронарного потока с 10-й по 40-ю минуту перфузии на 10 % относительно группы контроля (рис. 4).

pronounced (an increase of 23% at the 20th min) and statistically significant. With an increase in the concentration of IS to 500 and 1000 U/l, there was a decrease in the coronary circulation, which indicates an increase in the contractile activity of the coronary vessels. Thus, we have established the phenomenon of vasomotor activity in relation to coronary vessels under the action of IS. This effect is dose-dependent and multidirectional. In modern physiology and pharmacology, there is no information on the presence of specific IS receptors in coronary vessels. Most likely, the vasomotor effect caused by IS under conditions of perfusion of an isolated heart is realized through an allosteric influence on the endothelial mechanism of regulation of the coronary vessels

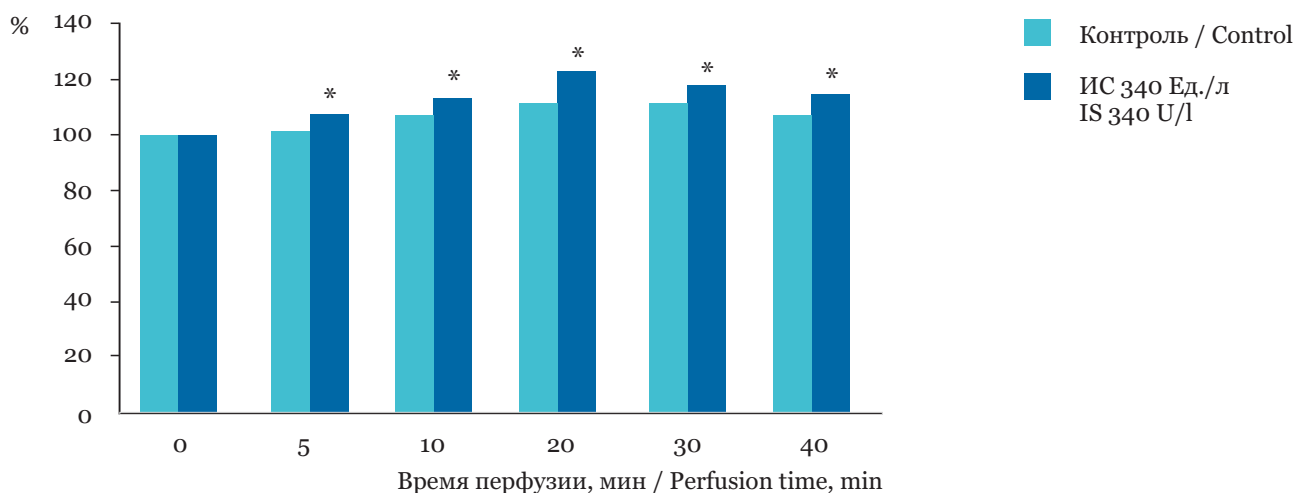


Рис. 3. Изменение коронарного потока при перфузии раствором ИС в концентрации 340 Ед./л по сравнению с контрольной группой (* $p < 0.05$)

Fig. 3. Changes in coronary blood flow during perfusion with IS solution at a concentration of 340 U/l compared with the control group (* $p < 0.05$)

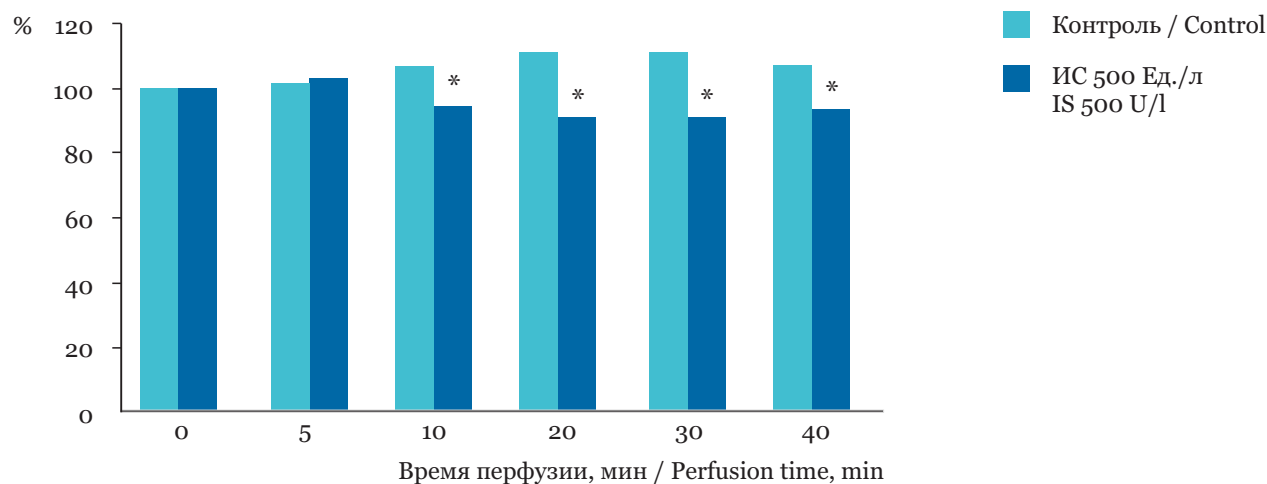


Рис. 4. Изменение коронарного потока при перфузии раствором ИС в концентрации 500 Ед./л по сравнению с контрольной группой (* $p < 0.05$)

Fig. 4. Changes in coronary blood flow upon perfusion with IS solution at a concentration of 500 U/l compared with the control group (* $p < 0.05$)

В опытной группе 4 (ИС в концентрации 1000 Ед./л) отмечали постепенное снижение коронарного потока с 10-й по 40-ю минуту на 10–12 % ($p < 0.05$) относительно группы контроля. Максимальное снижение коронарного потока было отмечено на 30-й минуте перфузии (рис. 5).

По своей физиологической сущности объем коронарного кровообращения отражает объем коронарного русла, который напрямую зависит от тонуса коронарных сосудов. При перфузии изолированного сердца раствором ИС в концентрации 170 и 340 Ед./л отмечали нарастание коронарного потока и, соответственно, вазодилати-

tone. The study of these mechanisms is planned in the next experiments.

CONCLUSION

The data obtained during the experiment lead to the following conclusions:

1. The phenomenon of vasomotor activity of coronary vessels due to the action of IS was established.
2. The vasomotor effect of IS has a dose-dependent and multidirectional effect.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

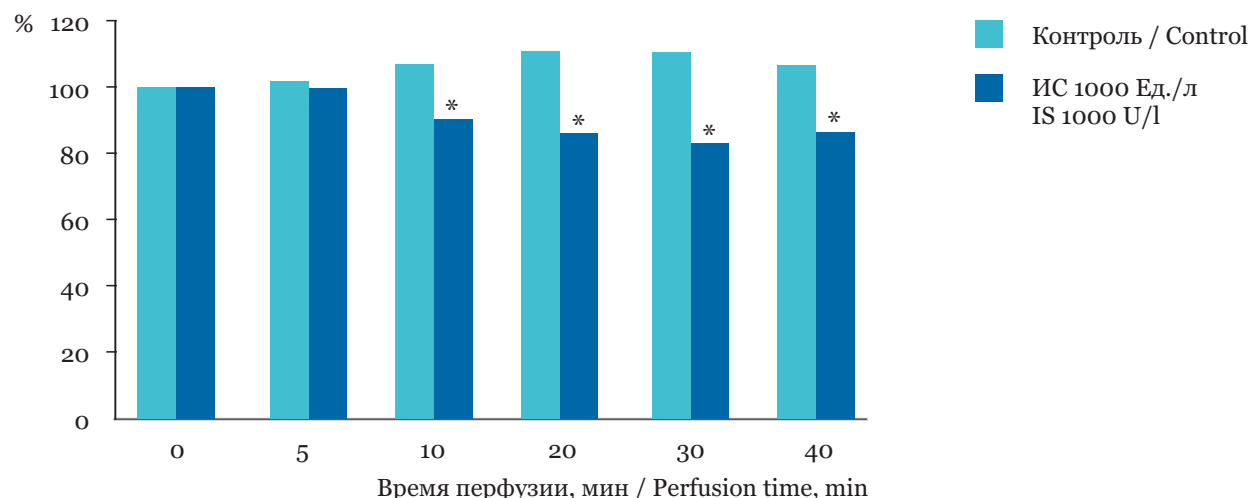


Рис. 5. Изменение коронарного потока при перфузии раствором ИС в концентрации 1000 Ед./л по сравнению с контрольной группой (* $p < 0.05$)

Fig. 5. Changes in coronary blood flow during perfusion with IS solution at a concentration of 1000 U/l compared with the control group (* $p < 0.05$)

рующий эффект ИС. При концентрации 340 Ед./л этот эффект был отчетливо выражен (прирост на 23 % на 20-й минуте) и статистически достоверен. При увеличении концентрации ИС до 500 и 1000 Ед./л происходило снижение коронарного кровообращения, что указывает на повышение сократительной активности коронарных сосудов. Таким образом, нами установлен феномен вазомоторной активности по отношению к коронарным сосудам при действии ИС. Этот эффект является дозозависимым и разнонаправленным. В современной физиологии и фармакологии нет сведений о наличии в коронарных сосудах специфических рецепторов к ИС. Вероятнее всего, вазомоторный эффект, вызываемый ИС в условиях перфузии изолированного сердца, реализуется

посредством аллостерического воздействия на эндотелиальный механизм регуляции тонуса коронарных сосудов. Изучение этих механизмов планируется в следующих экспериментах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные, полученные в ходе проведенного эксперимента, позволяют сделать следующие выводы:

1. Установлен феномен вазомоторной активности коронарных сосудов, обусловленный действием ИС.
2. Вазомоторный эффект ИС имеет дозозависимое и разнонаправленное действие.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vancheri F., Longo G., Vancheri S., Henein M. Coronary microvascular dysfunction // *J. Clin. Med.* 2020. Vol. 9 (9): 2880. doi: 10.3390/jcm9092880.
2. Czirák A., Lenkey Z., Sulyok E., Szokodi I., Koller A. L-arginine-nitric oxide-asymmetric dimethylarginine pathway and the coronary circulation: translation of basic science results to clinical practice // *Front. Pharmacol.* 2020. Vol. 11: 569914. doi: 10.3389/fphar.2020.569914.
3. Goodwill A.G., Dick G.M., Kiel A.M., Tune J.D. Regulation of coronary blood flow // *Compr. Physiol.* 2017. Vol. 7 (2). P. 321–382. doi: 10.1002/cphy.c160016.
4. Tune J.D. Coronary circulation // *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease*. 2014. Vol. 6 (3). P. 1–189. doi: 10.4199/CO0111ED1Vo1Y201406ISP054.
5. Duncker D.J., Bache R.J. Regulation of coronary blood flow during exercise // *Physiol. Rev.* 2008. Vol. 88 (3). P. 1009–1086. doi: 10.1152/physrev.00045.2006.
6. Konst R.E., Guzik T.J., Kaski J.C., Maas A.H.E.M., Elias-Smale S.E. The pathogenic role of coronary microvascular dysfunction in the setting of other cardiac or systemic conditions // *Cardiovasc. Res.* 2020. Vol. 116 (4). P. 817–828. doi: 10.1093/cvr/cvaa009.
7. Deussen A., Ohanyan V., Jannasch A., Yin L., Chilian W. Mechanisms of metabolic coronary flow regulation // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2012. Vol. 52 (4). P. 794–801. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.10.001.
8. Мадонов П.Г., Киншт Д.Н., Ершов К.И., Шилова М.А., Соловьев О.Н. Опыт клинического применения нового лекарственного препарата Тромбовазим® в сосудистой хирургии // *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2015. Т. 21, № 1. С. 99–104.
9. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Кихтенко Н.В. Таргетная фармакодинамика субтилизинов // *Сиб. науч. мед. журн.* 2016. Т. 36, № 4. С. 15–23.
10. Фармацевтическая композиция, обладающая тромболитическими, противовоспалительными и цитопротективными свойствами: Патент РФ № 2213557 / А.В. Артамонов, Е.И. Верещагин, О.В. Гришин, А.В. Троицкий. Опубликовано: 10.10.2003.

REFERENCES

1. Vancheri F., Longo G., Vancheri S., Henein M. (2020). Coronary microvascular dysfunction. *J. Clin. Med.*, 9 (9): 2880. doi: 10.3390/jcm9092880.
2. Czirák A., Lenkey Z., Sulyok E., Szokodi I., Koller A. (2020). L-arginine-nitric oxide-asymmetric dimethylarginine pathway and the coronary circulation: translation of basic science results to clinical practice. *Front. Pharmacol.*, 11: 569914. doi: 10.3389/fphar.2020.569914.
3. Goodwill A.G., Dick G.M., Kiel A.M., Tune J.D. (2017). Regulation of coronary blood flow. *Compr. Physiol.*, 7 (2), 321–382. doi: 10.1002/cphy.c160016.
4. Tune J.D. (2014). Coronary circulation. *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease*, 6 (3), 1–189. doi: 10.4199/CO0111ED1Vo1Y201406ISP054.
5. Duncker D.J., Bache R.J. (2008). Regulation of coronary blood flow during exercise. *Physiol. Rev.*, 88 (3), 1009–1086. doi: 10.1152/physrev.00045.2006.
6. Konst R.E., Guzik T.J., Kaski J.C., Maas A.H.E.M., Elias-Smale S.E. (2020). The pathogenic role of coronary microvascular dysfunction in the setting of other cardiac or systemic conditions. *Cardiovasc. Res.*, 116 (4), 817–828. doi: 10.1093/cvr/cvaa009.
7. Deussen A., Ohanyan V., Jannasch A., Yin L., Chilian W. (2012). Mechanisms of metabolic coronary flow regulation. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 52 (4), 794–801. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.10.001.
8. Madonov P.G., Kinsht D.N., Ershov K.I., Shilova M.A., Solov'ev O.N. (2015). Clinical experience of the new drug, Trombovazim® in vascular surgery. *Angiology and Vascular Surgery*, 21 (1), 99–104. In Russ.
9. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. (2016). Targeted pharmacodynamics of subtilisins. *The Siberian Scientific Medical Journal*, 36 (4), 15–23.
10. *Pharmaceutical composition with thrombolytic, anti-inflammatory and cytoprotective properties*: RF Patent No. 2213557 / A.V. Artamonov, E.I. Vereshchagin, O. V. Grishin, A.V. Troitsky. Published: 10.10.2003.
11. Minasyan S.M., Galagudza M.M., Sonin D.L. et al. (2009). Isolated rat heart perfusion technique. *Region-*

11. Минасян С.М., Галагудза М.М., Сонин Д.Л. и др. Методика перфузии изолированного сердца крысы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2009. Т. 8, № 4 (32). С. 54–59.
12. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion // J. Mol. Cell. Cardiol. 2011. Vol. 50 (6). P. 940–950.
13. Watanabe M., Okada T. Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats // Methods Mol. Biol. 2018. Vol. 1816. P. 107–116. doi: 10.1007/978-1-4939-8597-5_8.
14. Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики: Приказ Минздрава РФ от 01.04.2016 № 199н. URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201608160001?index=0&rangeSize=1>. Дата обращения: 08.06.2021.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Байкалов Герман Игоревич — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск).

Князев Роман Александрович — канд. биол. наук, ассистент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Ершов Константин Игоревич — канд. биол. наук, ассистент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Бахарева Ксения Игоревна — младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск).

Солдатова Марина Сергеевна — младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск).

Мадонов Павел Геннадьевич — д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; руководитель отдела экспериментальной фармакологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск).

Образец цитирования: Байкалов Г.И., Князев Р.А., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С., Мадонов П.Г. Изучение влияния иммобилизованных субтилизинов на коронарный кровоток в эксперименте на изолированном сердце крысы // Journal of Siberian Medical Sciences. 2021. № 3. С. 56–65.

- al Blood Circulation and Microcirculation*, 8, 4 (32), 54–59. In Russ.
12. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. (2011). Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 50 (6), 940–950.
13. Watanabe M., Okada T. (2018). Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats. *Methods Mol. Biol.*, 1816, 107–116. doi: 10.1007/978-1-4939-8597-5_8.
14. On the approval of the Rules of Good Laboratory Practice: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 01.04.2016 No. 199н. Retrieved on June 8, 2021 from <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201608160001?index=0&rangeSize=1>.

ABOUT THE AUTHORS

Baikalov German Igorevich — Post-graduate Student, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Junior Researcher, Laboratory for Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology (Novosibirsk).

Knyazev Roman Aleksandrovich — Cand. Sci. (Biol.), Assistant, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University.

Ershov Konstantin Igorevich — Cand. Sci. (Biol.), Assistant, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University.

Bakhareva Ksenia Igorevna — Junior Researcher, Laboratory for Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology (Novosibirsk).

Soldatova Marina Sergeevna — Junior Researcher, Laboratory for Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology (Novosibirsk).

Madonov Pavel Gennad'evich — Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor, Head, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Head, Division of Experimental Pharmacology, Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology (Novosibirsk).

Citation example: Baikarov G.I., Knyazev R.A., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S., Madonov P.G. (2021). Study of the immobilized subtilisins influence on coronary blood flow of an isolated rat heart. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 56–65.

Гидропическая дистрофия сенсомоторной коры белых крыс в контексте формирования темных нейронов и изменения нейроглиальных взаимоотношений после краткосрочной окклюзии общих сонных артерий

Горбунова А.В.¹, Степанов С.С.¹, Акулинин В.А.^{1, 2}, Авдеев Д.Б.¹, Шоронова А.Ю.¹, Макарьева Л.М.¹, Конев В.П.¹

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (Омск)

²ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

Hydropic degeneration of the sensorimotor cortex of white rats in the context of the formation of dark neurons and changes in neuroglial relationships following short-term common carotid arteries occlusion

Gorbunova A.V.¹, Stepanov S.S.¹, Akulinin V.A.^{1, 2}, Avdeev D.B.¹, Shoronova A.Yu.¹, Makaryeva L.M.¹, Konev V.P.¹

¹Omsk State Medical University

²Omsk State Agrarian University n.a. P.A. Stolypin

АННОТАЦИЯ

Введение. Нейродегенеративные процессы являются ключевыми в развитии ряда заболеваний — инсульты, болезни Паркинсона и Альцгеймера, эпилепсия, при черепно-мозговой травме. Они включают в себя первичные и вторичные структурно-функциональные изменения нервной ткани, а также гибель нейронов и полное выпадение функций.

Цель. Изучение проявлений гидропической дистрофии и реорганизации глиоцитархитектоники в процессе формирования темных нейронов в сенсомоторной коре (СМК) большого мозга половозрелых белых крыс после 40-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА).

Материалы и методы. На белых крысах линии Wistar моделировали 40-минутную ООСА. Головной мозг фиксировали перфузионным способом. Проводили морфометрическую оценку проявлений отека-набухания, цито- и глиоцитархитектоники СМК в норме ($n = 6$, контрольная группа), на 1-е ($n = 6$), 3-и ($n = 6$) и 7-е сутки ($n = 6$) после ООСА. Использовали окраску по Нисслю, гематоксилином и эозином, иммуногистохимические реакции NSE, MAP-2, GFAP и AIF1. Определяли относительную площадь зон отека-набухания, численную плотность нормохромных и темных пирамидных нейронов, олигодендроцитов (ОДЦ), микроглиоцитов (МГЦ).

Результаты. Высокое содержание (20–50 %) темных нейронов после ООСА сопровождалось увеличением в 3.3 раза относительной площади зон отека-набухания ($r = 0.82$, $p = 0.01$). Специфические белки (NSE, MAP-2) большей части темных нейронов сохранялись. Общая численная плотность нейронов СМК через 7 сут после ООСА уменьшалась на 26.4 % (слой III, $p = 0.001$) и 18.5 % (слой V, $p = 0.01$). Увеличивалось содержание астроцитов, МГЦ и ОДЦ. Пик численной плотности МГЦ отмечен на 1-е сутки, а ОДЦ — на 7-е сутки после острой неполной ишемии ($p \leq 0.001$). Выявленные изменения носили диффузно-очаговый характер.

Заключение. После 40-минутной ООСА в СМК увеличивалось содержание темных нейронов и, как следствие, появлялись признаки гидропической дистрофии. На этом фоне возрастало количество сателлитарных ОДЦ, астроцитов и МГЦ. Вероятно, отек-набухание, активные МГЦ и астроциты предварительно (в 1-е – 3-и сутки) санируют нервную ткань, обеспечивая ее последующее (7-е сутки) структурно-функциональное восстановление с участием ОДЦ.

Ключевые слова: острая ишемия, гидропическая дистрофия, сенсомоторная кора, темные нейроны, астроглия, микроглия, иммуногистохимия, морфометрия, крысы Wistar.

Поступила 30.03.2021
Принята 25.04.2021

Автор, ответственный за переписку
Авдеев Дмитрий Борисович: ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12.
E-mail: avdeev86@inbox.ru

Received 30.03.2021
Accepted 25.04.2021

Corresponding author
Avdeev Dmitry Borisovich: Omsk State Medical University, 12, Lenina str., Omsk, 644099, Russia.
E-mail: avdeev86@inbox.ru

ABSTRACT

Introduction. Neurodegenerative processes are key in the development of a number of diseases — strokes, Parkinson's and Alzheimer's diseases, epilepsy, and traumatic brain injury. They include primary and secondary structural and functional changes in the nervous tissue, as well as the death of neurons and complete loss of functions.

Aim. To study the manifestations of hydropic degeneration and reorganization of glio-cytoarchitectonics during the formation of dark neurons in the sensorimotor cortex (SMC) of the cerebrum of mature white rats in 40 min after the common carotid arteries occlusion (CCAO).

Materials and methods. A 40-minute CCAO was simulated in white Wistar rats. The brain was fixed by perfusion method. Morphometric assessment of manifestations of edema — swelling, cyto- and glio-cyto-architectonics of SMC was performed normally ($n = 6$, control group), on the 1st ($n = 6$), 3rd ($n = 6$) and 7th days ($n = 6$) after CCAO. The Nissl staining, hematoxylin and eosin, immunohistochemical typing NSE, MAP-2, GFAP and AIF1 were applied. The relative area of edema-swelling zones, the numerical density of normochromic and dark pyramidal neurons, oligodendrocytes (OD), microglia (MG) were determined.

Results. The high content (20–50%) of dark neurons after CCAO was accompanied by a 3.3-fold increase in the relative area of edema-swelling zones ($r = 0.82$, $p = 0.01$). Specific proteins (NSE, MAP-2) of most dark neurons were preserved. The total numerical density of SMC neurons decreased by 26.4% (layer III, $p = 0.001$) and 18.5% (layer V, $p = 0.01$) after 7 days of CCAO. The content of astrocytes, MG and OD increased. The peak in the number density of MG was observed in the 1st day, and OD — in the 7th day after acute subtotal ischemia ($p \leq 0.001$). The revealed changes were of a diffuse-focal nature.

Conclusion. After a 40-minute CCAO, the content of dark neurons in SMC increased and, as a result, signs of hydropic degeneration appeared. Against this background, the number of satellite OD, astrocytes and MG increased. Probably, edema-swelling, active MG and astrocytes previously (on the 1st – 3rd day) sanitize the nerve tissue, ensuring its subsequent (on the 7th day) structural and functional recovery with the participation of OD.

Keywords: acute ischemia, hydropic degeneration, sensorimotor cortex, dark neurons, astroglia, microglia, immunohistochemistry, morphometrics, Wistar rats.

ВВЕДЕНИЕ

Нейродегенеративные процессы являются ключевыми в развитии ряда заболеваний — инсульты, болезни Паркинсона и Альцгеймера, эпилепсия, при черепно-мозговой травме. Они включают в себя первичные и вторичные структурно-функциональные изменения нервной ткани, а также гибель нейронов и полное выпадение функций. Механизмы нейродегенеративных процессов интенсивно изучаются [1].

По данным литературы после ишемии в головном мозге выявляются признаки гидропической дистрофии, атрофии, апоптоза, некроза (коагуляционного и коагуляционного), фагоцитоза, а также гиперплазии и гипертрофии [2–4]. Эти изменения проявляются отеком-набуханием, вакуолизацией, локальным, субтотальным, тотальным разрушением нуклеопротеинов (гипохромия), уплотнением матрикса, гиперхромией ядра и цитоплазмы без и со сморщиванием, кариорексисом и гомогенизацией клеточных структур (темные нейроны) [5–8]. Имеются данные о том, что образование темных нейронов во всех случаях связано с обратимым однотипным фазовым переходом конформационного состояния белков цитозоля и цитоскелета в живой клетке (по типу гель — гель) [9].

INTRODUCTION

Neurodegenerative processes are key in the development of a number of diseases — strokes, Parkinson's and Alzheimer's diseases, epilepsy, and traumatic brain injury. They include primary and secondary structural and functional changes in the nervous tissue, as well as the death of neurons and complete loss of functions. The mechanisms of neurodegenerative processes are intensively studied [1].

According to the literature, after ischemia in the brain, signs of hydropic dystrophy, atrophy, apoptosis, necrosis (colliquation and coagulation), phagocytosis, as well as hyperplasia and hypertrophy were revealed [2–4]. These changes are manifested by edema-swelling, vacuolization, local, subtotal, total destruction of nucleoproteins (hypochromia), matrix compaction, hyperchromia of the nucleus and cytoplasm with and without shrinking, karyorrhexis and homogenization of cellular structures (dark neurons) [5–8]. There is evidence that the formation of dark neurons in all cases is associated with a reversible phase transition of the conformational state of the cytosol and cytoskeleton proteins in a living cell (by the gel — gel type) [9].

There are reversibly and irreversibly altered degenerative dark neurons in response to pathological effects during the life of the animal. A distinct

Выделяют обратимо и необратимо измененные дегенеративные темные нейроны в ответ на патологическое воздействие при жизни животного. Отличительной особенностью начальных изменений темных нейронов является гипербазофилия, гипераргирофилия, гиперэлектронная плотность и резкое уплотнение ультраструктурных элементов в перикарионе и дендритах [9–11].

Обратимая прижизненная нейрональная дегенерация проявляется уплотнением перикариона без признаков деструкции его структурных элементов. Проявлениями необратимой прижизненной нейрональной дегенерации (не апоптотные некробиотические изменения) являются «пикноморфный нейрон», «острая эозинофильная дегенерация нейронов», «коагуляционный некроз», которые также называют «красные мертвые нейроны» при окраске фуксином или эозином. Для этих нейронов характерны уменьшение объема перикариона, утрата базофильного вещества, интенсивная эозинофилия цитоплазмы, мелкие и сморщенные темноокрашенные пикнотические ядра, кариорексис. Потенциальную необратимость дегенеративных изменений связывают с степенью гомогенизации ядра и цитоплазмы нейрона [3, 11, 12].

Отличительной особенностью прижизненной дегенерации нейронов может быть вакуолизированный отечный нейропил, в котором произошло набухание нейрональных и астроцитарных отростков. С набуханием дистальных дендритов и формированием «пористого» нейропила верхних слоев неокортекса связывают ранние ишемические и постишемические функциональные нарушения. Вакуолярные изменения могут наблюдаться также и в цитоплазме темных нейронов. По данным литературы дегенеративно измененные нейроны обычно находятся на разных стадиях патологического процесса — некоторые имеют нормальное ядро, но выраженную эозинофильную цитоплазму, другие — пикнотические или фрагментированные ядра. Кроме того, в зоне появления темных нейронов увеличивается содержание астроцитов и микроглиоцитов [11].

Длительное изучение всех типов темных нейронов показало, что инициирующие их факторы многообразны — различные патофизиохимические каскады или физические повреждения, например, ишемия или травма головы. При этом лежащий в основе формирования темных нейронов последующий конформационный переход белков цитозоля трудно предотвратить. Он занимает от 30 до 60 с, сопровождается выделением свободной воды, которая сливается в систему лакун

tive feature of the initial changes in dark neurons is hyperbasophilia, hyperargyrophilia, hyperelectronic density and a sharp compaction of ultrastructural elements in the perikaryon and dendrites [9–11].

Reversible intravital neuronal degeneration is manifested by compaction of the perikaryon without signs of destruction of its structural elements. Manifestations of irreversible intravital neuronal degeneration (non-apoptotic necrobiotic changes) are “pycnomorphic neuron”, “acute eosinophilic degeneration of neurons”, “coagulation necrosis”, which are also called “red dead neurons” when stained with fuchsin or eosin. These neurons are characterized by a decrease in the volume of the perikaryon, loss of basophilic substance, intense eosinophilia of the cytoplasm, small and wrinkled dark-colored pycnotic nuclei, and karyorrhexis. The potential irreversibility of degenerative changes is associated with the degree of homogenization of the nucleus and cytoplasm of the neuron [3, 11, 12].

A distinctive feature of intravital neuron degeneration may be a vacuolized edematous neuropile, in which there was a swelling of neuronal and astrocytic processes. Early ischemic and post-ischemic functional disorders are associated with the swelling of distal dendrites and the formation of a “porous” neuropile of the upper layers of the neocortex. Vacuolar changes can also be observed in the cytoplasm of dark neurons. According to the literature, degeneratively altered neurons are usually at different stages of the pathological process — some have a normal nucleus, but a pronounced eosinophilic cytoplasm, others have pycnotic or fragmented nuclei. In addition, the content of astrocytes and microglia increases in the area of the appearance of dark neurons [11].

A long-term study of all types of dark neurons has shown that the factors initiating them are diverse — various pathobiochemical cascades or physical damage, for example, ischemia or head injury. At the same time, the subsequent conformational transition of cytosol proteins underlying the formation of dark neurons is difficult to prevent. It takes from 30 to 60 s, is accompanied by the release of free water, which is drained into the lacuna system and squeezed out into astrocytes. This works as a kind of pump that removes unbound water and substances dissolved in it. The more water it pumps, the denser the cytomatrix of the neuron becomes. However, a dehydrated neuron initially has a high potential for recovery. This is due to the fact that all its proteins undergo only conformational changes without hydrolytic breaks of polymers [9].

и выдавливается в астроциты. Это работает как своеобразный насос, удаляющий несвязанную воду и растворенные в ней вещества. Чем больше воды он перекачивает, тем плотнее становится цитоматрикс нейрона. Однако дегидратированный нейрон вначале имеет высокий потенциал для восстановления. Это обусловлено тем, что все его белки подвергаются только конформационным изменениям без гидролитических разрывов полимеров [9].

Таким образом, образование темных нейронов является быстрым обратимым динамичным и самораспространяющимся ответом нервной ткани на переходные изменения во внеклеточной физико-химической среде любой этиологии. После слабых и умеренных воздействий большая часть нейронов не имеет признаков необратимых дегенеративных изменений, т.е. появление большого количества темных нейронов в раннем постишемическом периоде не является признаком их полного разрушения и утилизации в остром и отдаленном периодах [7].

Известно, что полная ишемия вызывает крупноочаговые необратимые некробиотические изменения с вовлечением в процесс воспаления, неполная — диффузно-очаговые, часто обратимые дистрофические изменения без активации провоспалительных цитокинов и микроглии [13–16]. Особенности формирования дегенеративно измененных темных нейронов, а также астроцитарной и микроглиальной реакции в сенсомоторной коре (СМК) головного мозга после 40-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА) не изучены.

В связи с этим представляется актуальным изучение феномена образования темных нейронов в головном мозге животных, в частности, перенесших 40-минутную ООСА.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить проявления гидропической дистрофии и реорганизации глиоцитоматриксной архитектуры в процессе формирования темных нейронов в сенсомоторной коре большого мозга половозрелых белых крыс после 40-минутной окклюзии общих сонных артерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», одобрена этическими комитетами вуза (протокол № 107 от 2 октября 2018 г.). Использовали аутобредных половозрелых крыс стока Wistar (самцы массой 270–350 г). Животных содержали в стандартных лабораторных условиях, эксперимент

Thus, the formation of dark neurons is a fast reversible dynamic and self-propagating response of the nervous tissue to transient changes in the extracellular physical-chemical environment of any etiology. After mild and moderate effects, most of the neurons have no signs of irreversible degenerative changes, i.e., the appearance of a large number of dark neurons in the early post-ischemic period is not a sign of their complete destruction and disposal in the acute and long-term periods [7].

It is known that total ischemia causes large-focal irreversible necrobiotic changes involving inflammation, subtotal one — diffuse-focal, often reversible dystrophic changes without activation of pro-inflammatory cytokines and microglia [13–16]. The features of the formation of degeneratively altered dark neurons, as well as astrocytic and microglial reactions in the sensorimotor cortex (SMC) of the brain after a 40-minute common carotid arteries occlusion (CCAO) have not been studied.

In this regard, it seems relevant to study the phenomenon of the formation of dark neurons in the brain of animals, in particular, those who underwent a 40-minute CCAO.

AIM OF THE RESEARCH

To study the manifestations of hydropic degeneration and reorganization of gliocytoarchitectonics during the formation of dark neurons in the sensorimotor cortex of the cerebrum of mature white rats after 40-minute occlusion of the common carotid arteries.

MATERIALS AND METHODS

The work was carried out at the Omsk State Medical University, approved by the ethical committees of the university (Protocol No. 107 of October 2, 2018). Outbred mature Wistar rats (males weighing 270–350 g) were used. The animals were kept in standard laboratory conditions, the experiment was carried out in accordance with the recommendations of the International Committee on Laboratory Animals, supported by WHO, Directive of the European Parliament No. 2010/63/EU of 22.09.2010 “On the Protection of Animals Used for Scientific Purposes.”

Acute subtotal transient cerebral ischemia during 40 min was modeled by occlusion of the common carotid arteries without hypotension. The choice of this model was due to the fact that, unlike focal total ischemia (for example, occlusion of the middle cerebral artery), this model did not lead to large-focal necrotic changes [14–16]. The experiment was performed under anesthesia: zoletil 100 (10 mg/kg of

проводили в соответствии с рекомендациями Международного комитета по лабораторным животным, поддержанными ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей».

Острую неполную транзиторную ишемию головного мозга длительностью 40 мин моделировали путем окклюзии общих сонных артерий без гипотонии. Выбор этой модели был обусловлен тем, что, в отличие от фокальной полной ишемии (например, окклюзия средней мозговой артерии), данная модель не приводила к крупноочаговым некротическим изменениям [14–16]. Эксперимент проводили под наркозом: золетил 100 (10 мг/кг массы тела). На 1-е, 3-и и 7-е сутки после ООСА ($n = 18$, по 6 крыс на каждый указанный срок) сосудистое русло мозга промывали введением 100–125 мл раствора 0.9% NaCl и фрагмина (5000 ME) в левый желудочек сердца и фиксировали перфузией 30 мл 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7.2–7.4). Подобный подход широко используется при заборе материала [8]. Контролем служили интактные крысы ($n = 6$). Полученный материал заключали (автоматический процессор STP 120) в гомогенизированный парафин (HISTOMIX®). Серийные фронтальные срезы (толщина 4 мкм) готовили (микротом HM 450, Thermo Scientific) на уровне сенсомоторной коры [17]. Манипуляции, связанные с забором материала, проводили под наркозом (золетил 100).

Идентификацию клеток (пирамидные нейроны/глия) СМК проводили на светооптических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и по Нисслю, а также при иммуногистохимическом типировании белков NSE, MAP-2 (нейроны), GFAP (астроциты) и AIF-1 (микроглия). Численную плотность пирамидных нейронов, астроцитов и олигодендроцитов (ОДЦ) определяли при окраске по Нисслю, а микроглиоцитов (МГЦ) — при типировании AIF-1. Состояние цитоскелета нейронов (тела и дендриты) изучали с помощью специфических реакций на MAP-2, а цитоскелета астроцитов — реакции на GFAP промежуточных филаментов. Микроглиоциты верифицировали с помощью специфической для этих клеток реакции на AIF-1 (аллотрансплантат воспалительного фактора 1).

Для иммуногистохимического исследования использовали поли- и моноклональные антитела к белкам NSE, MAP-2, GFAP и AIF-1: NSE — кроличьи поликлональные антитела к крысиному антигену, разведение 5–20 мкг/мл (Cloud-Clone

body weight). On the 1st, 3rd and 7th days after CCAO ($n = 18$, 6 rats for each specified period), the cerebral vascular bed was washed by injecting 100–125 ml of 0.9% NaCl and fragmin solution (5000 IU) into the left ventricle of the heart and fixed by perfusion of 30 ml of 4% paraformaldehyde solution on a phosphate buffer (pH 7.2–7.4). Such an approach is widely used when taking material [8]. The control was intact rats ($n = 6$). The obtained material was enclosed (automatic tissue processor STP 120) in homogenized paraffin (HISTOMIX®). Serial frontal sections (thickness 4 μ m) were prepared (microtome HM 450, Thermo Scientific) at the level of the sensorimotor cortex [17]. Manipulations related to the taking of material were performed under anesthesia (zoletil 100).

The identification of cells (pyramidal neurons/glia) of SMC was carried out on light-optical preparations stained with hematoxylin and eosin and by Nissl, as well as by immunohistochemical typing of proteins NSE, MAP-2 (neurons), GFAP (astrocytes) and AIF-1 (microglia). The numerical density of pyramidal neurons, astrocytes and oligodendrocytes (OD) was determined by Nissl staining, and microglia (MG) were determined by AIF-1 typing. The state of the cytoskeleton of neurons (bodies and dendrites) was studied using specific reactions to MAP-2, and the cytoskeleton of astrocytes — reactions to GFAP of intermediate filaments. Microglia were verified by a cell-specific reaction to AIF-1 (allograft inflammatory factor-1).

For the immunohistochemistry, poly- and monoclonal antibodies to the proteins NSE, MAP-2, GFAP and AIF-1 were used: NSE — rabbit polyclonal antibodies to rat antigen, dilution of 5–20 μ g/ml (Cloud-Clone Corp.); MAP-2 — rabbit polyclonal antibodies, dilution of 1 μ g/ml (ab32454, Abcam, USA); GFAP — mouse monoclonal antibodies, GA5 clone, ready-for-use (Leica Biosystems Newcastle Ltd, UK); AIF-1 — rabbit polyclonal antibodies, dilution of 5–20 μ g/ml (Cloud-Clone Corp.). The immunohistochemical reaction was performed using the Novolink Polymer Detection System kit (Leica Biosystems Newcastle Ltd, the UK), the specimens were finished with hematoxylin, enclosed in polystyrene.

To count the cells in each animal, five periodic Nissl-colored frontal sections of SMC were used. The specimens were photographed using a Leica DM1000 microscope (lens $\times 10$, 40, 100, GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size 1.4 $\times$ 1.4 μ m), the image was saved in files with the TIFF extension (2592 $\times$ 1944 pixels). We per-

Corp.); MAP-2 — кроличьи поликлональные антитела, разведение 1 мкг/мл (ab32454, Abcam, США); GFAP — мышинные моноклональные антитела, клон GA5, готовые к применению (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания); AIF-1 — кроличьи поликлональные антитела, разведение 5–20 мкг/мл (Cloud-Clone Corp.). Иммуногистохимическую реакцию проводили на срезах, помещенных на полилизинные предметные стекла. Визуализацию белков проводили с помощью мультимерного набора Novolink Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания), препараты докрашивали гематоксилином, заключали в полистирол.

Для подсчета клеток у каждого животного использовали по пять периодических окрашенных по Нисслю фронтальных срезов СМК. Препараты фотографировали на микроскопе Leica DM1000 (объектив $\times 10$, 40, 100, камера GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, размер пикселя 1.4×1.4 мкм), изображение сохраняли в файлах с расширением TIFF (2592×1944 пикселей). Проводили стандартную коррекцию с помощью фильтра Camera Raw (контрастность, баланс белого, четкость) в Photoshop CC. Дальнейшее морфометрическое исследование осуществляли с использованием программы ImageJ 1.53e. Вариационные ряды формировались путем рандомизации случайным образом отобранных цветных изображений СМК — 8–10 областей с каждого среза. Формирование окончательных выборок полей зрения для каждого срока (1-е, 3-е и 7-е сутки) ($n = 25$, на каждый срок) проводили из полученных массивов данных с помощью генератора случайных чисел в программе Statistica 8.0. Таким образом, для морфометрического анализа на срок отбирали по 25 случайно выбранных полей зрения СМК. Общую численную плотность пирамидных нейронов, астроцитов и олигодендроцитов в СМК определяли при окраске по Нисслю и гематоксилином и эозином. Идентификацию нейронов проводили по наличию ядрышек на срезах перикарионов (пересчет на 1 мм^2), которые, согласно [5], являются чрезвычайно устойчивой структурой нейрона. Определяли содержание (%) нормо- и гиперхромных нейронов (темных несморщенных и пикноморфных). Для морфометрического анализа также использовали иммуногистохимическую реакцию на AIF-1 (численная плотность микроглиоцитов) и GFAP (численная плотность астроцитов). Реакции (NSE, MAP-2) применяли для идентификации нейронов по специфическим белкам.

formed a standard correction using the Camera Raw filter (contrast, white balance, clarity) in Photoshop CC. Further morphometric research was carried out using the ImageJ 1.53e program. Variation series were formed by randomization of randomly selected color images of SMC — 8–10 regions from each section. The formation of the final samples of visual fields for each period (1st, 3rd and 7th days) ($n = 25$, for each period) was carried out from the obtained data arrays using a random number generator in the Statistica 8.0 program. Thus, 25 randomly selected visual fields of SMC were selected for morphometric analysis for the period. The total numerical density of pyramidal neurons, astrocytes and oligodendrocytes in SMC was determined by Nissl staining and hematoxylin and eosin. The identification of neurons was carried out by the presence of nucleoli on the sections of perikaryons (recalculated by 1 mm^2), which, according to [5], are an extremely stable structure of a neuron. The content (%) of normal and hyperchromic neurons (dark, non-shrunken and pycnomorphic) was determined. For morphometric analysis, an immunohistochemical reaction to AIF-1 (numerical density of microgliocytes) and GFAP (numerical density of astrocytes) was also used. The reactions (NSE, MAP-2) were used to identify neurons by specific proteins.

The detection of edema-swelling zones (maximum pixel brightness — Maxima) of the nervous tissue was carried out using the Find Maxima M. Schmid filter from the ImageJ 1.53 e program (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process.html#find-maxima>). For each period (1st, 3rd and 7th days), 50 randomly selected visual fields (lens $\times 100$) were used. The percent area of the maximum brightness zones was determined using the image masks obtained as a result of the operation of this filter (the Analyze Particles tool).

According to the literature data in neuromorphology, 6–8 animals in a group, 5–6 serial sections and 5–10 random visual fields of SMC on each section are sufficient to obtain significant results [8, 18]. In this study, we compared 25 randomized visual fields for each term.

Statistical hypotheses were tested using non-parametric criteria. Initially, the criterion for multiple comparison (ANOVA Kruskal-Wallis) was used. When obtaining a statistically significant result, a pair comparison was performed using the Mann-Whitney U-test for independent samples. The criteria of χ^2 and Fischer were also used. The quantitative data in the study are presented as the median (Me —

Выявление зон отека-набухания (максимальная яркость пикселей — Maxima) нервной ткани проводили с помощью плагин-фильтра Find Maxima M. Schmid из программы ImageJ 1.53e (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process.html#find-maxima>). Для каждого срока (1-е, 3-и и 7-е сутки) использовали по 50 случайно выбранных полей зрения (объектив $\times 100$). На полученных в результате работы этого фильтра масках изображений определяли (инструмент Analyze Particles) относительную площадь зон максимальной яркости.

Согласно литературным данным в нейроморфологии для получения достоверных результатов достаточно 6–8 животных в группе, 5–6 серийных срезов и 5–10 случайных полей зрения СМК на каждом срезе [8, 18]. В настоящем исследовании мы сравнивали по 25 рандомизированных полей зрения на каждый срок.

Проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями. Первоначально использовали критерий для множественного сравнения (ANOVA Kraskel-Wallis). При получении статистически значимого результата проводили парное сравнение с помощью Mann-Whitney U-test для независимых выборок. Использовались также критерии χ^2 и Фишера. Количественные данные в исследовании представлены как медиана (Me — 50% квартиль) и интерквартильный разброс ($Q1$ – $Q3$ — 25–75% квартили), а также как проценты. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0.05$. Анализ проведен с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft) [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После ООСА в СМК отмечали признаки вакуолизации дендритов и отростков астроглии нейропиля, реже — перикарионов (рис. 1). Если у животных контрольной группы степень гидратации нервной ткани СМК, определенная по относительной площади зон отека-набухания (ОПОН), составила 5.4 % (2.8–7.9 %) поля зрения, то через 1 сут после ООСА этот показатель увеличился в 3.3 раза и сохранялся на высоком уровне на 3-и и 7-е сутки (рис. 2). Основной объем зон отека-набухания был связан с нейропилем (дендриты, синапсы, отростки астроцитов) и микрососудами (отростки астроцитов) (рис. 1, А, В). Только для единичных нейронов отмечены проявления перичеселлюлярного отека. Это свидетельствовало о том, что свободная вода, образовавшаяся при формировании темных нейронов, скапливалась в дистальных дендритах, мелких отростках астроцитов нейропиля и, вероятно, депонировалась в периваскулярных ножках.

50% quartile) and interquartile spread ($Q1$ – $Q3$ — 25–75% quartile), as well as as percentages. The null hypothesis was rejected at $p < 0.05$. The analysis was carried out using the Statistica 8.0 program (StatSoft) [19].

RESULTS AND DISCUSSION

After CCAO, signs of vacuolization of dendrites and processes of astroglia of the neuropile were noted in the sensorimotor cortex, less often — perikaryons (Fig. 1). If in the animals of the control group the degree of hydration of the nervous tissue of SMC, determined by the percent area of the edema-swelling zones (PAES), was 5.4% (2.8–7.9%) of the visual field, then 1 day after CCAO, this indicator increased by 3.3 times and remained at a high level on the 3rd and 7th days (Fig. 2). The main volume of the edema-swelling zones was associated with the neuropil (dendrites, synapses, astrocyte processes) and microvessels (astrocyte processes) (Fig. 1, A, B). Only for single neurons, manifestations of pericellular edema were noted. This indicated that the free water formed during the formation of dark neurons accumulated in the distal dendrites, small processes of neuropil astrocytes and, probably, was deposited in the perivascular stalks.

In 40 min after CCAO, a large number of dark neurons were detected (Fig. 1, A, C, D). On the 1st day after CCAO reversibly altered dark neurons prevailed without signs of gross destruction of the nucleus and cytoplasm, with a preserved nucleolus, a moderate decrease in perikaryon volume — as the result of conformational changes in cytomatrix proteins. Irreversible invital degeneration of neurons was manifested by a pronounced decrease in the volume of the perikaryon, intense eosinophilia of the nucleus and cytoplasm, loss of basophilic substance, the appearance of neurons with wrinkled dark-colored pycnotic nuclei and the disappearance of the contours of the nucleus, i.e., signs of protein dystrophy and transition to coagulation necrosis (Fig. 1, C, D). The highest content of all types of dark neurons was noted on the 3rd and 7th days after CCAO in layer V (see Fig. 2). The proportion of pycnomorphic neurons (the number of pycnomorphic neurons out of 200 studied for each period) in the acute period (1st–3rd day) was less than after 7 days: in the acute period in layer III — 8/200, layer V — 13/200, and on the 7th day — 19/200 ($\chi^2 = 3.9$; $df = 1$; $p = 0.046$) and 28/200 ($\chi^2 = 5.3$; $df = 1$; $p = 0.021$) respectively.

According to the data of paired correlation analysis (Spearman) after CCAO, a relationship was revealed between the content of dark neurons in the visual field and the percent area of edema-swelling

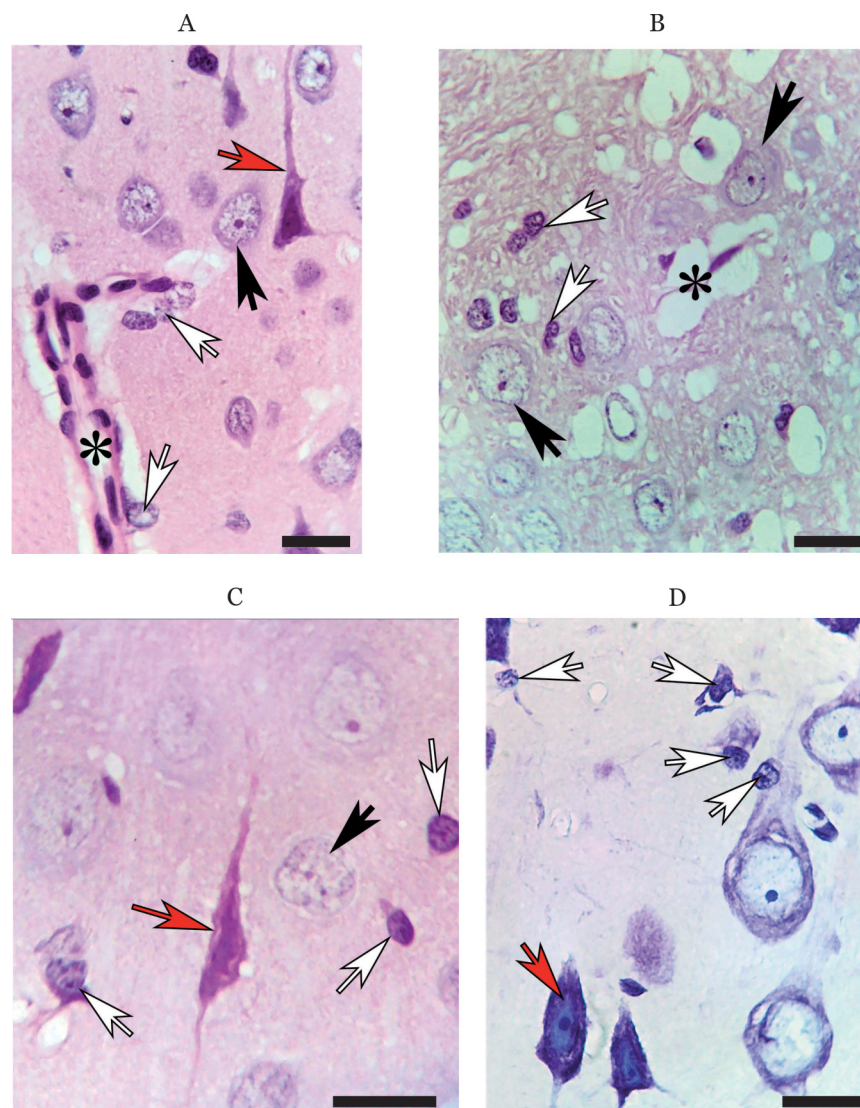


Рис. 1. Пирамидные нейроны слоев III (А, В) и V (С, D) СМК головного мозга на 1-е (А, В) и 7-е (С, D) сутки после ООСА: темные (гиперхромные) нейроны (красные стрелки) рядом с нормохромными нейронами (черные стрелки), большое количество глиальных клеток (белые стрелки), вакуолизация нейропила (D); знаком * обозначены микрососуды с перичеллюлярным отеком. Окраска гематоксилином и эозином (А, В, С), по Нисслю (D). Объектив: $\times 100$; шкала — 20 мкм

Fig. 1. Pyramidal neurons of layers III (A, B) and V (C, D) of SMC of the brain on the 1st (A, B) and 7th (C, D) days after CCAO: dark (hyperchromic) neurons (red arrows) next to normochromic neurons (black arrows), a large number of glial cells (white arrows), vacuolization of the neuropile (D); the sign * indicates microvessels with pericellular edema. Staining with hematoxylin and eosin (A, B, C), Nissl (D). Lens: $\times 100$; scale — 20 μm

После 40-минутной ООСА выявлялось большое количество темных нейронов (рис. 1, А, С, D). В 1-е сутки после ООСА преобладали обратимо измененные темные нейроны без признаков грубой деструкции ядра и цитоплазмы, с сохраненным ядрышком, умеренным уменьшением объема перикариона — результат конформационных изменений белков цитоматрикса. Необратимая прижизненная дегенерация нейронов проявлялась выраженным уменьшением объема перикариона, интенсивной эозинофилией ядра и цито-

zones. A strong positive correlation observed for 1st ($r = 0.72$; $p = 0.03$) and 3rd ($r = 0.82$; $p = 0.01$) day, the average — on the 7th day after CCAO ($r = 0.65$; $p = 0.02$).

Thus, after CCAO quickly died and eliminated the small pyramidal neurons of layer III, and large pyramorphic neurons of layer V was accumulated. Their disposal required more time (> 7 days) and resources (microgliaocytes, astrocytes) [20].

In non-shrunk (Fig. 3, A, B) and shrunk (Fig. 3, C, D) dark neurons, high immunoreactivity of

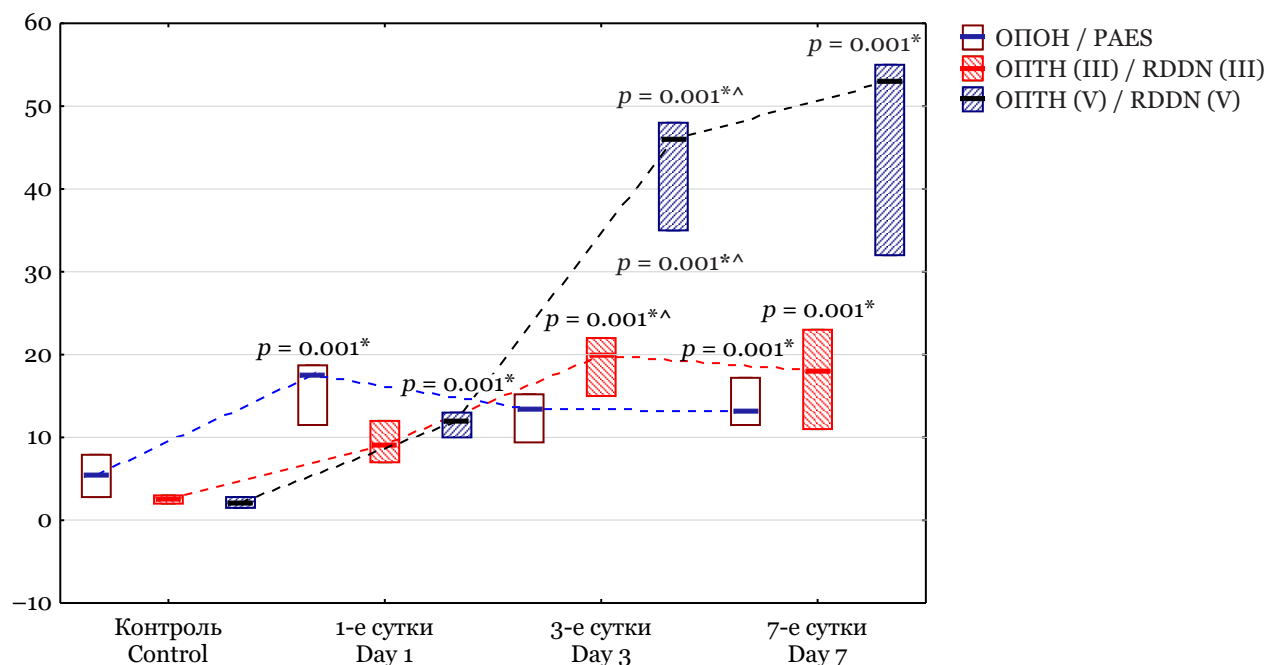


Рис. 2. Относительная площадь зон отека-набухания (ОПОН, %), относительная плотность темных нейронов (ОПТН, %) в III и V слоях СМК в группе контроля и после 40-минутной ООСА. Различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (*) и предыдущим сроком (^) при $p < 0.001$. Данные представлены как медиана, нижний и верхний квартили (интерквартильный размах)

Fig. 2. Percent area of edema-swelling zones (PAES, %), relative density of dark neurons (RDDN, %) in layers III and V of SMS in the control group and after 40-minute CCAO. The differences are statistically significant compared to the control group (*) and the previous period (^) at $p < 0.001$. The data are presented as median, lower and upper quartiles (interquartile range)

плазмы, утратой базофильного вещества, появлением нейронов со сморщенными темноокрашенными пикнотическими ядрами и исчезновением контуров ядра, т.е. признаками белковой дистрофии и перехода в коагуляционный некроз (рис. 1, C, D). Максимально высокое содержание всех типов темных нейронов отмечали на 3-и и 7-е сутки после ООСА в слое V (см. рис. 2). Доля пикноморфных нейронов (количество пикноморфных нейронов из 200 изученных для каждого срока) в остром периоде (1-е – 3-и сутки) была меньше, чем через 7 сут: в остром периоде в слое III – 8/200, слое V – 13/200, а на 7-е сутки – 19/200 ($\chi^2 = 3.9$; $df = 1$; $p = 0.046$) и 28/200 ($\chi^2 = 5.3$; $df = 1$; $p = 0.021$) соответственно.

По данным парного корреляционного анализа (Спирмен) после ООСА выявлена связь между содержанием в поле зрения темных нейронов и относительной площадью зон отека-набухания. Сильная положительная связь отмечена на 1-е ($r = 0.72$; $p = 0.03$) и 3-и ($r = 0.82$; $p = 0.01$) сутки, средняя – на 7-е сутки после ООСА ($r = 0.65$; $p = 0.02$).

Таким образом, после ООСА быстрее погибали и элиминировались мелкие пирамидные нейроны слоя III, а крупные пикноморфные нейроны слоя V накапливались. Для их утилизации

specific NSE and MAP-2 proteins was preserved. Probably, the compaction of cytomatrix neurofilaments (MAP-2) without destruction of microtubules and even the appearance of small vacuoles (Fig. 3, C) is not the cause of neuronal death, but only indicates their preservation as a result of conformational dehydrating changes in the cytomatrix. As a result, the physicochemical bases of the formation and propagation of a nerve impulse, as well as neuroplastic mechanisms, are blocked, but the cell does not die. At the same time, the high density of NSE ensures that a certain critical level of ATP is achieved anaerobically to support the basic needs of the dark cell. As a result, most of the dark neurons are restored after a 40-minute CCAO. This is supported by the literature data [18].

The structural changes of neurons described above were accompanied by a reorganization of the neuroglial architectonics. The population of astrocytes, oligodendrocytes and microglia changed (Fig. 1, D and 4). The neuroastrocyte index increased from 1.62 (1.53–1.81) in the control group to 2.72 (2.48–3.10) in the group after CCAO ($p = 0.001$). In parallel, hypertrophy of astrocyte processes was noted (Fig. 4, B, C, D). However, it is necessary to focus attention on the fact that on the 1st

требовались больше времени (> 7 сут) и материальных ресурсов (МГЦ, астроциты) [20].

В несморщенных (рис. 3, А, В) и сморщенных (рис. 3, С, D) темных нейронах сохранялась высокая иммунореактивность специфических белков NSE и MAP-2. Вероятно, уплотнение нейрофиламентов цитоматрикса (MAP-2) без разрушения микротрубочек и даже появление мелких вакуолей (рис. 3, В) не является причиной гибели нейронов, а свидетельствует лишь об их консервации в результате конформационных дегидратирующих изменений цитоматрикса. В результате блокируются физико-химические основы образования и распространения нервного импульса, а также нейропластические механизмы, но клетка не погибает. При этом высокая плотность NSE обеспечивает достижение определенного критического уровня АТФ анаэробным путем для поддержки базовых потребностей темной клетки. В результате большая часть темных нейронов после 40-минутной ООСА восстанавливается. В пользу этого свидетельствуют и литературные данные [18].

Описанные выше структурные изменения нейронов сопровождались реорганизацией нейроглиальной архитектоники. Изменялась популяция астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов (рис. 1, D и 4). Нейроастроцитарный индекс увеличивался с 1.62 (1.53–1.81) в группе контроля до 2.72 (2.48–3.10) в группе после ООСА ($p = 0.001$). Параллельно с этим отме-

day after CCAO, a large number of small vacuoles and destruction of part of the astrocyte cytoskeleton were detected in the astrocyte processes (Fig. 4, A). Hypertrophic hyperplastic manifestations of reactive astrogliosis were noted later — on the 3rd and 7th days after ischemia. A large number of fibrous and protoplasmic astrocytes with powerful primary processes appeared, as well as zones of high astrocyte density (Fig. 4, B, C, D). On the 7th day after CCAO, an increase in the number of fibrous astrocytes was noted in the subpial zone under the outer border glial membrane of the brain. Earlier, after a 20-minute CCAO, we revealed quantitative heterogeneity and heterochrony of changes in the spatial organization of the proximal and distal branches of astrocytic processes. Small processes of astrocytes located on the periphery of their domains were more labile and reactive [21]. In our studies, a small-focal increase in the number of reactive fibrous astrocytes did not allow us to talk about pathological astrogliosis after irreversible destruction of neurons, characteristic of ischemic and hemorrhagic stroke. Such changes in astrocytes rather indicated the activation of their natural protective functions aimed at recovery and disposal of damaged neurons.

In the brains of control animals, small — $21.2 \mu\text{m}$ ($30.8\text{--}42.6 \mu\text{m}$) — inactive microgliaocytes with long processes prevailed. After CCAO, large amoeboid MG appeared — $42.6 \mu\text{m}^2$ ($31.3\text{--}51.0 \mu\text{m}^2$) ($p = 0.0001$). This probably indicated the activation

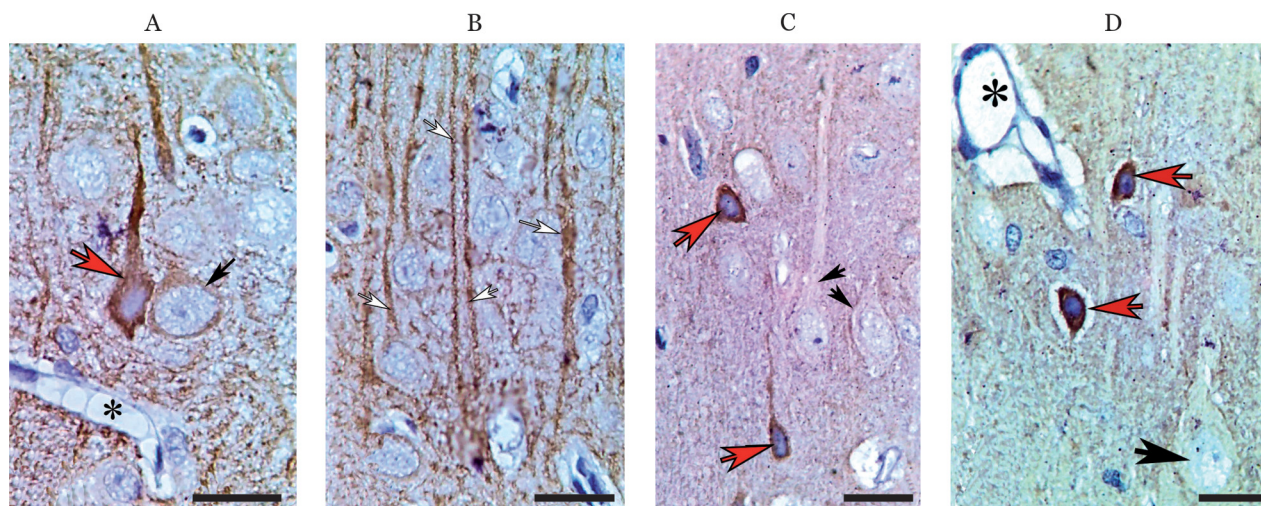


Рис. 3. Темные нейроны при реакции на специфические нейрональные белки: сохранность и высокая плотность типированных белков: А, В — MAP-2 (1-е сутки); С, D — NSE (3-и сутки). Белые стрелки — дендриты, красные стрелки — темные нейроны, черные стрелки — нормохромные нейроны, знаком * обозначены микрососуды с проявлениями отека-набухания периваскулярных отростков астроцитов.

Иммуногистохимическое исследование. Объектив: $\times 100$; шкала — 20 мкм

Fig. 3. Dark neurons in response to specific neuronal proteins: safety and high density of typed proteins: А, В — MAP-2 (day 1); С, D — NSE (day 3). White arrows — dendrites, red arrows — dark neurons, black arrows — normochromic neurons, the sign * indicates microvessels with manifestations of edema-swelling of perivascular processes of astrocytes.

Immunohistochemistry. Lens: $\times 100$; scale — 20 μm

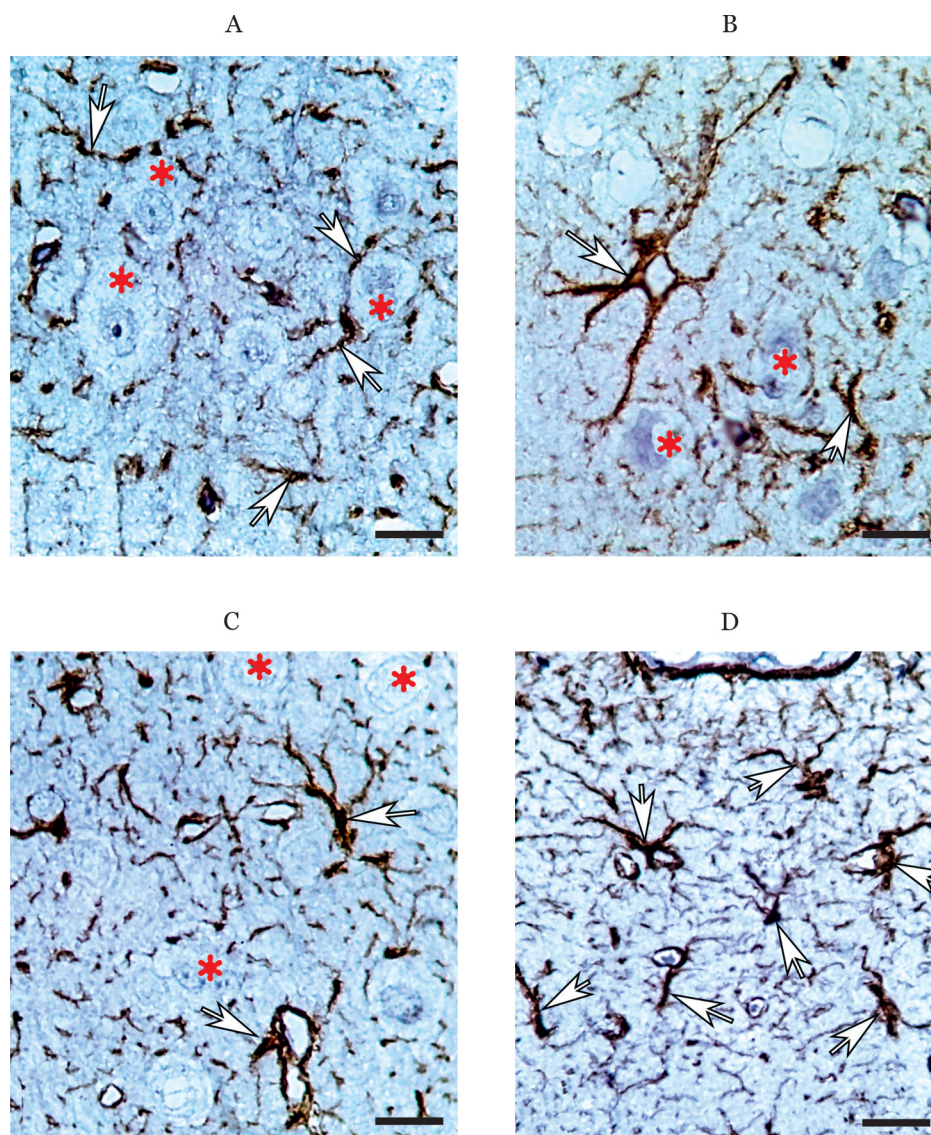


Рис. 4. Астроциты (показаны стрелками) слоев III (A, B, C) и I СМК головного мозга на 1-е (A), 3-и (B) и 7-е (C, D) сутки после ООСА: вакуолизация астроцитов, фрагментация GFAP-позитивного материала цитоскелета (A), гипертрофия астроцита (B, C), высокая плотность астроцитов (D). Знаком * обозначены нейроны.

Иммуногистохимическое исследование GFAP. Объектив: $\times 100$; шкала — 20 мкм

Fig. 4. Astrocytes (shown by arrows) of layers III (A, B, C) and I of SMC of the brain on the 1st (A), 3rd (B) and 7th (C, D) days after CCAO: vacuolization of astrocytes, fragmentation of GFAP-positive material of the cytoskeleton (A), astrocyte hypertrophy (B, C), high density of astrocytes (D). The sign * indicates neurons. Immunohistochemistry of GFAP.

Lens: $\times 100$; scale — 20 μm

чалась гипертрофия отростков астроцитов (рис. 4, B, C, D). Однако необходимо акцентировать внимание на том, что на 1-е сутки после ООСА в отростках астроцитов выявлено большое количество мелких вакуолей и разрушение части цитоскелета астроцитов (рис. 4, A). Гипертрофические гиперпластические проявления реактивного астроглиоза отмечались позже — на 3-и и 7-е сутки после ишемии. Появлялось большое количество фиброзных и плазматических астроцитов с мощными первичными отростками, а также

of neuroinflammation and phagocytic activity of microglia [22].

A comparison of the dynamics of changes in the number of MG and OD in SMC showed that the peak of the increase in the density of these cells after CCAO was different: for MG — the 1st day, for OD — the 7th day (Fig. 5). This indicated that at first there was a wave of activation of microglial cells (“scavengers”), as a result, in the acute post-ischemic period, detection of degenerating neurons and sanitation of nerve tissue occurred, providing phagocytosis of all

зоны высокой плотности астроцитов (рис. 4, В, С, D). На 7-е сутки после ООСА отмечено увеличение количества фиброзных астроцитов в субпинальной зоне под наружной пограничной глиальной мембраной мозга.

Ранее нами после 20-минутной ООСА выявлена количественная гетерогенность и гетерохронность изменений пространственной организации проксимальных и дистальных ветвей астроцитарных отростков. Более лабильными и реактивными были мелкие отростки астроцитов, расположенные по периферии их доменов [21]. В наших исследованиях мелкоочаговое увеличение количества реактивных фиброзных астроцитов не позволяло говорить о патологическом астроглиозе после необратимого разрушения нейронов, свойственного для ишемического и геморрагического инсульта. Подобные изменения астроцитов скорее свидетельствовали об активации их естественных защитных функций, направленных на восстановление и утилизацию поврежденных нейронов.

В мозге контрольных животных преобладали мелкие — 21.2 мкм² (30.8–42.6 мкм²) — неактивные микроглиоциты с длинными отростками. После ООСА появлялись крупные амебоидные МГЦ — 42.6 мкм² (31.3–51.0 мкм²) ($p = 0.0001$). Вероятно, это свидетельствовало об активации нейровоспаления и фагоцитарной активности МГЦ [22].

Сравнение динамики изменения количества МГЦ и ОДЦ в СМК показало, что пик увеличения плотности этих клеток после ООСА отличался: для МГЦ — 1-е сутки, для ОДЦ — 7-е сутки (рис. 5). Это свидетельствовало о том, что сначала проходила волна активации микроглиальных клеток («мусорщиков»), в результате в остром постишемическом периоде осуществлялась детекция дегенерирующих нейронов и санация нервной ткани, обеспечивающая фагоцитоз всех необратимо измененных клеток и молекул. Это приводило к удалению части поврежденных нейронов (см. рис. 5). Через 7 сут в слое III дефицит нейронов составил 26.4 % ($p = 0.001$) и 18.5 % ($p = 0.01$) в слое V. Далее на этом фоне, вероятно, включались механизмы нейропластичности, для обеспечения которых активировались ОДЦ, обладающие высоким нейротрофическим потенциалом. Таким образом, необратимому разрушению подвергалась только часть темных нейронов, адаптивный потенциал которых, вероятно, был исчерпан в постишемическом периоде.

Проведенное исследование показало, что неполная острая ишемия (40-минутная ООСА) приводит к диффузно-очаговым изменениям нервной ткани головного мозга (проявления отека-

irreversibly altered cells and molecules. This led to the removal of some of the damaged neurons (see Fig. 5). After 7 days, the neuronal deficit in layer III was 26.4% ($p = 0.001$) and 18.5 % ($p = 0.01$) in layer V. Further, against this background, neuroplasticity mechanisms were probably included, for which oligodendrocytes with high neurotrophic potential were activated. Thus, only a part of dark neurons, whose adaptive potential was probably exhausted in the post-ischemic period, underwent irreversible destruction.

The study showed that subtotal acute ischemia (40-minute CCAO) leads to diffuse-focal changes in the nervous tissue of the brain (manifestations of edema-swelling, hyperchromic tinctorial changes, reactive astrogliosis, an increase in the number of microgliaocytes), which are primarily advisable to consider in the context of activation of the mechanisms of natural defense of neurons. It is known that the formation of dark neurons in response to energy deficiency, an increase in the number of hydrogen ions (H^+) and free calcium (Ca^{++}) can be associated with conformational changes in cytomatrix proteins. As a result, a large amount of unbound water is formed, which is squeezed out into the processes of astrocytes [3, 9, 10]. We believe that with this flow, ischemic toxins and ions dissolved in water are removed from dark neurons. The logical chain of events related to the dark neuron is viewed: 1) dehydration-detoxification; 2) preservation of the neuron state without destroying its cytomatrix; 3) restorative hydration; 4) normal functioning. At all stages of this chain, the key role is played by neuroglial cells that regulate the water flow (astrocytes), control the degree of damage and disposal of neurons (MG), provide it with trophic factors (astrocytes, OD, MG) for the implementation of neuroplasticity mechanisms.

Thus, after a 40-minute CCAO with the participation of neurons, OD, different phenotypes of astrocytes and microgliaocytes, complex cellular systems are formed, which we consider in the aspect of cell-cell phagocytic and trophic relationships, taking into account the spatiotemporal features of the main process (damage, recovery). In this direction, it is promising to study the activation and functioning of different phenotypes and morphotypes of glial cells. According to the literature data, MG migrate and absorb soma and apical dendrites after activation, astrocytes phagocytise numerous small dendritic apoptotic bodies, OD provide subsequent restoration of axons. All together, they enhance the synthesis of neurotrophic factors and regulate the reparative reorganization of the nervous tissue as a whole [16, 20, 23]. The phenomenon of structural and functional

набухания, гиперхромных тинкториальных изменений, реактивный астроглиоз, увеличение количества микроглиоцитов), которые прежде всего целесообразно рассматривать в контексте активации механизмов естественной защиты нейронов. Известно, что формирование темных нейронов в ответ на энергетический дефицит, увеличение количества ионов водорода (H^+) и свободного кальция (Ca^{++}) может быть связано с конформационными изменениями белков цитоматрикса. В результате образуется большое количество несвязанной воды, которая выдавливается в отростки астроцитов [3, 9, 10]. Мы полагаем, что с этим потоком из темных нейронов удаляются растворенные в воде ишемические токсины и ионы. Просматривается логическая цепочка событий, связанных с темным нейроном: 1) дегидратация-детоксикация; 2) консервирование состояния нейрона без разрушения его цитоматрикса; 3) восстановительная гидратация; 4) нормальное функционирование. На всех этапах этой цепочки ключевую роль играют нейроглиальные клетки, которые регулируют водный поток (астроциты), контролируют степень повреждения и утилизации нейронов (МГЦ), обеспечивают его трофическими факторами (астроциты, ОДЦ, МГЦ) для реализации механизмов нейропластичности.

Таким образом, после 40-минутной ООСА с участием нейронов, ОДЦ, разных фенотипов астроцитов и МГЦ образуются сложные клеточные системы, которые мы рассматриваем в аспекте клеточно-клеточных фагоцитарных и трофических взаимоотношений с учетом пространственно-временных особенностей основного процесса (повреждение, восстановление). В этом направлении перспективным является изучение активации и функционирования разных фенотипов глиальных клеток. Согласно литературным данным МГЦ после активации мигрируют и поглощают сому и апикальные дендриты, астроциты фагоцитируют многочисленные мелкие дендритные апоптотические тела, ОДЦ обеспечивают последующее восстановление аксонов. Все вместе — усиливают синтез нейротрофических факторов и регулируют репаративную реор-

heterogeneity of neuroglial cells is an important direction in the development of neurobiology, neuro-morphology and neuropharmacology. Obtaining new data will allow us to get closer to understanding some mechanisms of neuroplasticity, neuroinflammation and find new ways to correct them.

CONCLUSION

After a 40-minute CCAO, the content of dark neurons in SMC increased and, as a result, signs of hydropic generation appeared. Against this background, the number of satellite OD, astrocytes and MG increased. Probably, edema-swelling, active MG and astrocytes previously (on the 1st–3rd day) sanitize the nerve tissue, ensuring its subsequent (on the 7th day) structural and functional recovery with the participation of OD.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

ганизацию нервной ткани в целом [16, 20, 23]. Феномен структурно-функциональной гетерогенности нейроглиальных клеток является важным направлением развития нейробиологии, нейроморфологии и нейрофармакологии. Получение новых данных позволит приблизиться к пониманию некоторых механизмов нейропластичности, нейровоспаления и найти новые пути их коррекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После 40-минутной ООСА в СМК увеличивалось содержание темных нейронов и, как следствие, появлялись признаки гидропической дистрофии. На этом фоне возрастало количество сателлитарных ОДЦ, астроцитов и МГЦ. Вероятно, отек-набухание, активные МГЦ и астроциты предварительно (в 1-е – 3-и сутки) санируют нервную ткань, обеспечивая ее последующее (7-е сутки) структурно-функциональное восстановление с участием ОДЦ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rami A. Review: autophagy in neurodegeneration: firefighter and/or incendiary? // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2009. Vol. 35 (5). P. 449–461.
2. Zille M., Farr T.D., Przesdzin I. et al. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives // *J. Cereb. Blood Flow Metabol.* 2012. Vol. 32 (2). P. 213–231.

REFERENCES

1. Rami A. (2009). Review: autophagy in neurodegeneration: firefighter and/or incendiary? *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 35 (5), 449–461.
2. Zille M., Farr T.D., Przesdzin I. et al. (2012). Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.*, 32 (2), 213–231.

3. Harris T.C., de Rooij R., Kuhl E. The shrinking brain: cerebral atrophy following traumatic brain injury // *Ann. Biomed. Eng.* 2019. Vol. 47 (9). P. 1941–1959.
4. Cole J.H., Jolly A., de Simoni S. et al. Spatial patterns of progressive brain volume loss after moderate-severe traumatic brain injury // *Brain*. 2018. Vol. 141 (3). P. 822–836.
5. Степанов С.С., Акулинин В.А., Авдеев Д.Б., Степанов А.С., Горбунова А.В. Структурно-функциональная реорганизация ядрышкового аппарата нейронов неокортекса, архикортекса и базальных ганглиев головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // *Журн. анатомии и гистопатологии*. 2018. Т. 7, № 4. С. 67–74.
6. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфологические нарушения нейронов гиппокампа крыс с субтотальной и тотальной ишемией // *Оренбургский мед. вестн.* 2020. Т. 8, № 2 (30). С. 41–46.
7. Ahmadvpour S., Behrad A., Fernández-Vega I. Dark neurons: A protective mechanism or a mode of death // *J. Med. Histolog.* 2019. Vol. 3 (2). P. 125–131.
8. Bolon B., Garman R., Jensen K. et al. A “best practices” approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing // *Toxicol. Pathol.* 2006. Vol. 34 (3). P. 296–313.
9. Gallyas F., Pál J., Bukovics P. Supravital microwave experiments support that the formation of “dark” neurons is propelled by phase transition in an intracellular gel system // *Brain Res.* 2009. Vol. 1270. P. 152–156.
10. Kövesdi E., Pál J., Gallyas F. The fate of “dark” neurons produced by transient focal cerebral ischemia in a non-necrotic and non-excitotoxic environment: Neurobiological aspects // *Brain Res.* 2007. Vol. 1147. P. 272–283.
11. Garman R.H. Histology of the central nervous system // *Toxicol. Pathol.* 2011. Vol. 39. P. 22–35.
12. Lychko V.S., Malakhov V.A., Potapov A.A. Morphological changes of the brain tissue in rats with experimental model of ischemic stroke in the dynamics of treatment by immunobiological preparation Cryocell-Cryocord // *СТМ*. 2015. Vol. 7 (4). P. 58–62.
13. Яковлев А.А., Гуляева Н.В. Прекодиционирование клеток мозга к патологическим воздействиям: вовлеченность протеаз (обзор) // *Биохимия*. 2015. Т. 80, № 2. С. 204–213.
14. Степанов А.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., Авдеев Д.Б. Клеточные системы восстановления и утилизации поврежденных нейронов головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2017. Т. 103, № 10. С. 1135–1147.
15. Степанов А.С., Акулинин В.А., Мыщик А.В., Степанов С.С., Авдеев Д.Б. Нейро-глио-сосудистые комплексы головного мозга после острой ишемии // *Общая реаниматология*. 2017. Т. 13, № 6. С. 6–17.
16. Chen Z., Trapp B.D. Microglia and neuroprotection // *J. Neurochem.* 2016. Vol. 136 (1). P. 10–17.
17. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.
18. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S. et al. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate // *Acta Neuropathol.* 2006. Vol. 112. P. 471–481.
3. Harris T.C., de Rooij R., Kuhl E. (2019). The shrinking brain: cerebral atrophy following traumatic brain injury. *Ann. Biomed. Eng.*, 47 (9), 1941–1959.
4. Cole J.H., Jolly A., de Simoni S. et al. (2018). Spatial patterns of progressive brain volume loss after moderate-severe traumatic brain injury. *Brain*, 141 (3), 822–836.
5. Stepanov S.S., Akulinin V.A., Avdeev D.B., Stepanov A.S., Gorbunova A.V. (2018). Reorganization of the nucleolar apparatus of neurons of the neocortex, archicortex and basal ganglia of the brain of white rats after a 20-minute occlusion of the common carotid arteries. *Journal of Anatomy and Hystopathology*, 7 (4), 67–74. In Russ.
6. Bon E.I., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M. (2020). Morphological disorders in the neurons of the rats hippocampus with subtotal and total ischemia. *Orenburg Medical Bulletin*, 8, 2 (30), 41–46.
7. Ahmadvpour S., Behrad A., Fernández-Vega I. (2019). Dark neurons: A protective mechanism or a mode of death. *J. Med. Histolog.*, 3 (2), 125–131.
8. Bolon B., Garman R., Jensen K. et al. (2006). A “best practices” approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing. *Toxicol. Pathol.*, 34 (3), 296–313.
9. Gallyas F., Pál J., Bukovics P. (2009). Supravital microwave experiments support that the formation of “dark” neurons is propelled by phase transition in an intracellular gel system. *Brain Res.*, 1270, 152–156.
10. Kövesdi E., Pál J., Gallyas F. (2007). The fate of “dark” neurons produced by transient focal cerebral ischemia in a non-necrotic and non-excitotoxic environment: Neurobiological aspects. *Brain Res.*, 1147, 272–283.
11. Garman R.H. (2011). Histology of the central nervous system. *Toxicol. Pathol.*, 39, 22–35.
12. Lychko V.S., Malakhov V.A., Potapov A.A. (2015). Morphological changes of the brain tissue in rats with experimental model of ischemic stroke in the dynamics of treatment by immunobiological preparation Cryocell-Cryocord. *CTM*, 7 (4), 58–62.
13. Yakovlev A.A., Gulyaeva N.V. (2015). Possible role of proteases in preconditioning of brain cells to pathological conditions. *Biokhimiya*, 80, 2, 204–213.
14. Stepanov A.S., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Avdeev D.B. (2017). Cellular systems for the recovery and recycling of damaged brain neurons in white rats after a 20-minute occlusion of common carotid arteries. *Russ. Journal of Physiology*, 103 (10), 1135–1147.
15. Stepanov A.S., Akulinin V.A., Mysik A.V., Stepanov S.S., Avdeev D.B. (2017). Neuro-glio-vascular complexes of the brain after acute ischemia. *General Reanimatology*, 13, 6, 6–17. In Russ.
16. Chen Z., Trapp B.D. (2016). Microglia and neuroprotection. *J. Neurochem.*, 136 (1), 10–17.
17. Paxinos G., Watson C. (2005). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press.
18. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S. et al. (2006). The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. *Acta Neuropathol.*, 112, 471–481.

19. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер, 2003.
20. Eyo U.B., Dailey M.E. Microglia: key elements in neural development, plasticity, and pathology // *J. Neuroimmune Pharm.* 2013. Vol. 8. P. 494–509.
21. Степанов С.С., Акулинин В.А., Авдеев Д.Б., Степанов А.С., Горбунова А.В. Реорганизация астроцитов неокортекса белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2019. Т. 105, № 5. С. 578–590.
22. Алексеева О.С., Кирик О.В., Гилерович Е.Г., Коржевский Д.Э. Микроглия головного мозга: происхождение, структура и функции // *Журн. эволюционной биохимии и физиологии.* 2019. Т. 55, № 4. С. 231–241.
23. Wagner D.-C., Scheibe J., Glocke I. et al. Object-based analysis of astroglial reaction and astrocyte subtype morphology after ischemic brain injury // *Acta Neurobiol. Exper.* 2013. Vol. 73 (1). P. 79–87.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Горбунова Анна Владимировна — заочный аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Степанов Сергей Степанович — д-р мед. наук, лаборант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Акулинин Виктор Александрович — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России; профессор кафедры зоотехнии ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина».

Авдеев Дмитрий Борисович — канд. ветеринарных наук, докторант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Шоронова Анастасия Юрьевна — заочный аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Макарьева Любовь Михайловна — очный аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Конеv Владимир Павлович — заслуженный работник высшей школы РФ, д-р мед. наук, профессор кафедры судебной медицины, правоведения ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Образец цитирования: Горбунова А.В., Степанов С.С., Акулинин В.А., Авдеев Д.Б., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Конев В.П. Гидропическая дистрофия сенсомоторной коры белых крыс в контексте формирования темных нейронов и изменения нейроглиальных взаимоотношений после краткосрочной окклюзии общих сонных артерий // *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2021. № 3. С. 66–81.

19. Borovikov V. (2003). *Statistica. The Art of Data Analysis Using Computer: for Professionals.* Saint Petersburg. In Russ.
20. Eyo U.B., Dailey M.E. (2013). Microglia: key elements in neural development, plasticity, and pathology. *J. Neuroimmune Pharm.* 8, 494–509.
21. Stepanov S.S., Akulinin V.A., Avdeev D.B., Stepanov A.S., Gorbunova A.V. (2019). Reorganization of the rat neocortical astrocytes after 20-min occlusion of the common carotid arteries. *Russ. Journal of Physiology,* 105, 5, 578–590.
22. Alekseeva O.S., Kirik O.V., Gilerovich E.G., Korzhevskii D.E. (2019). Microglia of the brain: origin, structure and functions. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology,* 55, 4, 231–241.
23. Wagner D.-C., Scheibe J., Glocke I. et al. (2013). Object-based analysis of astroglial reaction and astrocyte subtype morphology after ischemic brain injury. *Acta Neurobiol. Exper.,* 73 (1), 79–87.

ABOUT THE AUTHORS

Gorbunova Anna Vladimirovna — Part-time Postgraduate Student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Omsk State Medical University.

Stepanov Sergey Stepanovich — Dr. Sci. (Med.), Assistant, Department of Histology, Cytology and Embryology, Omsk State Medical University.

Akulinin Viktor Aleksandrovich — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Histology, Cytology and Embryology, Omsk State Medical University; Professor, Department of Zooculture, Omsk State Agrarian University n.a. P.A. Stolypin.

Avdeev Dmitry Borisovich — Cand. Sci. (Vet.), Doctoral Student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Omsk State Medical University.

Shoronova Anastasia Yurievna — Part-time Postgraduate Student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Omsk State Medical University.

Makaryeva Lyubov Mikhailovna — Full-time Postgraduate Student, Omsk State Medical University.

Konev Vladimir Pavlovich — Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Forensic Medicine, Jurisprudence, Omsk State Medical University.

Citation example: Gorbunova A.V., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Avdeev D.B., Shoronova A.Yu., Makaryeva L.M., Konev V.P. (2021). Hydropic degeneration of the sensorimotor cortex of white rats in the context of the formation of dark neurons and changes in neuroglial relationships following short-term common carotid arteries occlusion. *Journal of Siberian Medical Sciences,* 3, 66–81.

Молекулярные подтипы уротелиальных карцином мочевого пузыря у пациентов молодого возраста

Мещеряков И.А.¹, Крюков К.А.¹, Митин Н.П.¹, Пономарёва Е.В.², Шелехова К.В.^{1,3}

¹ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»

²ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» (Санкт-Петербург)

³ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт»

Molecular subtypes of urothelial carcinomas of the bladder in young patients

Meshcheryakov I.A.¹, Kryukov K.A.¹, Mitin N.P.¹, Ponomareva E.V.², Shelekhova K.V.^{1,3}

¹St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic)

²City Clinical Oncological Health Center (St. Petersburg)

³St. Petersburg Medico-Social Institute

АННОТАЦИЯ

Уротелиальные карциномы у молодых пациентов характеризуются специфическими клинико-морфологическими и генетическими особенностями в отличие от их аналогов у пожилых пациентов. Проведено молекулярное профилирование опухолей 56 пациентов моложе 45 лет с использованием метода шведских исследователей из университета Lund, впервые адаптирована молекулярная классификация группы исследователей Lund с применением иммунофенотипирования к когорте молодых пациентов и продемонстрирована четкая воспроизводимость молекулярных подтипов уротелиальных карцином, встречающихся в пожилой группе пациентов.

Выявлено, что у молодых пациентов достоверно преобладает уротелиоподобный А подтип рака мочевого пузыря (78 %, $p = 0.005$), который ассоциируется с ранней патологической стадией, благоприятным прогнозом и наилучшей выживаемостью. Внутри уротелиоподобного подтипа выделен специфический вариант опухоли (так называемый СК5/6+/p16+) (7 %), отличающийся по иммунофенотипическим и клиническим признакам, имеющий тенденцию к более агрессивному биологическому поведению и, вероятно, отражающий другой путь прогрессии части уротелиальных карцином в отличие от пожилых пациентов. Частота неблагоприятных подтипов (уротелиоподобный В, геномно-нестабильный, базальный/плоскоклеточно-подобный, мезенхимально-подобный) в молодой группе составила не более 6 %; отмечено их появление у пациентов старше 30 лет с зависимостью, пропорциональной возрасту.

Выполненное молекулярное профилирование рака мочевого пузыря у молодых пациентов показало диагностическую значимость, возможность прогностической стратификационной оценки и, следовательно, практическую целесообразность.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, молекулярные подтипы, иммуногистохимия, молодые пациенты.

ABSTRACT

Urothelial carcinomas in young patients are characterized by specific clinical and morphological and genetic features in contrast to their counterparts in elderly patients. Molecular profiling of tumors in 56 patients under 45 years has been performed using the method of Swedish researchers from the Lund University, the molecular classification of the Lund

Поступила 14.03.2021
Принята 18.04.2021

Автор, ответственный за переписку
Мещеряков Игорь Александрович: ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)». 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А, лит. А.
E-mail: psychoangel23@mail.ru

Received 14.03.2021
Accepted 18.04.2021

Corresponding author
Meshcheryakov Igor Aleksandrovich: St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic), 68A, A, Pesochny, Leningradskaya str., St. Petersburg, 197758, Russia.
E-mail: psychoangel23@mail.ru

group of researchers using immunophenotyping has been adapted to the cohort of young patients for the first time and clear reproducibility of urothelial carcinoma molecular subtypes occurring in the elderly group of patients has been demonstrated.

The urothelial-like A subtype of bladder cancer (78%, $p = 0.005$), which is associated with an early pathological stage, a favorable prognosis, and the best survival rate, was found to significantly predominate in young patients. Within the urothelial-like subtype, a specific tumor variant (so-called CK5/6+/p16+) (7%) was identified, differing in immunophenotypic and clinical features, tending to a more aggressive biological behavior and probably reflecting a different progression pathway of some urothelial carcinomas in contrast to the elderly patients. The frequency of adverse subtypes (urothelial-like B, genomically unstable, basal/squamous cell-like, mesenchymal-like) in the young group was not more than 6%; their occurrence in patients over 30 years of age with an age-proportional dependence was noted.

The performed molecular profiling of bladder cancer in young patients showed its diagnostic significance, possibility of prognostic stratification and, therefore, reasonable practicality.

Keywords: bladder cancer, molecular subtypes, immunohistochemistry, young patients.

ВВЕДЕНИЕ

Уротелиальные карциномы мочевого пузыря (УКМП) — это гетерогенное заболевание, в основе которого лежат различные молекулярные пути канцерогенеза, что позволяет дифференцировать молекулярные подтипы этих опухолей со специфическими клинико-морфологическими и прогностическими характеристиками [1–5]. Несмотря на то, что возрастная гипотеза и клиническое поведение рака мочевого пузыря все еще обсуждается, опухоли у молодых пациентов имеют генетические особенности по сравнению с их аналогами у пожилых пациентов, что отражается в их биологическом поведении. По данным некоторых авторов опухоли у молодых пациентов характеризуются низкой частотой мутаций генов *FGFR3*, *TP53*, достаточной геномной стабильностью, пациенты с УКМП имеют благоприятный прогноз выживаемости, низкую частоту рецидивов, эти опухоли чаще всего поверхностные и низкой степени злокачественности [6–8]. Другие авторы сообщают, что поверхностные карциномы у молодых пациентов чаще рецидивируют [9].

В последнее десятилетие накоплена информация относительно молекулярного профилирования уротелиальных карцином и предложены различные классификационные системы, охватывающие в первую очередь мышечно-инвазивные опухоли [1–3, 10–14]. В мировой научной литературе существует 4 системы классификаций молекулярных подтипов рака мочевого пузыря [15]: TCGA — Атлас генома рака, Lund — Университета Лунда, UNC — Университета Северной Каролины и MD Anderson — Ракового центра Андерсона (рис. 1) [2, 3, 10, 11, 16]. Ученые пришли к соглашению о существовании 2 основных молекулярных категорий карцином: базальной и люминальной, в зависимости от преобладающей экспрессии дифференцировочных ге-

INTRODUCTION

Urothelial carcinomas of the bladder (UCB) are a heterogeneous disease based on different molecular pathways of carcinogenesis, which allows differentiating molecular subtypes of these tumors with specific clinical and morphological and prognostic characteristics [1–5]. Although the age hypothesis and clinical behavior of bladder cancer is still under debate, tumors in young patients have genetic features compared to their counterparts in older patients, which are reflected in their biological behavior. According to some authors, tumors in young patients are characterized by low frequency of *FGFR3*, *TR53* genes mutations, sufficient genomically stable, patients with UCB have a favorable survival rate, low recurrence rate, these tumors are often superficial and low degree of malignancy [6–8]. Other authors report that superficial carcinomas recur more frequently in young patients [9].

In the last decade, information regarding molecular profiling of urothelial carcinomas has been accumulated and various classification systems have been proposed, covering primarily muscle-invasive tumors [1–3, 10–14]. In the world scientific literature, there are 4 systems of classification of molecular subtypes of bladder cancer [15]: TCGA — Cancer Genome Atlas, Lund — the Lund University, UNC — the University of North Carolina and MD Anderson — the Anderson Cancer Center (Fig. 1) [2, 3, 10, 11, 16]. Scientists have agreed on the existence of 2 main molecular categories of carcinomas: basal and luminal, depending on the predominant expression of differentiation genes. The MD Anderson system additionally distinguishes an intermediate “p53-like” subtype containing both basal and luminal features. In TCGA, a neuronal subtype is distinguished. A group of researchers from the Lund University have subclassified a group of luminal tumors based on differences in expression levels

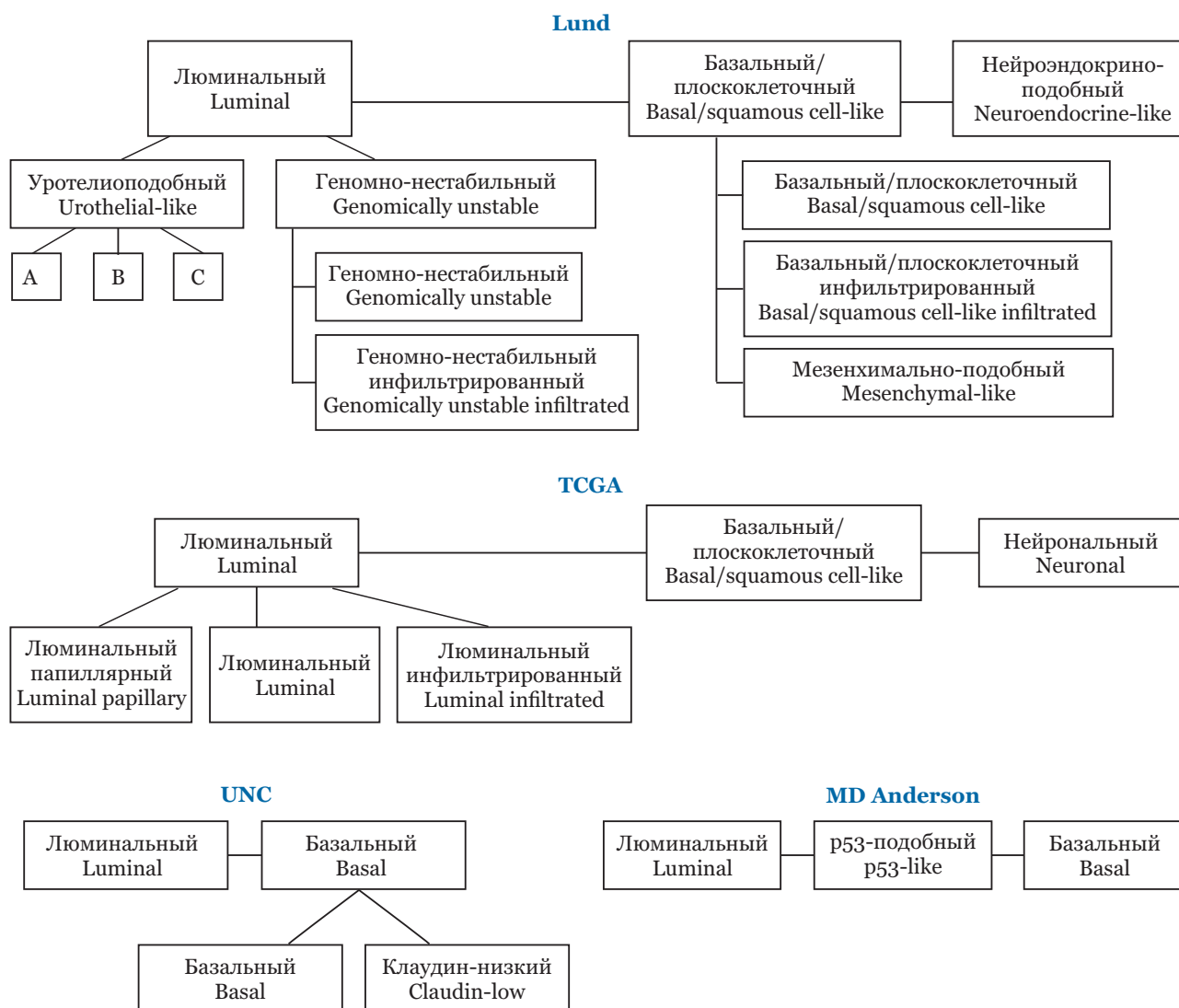


Рис. 1. Схема молекулярной таксономии рака мочевого пузыря (Lund — Lund Research group, Университет Лунда (Швеция); TCGA — Атлас генома рака; UNC — Университет Северной Каролины; MD Anderson — Раковый центр Андерсона [17])

Fig. 1. Diagram of molecular taxonomy of bladder cancer (Lund — the Lund Research group, the Lund University (Sweden); TCGA — the Cancer Genome Atlas; UNC — the University of North Carolina; MD Anderson — the Anderson Cancer Center [17])

нов. Система MD Anderson дополнительно выделяет промежуточный «p53-подобный» подтип, содержащий и базальные, и люминальные признаки. В TCGA выделяется нейрональный подтип. Группа исследователей из Университета Лунда субклассифицировала группу люминальных опухолей на основании различий уровней экспрессии генов, регулирующих клеточный цикл, на 2 подтипа: уротелиоподобный (Uro) и геномно-нестабильный. В более поздних работах они подразделили первый из них на УроА, УроАп (прогрессия УроА), УроВ, отличающий более выраженной базально-плоскоклеточной дифференцировкой, и УроС, имеющий некоторое сход-

of genes regulating the cell cycle into 2 subtypes: urothelial-like (Uro) and genomically unstable. In later works, they subdivided the former into UroA, UroAp (UroA progression), UroB, distinguished by more pronounced basal-squamous cell differentiation, and UroC, which has some similarity to the genomically unstable in gene expression. A group of Lund scientists also proposed a technique for subclassifying molecular subtypes of bladder cancer using immunohistochemical methods, showing sufficiently high concordance between mRNA expression and surrogate immunohistochemical markers to determine major subtypes. It should be noted that this classification has been worked out on a co-

ство с геномно-нестабильным по экспрессии генов. Также группа ученых Лунда предложила методику субклассификации молекулярных подтипов рака мочевого пузыря с помощью иммуногистохимического метода, показав достаточно высокую конкордантность между экспрессией мРНК и суррогатными иммуногистохимическими маркерами для установления основных подтипов. Следует отметить, что данная классификация отрабатывалась на когорте пожилых пациентов. Среди базально-плоскоклеточной группы опухолей также выделены специфические молекулярные подтипы разными группами исследователей. Так, ученые Университета Северной Каролины выделяют так называемый клаудин-низкий подтип на основании низкой экспрессии клаудинов, сравнительно высокой экспрессии иммунных маркеров и амплификации гена *EGFR*. Система Лунда выделяет среди базально-плоскоклеточного кластера базальные/плоскоклеточные инфильтрированные опухоли, отличающиеся значительной экспрессией иммунных маркеров. Также эта система отвела место для мезенхимально-подобного подтипа, характеризующегося высокой экспрессией маркеров эпителиально-мезенхимального перехода.

Урологический Консенсус 2019 г., суммировав данные анализа разных групп исследователей, принял шесть молекулярных подтипов среди мышечно-инвазивных уротелиальных карцином — люминальный папиллярный, люминальный неспецифичный, люминальный нестабильный, «с преобладанием стромы», базальный/плоскоклеточный и нейроэндокрино-подобный [15, 17]. Было отмечено, что данная классификация коррелирует с каждым молекулярным подтипом исходных классификационных систем. Опухоли люминального кластера, включающие три подтипа (люминальный папиллярный, люминальный неспецифичный и люминальный нестабильный), сверхэкспрессируют сигнатуры уротелиальной дифференцировки, что согласуется с таксономией уротелиоподобного подтипа Lund. Напротив, опухоли базального/плоскоклеточного и нейроэндокрино-подобного подтипов сверхэкспрессируют базальные и нейроэндокринные маркеры соответственно. Помимо дифференцировки уротелия, опухоли люминального кластера различаются по другим молекулярными признаками: опухоли люминального папиллярного подтипа, чаще неинвазивные, ассоциированы с транскрипционной активностью *FGFR3*; в люминальном неспецифицированном подтипе преобладает инфильтрация стромы, в основном фибробластами; люминаль-

hort of elderly patients. Among the basal/squamous cell group of tumors, specific molecular subtypes have also been identified by different groups of researchers. For example, scientists at the University of North Carolina distinguish the so-called claudin-low subtype on the basis of low claudin expression, relatively high expression of immune markers, and *EGFR* gene amplification. The Lund's system distinguishes basal and squamous cell infiltrated tumors, which are characterized by significant expression of immune markers, among the basal/squamous cell cluster. Furthermore, this system has reserved a place for the mesenchymal-like subtype characterized by high expression of epithelial-mesenchymal transition markers.

The 2019 Urology Consensus, summarizing data from analyses by different groups of researchers, adopted six molecular subtypes among muscle-invasive urothelial carcinomas — a luminal papillary one, a luminal nonspecified one, a luminal unstable one, a stroma-rich one, a basal/squamous-cell one, and a neuroendocrine-like one [15, 17]. It was noted that this classification correlated with each molecular subtype of the original classification systems. Luminal cluster tumors including three subtypes (luminal papillary, luminal nonspecified, and luminal unstable) overexpress urothelial differentiation signatures, which is consistent with the taxonomy of the urothelial-like Lund subtype. In contrast, tumors of the basal/squamous cell and neuroendocrine-like subtypes overexpress basal and neuroendocrine markers respectively. In addition to urothelial differentiation, luminal cluster tumors differ in other molecular features: luminal papillary subtype tumors, more often noninvasive, are associated with *FGFR3* transcriptional activity; the luminal nonspecified subtype is dominated by stromal infiltration, mainly by fibroblasts; the luminal unstable subtype is characterized by increased expression of cell cycle genes. Stroma-rich tumors demonstrate an intermediate level of urothelial differentiation and mainly overexpression of smooth muscle, endothelial, and myofibroblastic markers.

Now, despite the obvious informativeness for oncology, the implementation of molecular classifications into routine use has been being hampered due to the complexity and high cost of the mRNA expression evaluation. Nevertheless, several researchers have attempted to adapt surrogate immunohistochemical markers for molecular profiling of bladder cancer.

ный нестабильный подтип характеризуется повышенной экспрессией генов клеточного цикла. Опухоли с преобладанием стромы (stroma-rich) демонстрируют промежуточный уровень уротелиальной дифференцировки и, в основном, сверхэкспрессию гладкомышечных, эндотелиальных и миофибробластических маркеров.

В настоящее время, несмотря на очевидную информативность для онкологии, внедрение молекулярных классификаций в рутинную практику тормозится из-за сложности и дороговизны методики оценки экспрессии мРНК. Тем не менее рядом исследователей предприняты попытки адаптации суррогатных иммуногистохимических маркеров для молекулярного профилирования рака мочевого пузыря.

Принимая во внимание результаты проведенных исследований пожилых пациентов и возрастную гипотезу рака мочевого пузыря, в нашем исследовании мы применили метод молекулярного профилирования Lund рака мочевого пузыря с использованием суррогатных иммуногистохимических маркеров и предприняли попытку адаптировать его к молодой группе пациентов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-морфологическое обоснование молекулярного профилирования рака мочевого пузыря у молодых пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общая характеристика пациентов и клинико-морфологические данные. Проведено ретроспективное (2010–2019 гг.) исследование операционного материала, полученного при трансуретральной резекции и радикальной цистэктомии у 56 пациентов моложе 45 лет с уротелиальными карциномами мочевого пузыря из трех профильных лечебных учреждений (Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), городской онкологический диспансер г. Санкт-Петербурга, городской онкологический диспансер г. Иваново) (табл. 1).

Исследуемую группу было решено разделить на три возрастные подгруппы для статистического анализа: подгруппа 20–29 лет (среднее значение 27.1 года) включала 10 пациентов (18 %); подгруппа 30–39 лет (среднее значение 34.6 года) включала 30 пациентов (53 %); подгруппа 40–44 года (среднее значение 42.0 года) включала 16 пациентов (29 %). Среднее возрастное значение в исследуемой группе 35.5 года. Соотношение мужчин и женщин 3 : 1. В каждом опухолевом об-

Taking into account the results of the conducted studies of elderly patients and the age hypothesis of bladder cancer, in our study we applied the Lund method of molecular profiling of bladder cancer using surrogate immunohistochemical markers and made an attempt to adapt it to a young group of patients.

AIM OF THE RESEARCH

A clinical and morphological rationale for molecular profiling of bladder cancer in young patients.

MATERIALS AND METHODS

General characteristics of patients and clinical and morphological data. A retrospective (2010–2019) study of the operative material obtained during transurethral resection and radical cystectomy in 56 patients under 45 years of age with urothelial carcinomas of the bladder from three specialized medical institutions (the St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center for Specialized Types of Medical Care (Oncologic), the City Clinical Oncological Health Center (St. Petersburg), the City Oncological Health Center (Ivanovo)) has been performed (Table 1).

It has been decided to divide the study group into three age subgroups for statistical analysis: the 20–29 years subgroup (average value 27.1 years) included 10 patients (18%); the 30–39 years subgroup (average value 34.6 years) included 30 patients (53%); the 40–44 years subgroup (average value 42.0 years) has included 16 patients (29%). The average age in the study group was 35.5 years. Male to female ratio is 3 : 1. The following morphological features have been assessed in each tumor specimen: histological pattern, invasion pattern, degree of malignancy, *in situ* component, and pathological stage. The distribution of patients according to tumor stage and degree of malignancy is shown in Fig. 2. Most of the cases of low-grade non-muscle invasive carcinomas had urothelial morphology, and in the 20–29 years old subgroup, all tumors had this morphology and were non-muscle invasive. Invasive tumors were detected in subgroups of age 30–39 years (7 cases) and 40–44 years (7 cases); in these subgroups, tumors showed different histological differentiation (urothelial with squamous cell differentiation, with signet ring cells, glandular structures, and low-differentiated and undifferentiated types, including rhabdoid, chondroid differentiation). A catamnesis was available in 49 patients and has included a period of 5 to 84 months, a median of 36 months (average value 37.6 ± 2.9 months). In the 20–29 years subgroup, local relapse occurred in 1 case (2%) 24 months after

Таблица 1. Характеристика пациентов и клинико-морфологические данные опухолей
Table 1. Characteristics of patients and clinical and morphological data of tumors

Возрастные подгруппы (среднее значение) Age subgroups (average value)	Кол-во случаев (%) Number of cases (%)	Пол: мужской/женский (%) Gender: male/female (%)	pT стадия – кол-во (%) pT stage – quantity (%)	Степень злокачественности (Grade) – кол-во (%) Grade – quantity (%)	Гистологический паттерн опухоли – кол-во (%) Tumor histological pattern – quantity (%)	Наличие <i>in situ</i> компонента <i>In situ</i> component	Рецидив Relapse	Мета-стазы Meta-stases
20–29 лет (27.1 года) Age 20–29 (27.1 years old)	10 (18)	7/3 (13/5)	pTa – 8 (15) pT1 – 2 (4)	Low – 7 (13) High – 3 (5)	Уротелиальный – 9 (16) Urothelial – 9 (16) Уротелиальный со сквамозной дифференцировкой – 1 (2) Urothelial with squamous cell differentiation – 1 (2)	Нет – 6 No – 6 Неизвестно – 4 Unknown – 4	1/10	0/10
30–39 лет (34.6 года) Age 30–39 (34.6 years old)	30 (53)	21/9 (36/16)	pTa – 23 (40) pT1 – 6 (11) pT2 – 1 (2)	Low – 21 (38) High – 9 (15)	Уротелиальный – 26 (45) Urothelial – 26 (45) Уротелиальный со сквамозной дифференцировкой – 2 (4) Urothelial with squamous cell differentiation – 2 (4) Уротелиальный с перстевидными клетками – 1 (2) Urothelial with signet ring cells – 1 (2) Неуротелиальный – 1 (2) Non-urothelial – 1 (2)	Нет – 16 No – 16 Да – 1 Yes – 1 Неизвестно – 13 Unknown – 13	5/30	1/30
40–44 года (42.0 года) Age 40–44 (42.0 years old)	16 (29)	14/2 (25/4)	pTa – 9 (16) pT1 – 3 (5) pT2 – 2 (4) pT3 – 1 (2) pT4 – 1 (2)	Low – 6 (11) High – 9 (16) Mixed – 1 (2)	Уротелиальный – 9 (16) Urothelial – 9 (16) Уротелиальный со сквамозной дифференцировкой – 3 (5) Urothelial with squamous cell differentiation – 3 (5) Неуротелиальный (в том числе гетерогенный) – 4 (7) Non-urothelial (including heterogeneous) – 4 (7)	Нет – 4 No – 4 Yes – 1 Да – 1 Неизвестно – 11 Unknown – 11	5/16	2/16
Всего (средний возраст – 35.5 года) Total (average age – 35.5 years old)	56 (100)	42/14 (75/25)	pTa – 40 (70) pT1 – 11 (20) pT2 – 3 (6) pT3 – 1 (2) pT4 – 1 (2)	Low – 34 (62) High – 21 (36) Mixed – 1 (2)	Уротелиальный – 44 (78) Urothelial – 44 (78) Уротелиальный со сквамозной дифференцировкой – 6 (11) Urothelial with squamous cell differentiation – 6 (11) Уротелиальный с перстевидными клетками – 1 (2) Urothelial with signet ring cells – 1 (2) Неуротелиальный – 5 (9) Non-urothelial – 5 (9)	Нет – 26 No – 26 Да – 2 Yes – 2 Неизвестно – 28 Unknown – 28	11/56	3/56

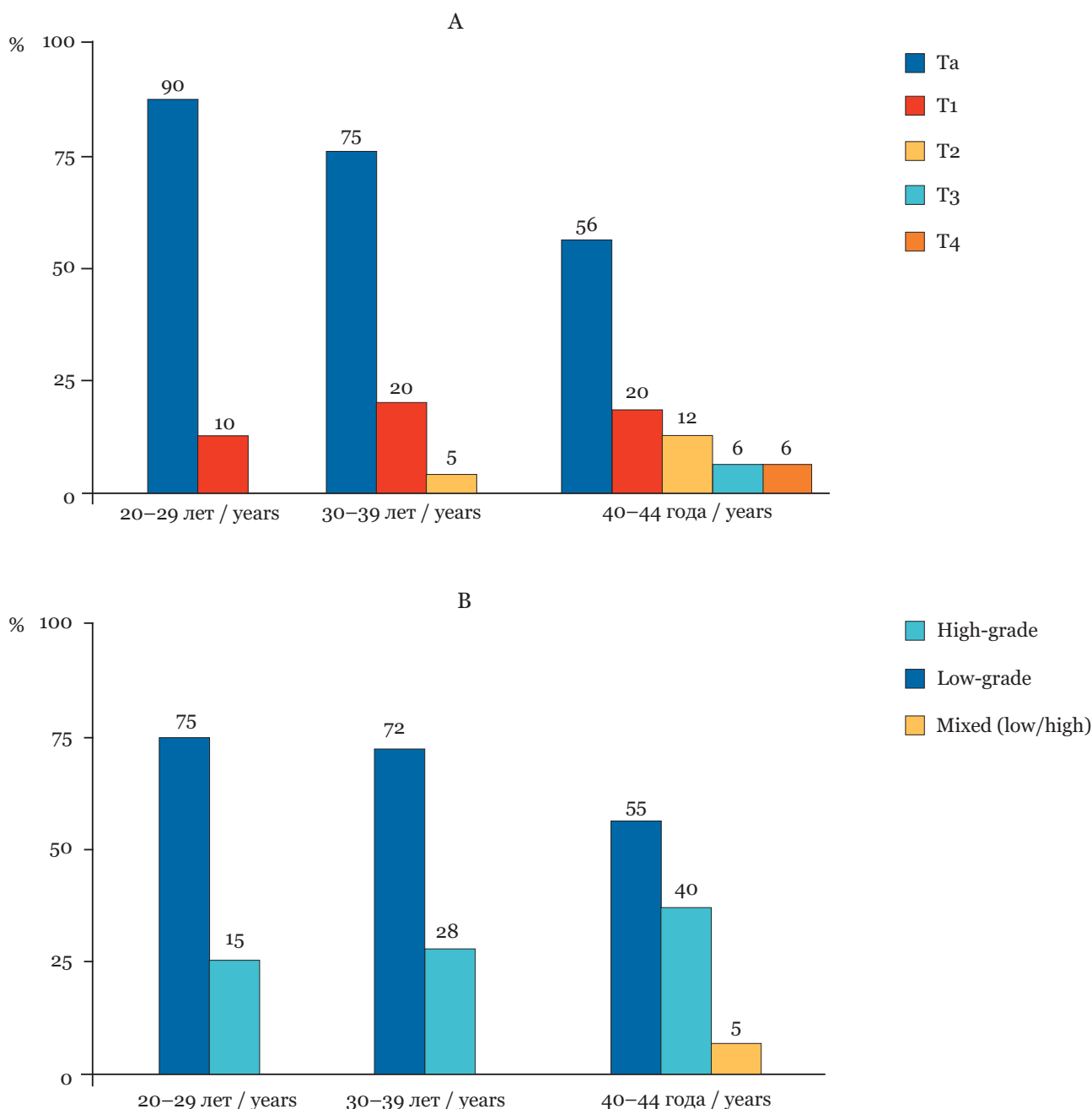


Рис. 2. Распределение опухолей по стадии (А) и степени злокачественности (В)
Fig. 2. Distribution of tumors by stage (A) and degree of malignancy (B)

разце оценивались следующие морфологические признаки: гистологический паттерн, паттерн инвазии, степень злокачественности, наличие *in situ* компонента, патологическая стадия. Распределение пациентов по стадии опухоли и степени злокачественности приведено на рис. 2. Большинство случаев мышечно-неинвазивных карцином низкой степени злокачественности имели уротелиальную морфологию, причем в подгруппе 20–29 лет все опухоли имели такую морфологию и были мышечно-неинвазивными. Инвазивные

diagnosis without evidence of metastasis (follow-up period amounted 5 to 48 months, the average value was 25.2 ± 5.3 months, the median was 24 months). In the subgroup of age 30–39 years, 5 patients have had local relapse (follow-up period 8–49 months), one of them registered progression in the form of lung metastasis (follow-up period 5–49 months). In the 40–44 years subgroup, local relapses have occurred in 5 patients (follow-up period 5–60 months); two patients from this subgroup have been diagnosed with metastases (follow-up period 24–60

опухоли выявляли в подгруппах 30–39 лет (7 случаев) и 40–44 года (7 случаев); в этих подгруппах опухоли демонстрировали различную гистологическую дифференцировку (уротелиальную со сквамозной дифференцировкой, с перстневидными клетками, glandулярными структурами, а также низкодифференцированные и недифференцированные типы, включающие рабдоидную, хондроидную дифференцировку). Катамнез был доступен у 49 пациентов и включал период от 5 до 84 мес, медиана 36 мес (среднее значение 37.6 ± 2.9 мес). В подгруппе 20–29 лет местный рецидив имел место в 1 случае (2 %) через 24 мес после постановки диагноза без признаков метастазирования (период наблюдения 5–48 мес, среднее значение 25.2 ± 5.3 мес, медиана 24 мес). В подгруппе 30–39 лет у 5 пациентов случился местный рецидив (период наблюдения 8–49 мес), у одного из них зарегистрировано прогрессирование в виде метастаза в легком (период наблюдения 5–49 мес). В подгруппе 40–44 года местные рецидивы имели место у 5 пациентов (период наблюдения 5–60 мес); у двоих пациентов из этой подгруппы диагностированы метастазы (период наблюдения 24–60 мес, среднее значение 42 ± 18 мес, медиана 42 мес), у одного из них — с летальным исходом.

Все микропрепараты, окрашенные гематоксилином и эозином, были просмотрены и соответствующим образом оценены. Степень злокачественности и патологическая стадия определялись в соответствии с классификацией TNM 8-го пересмотра [18].

Иммунофенотипирование и дополнительные методы исследования. Иммуногистохимическое исследование проводилось на иммуноштейнере Ventana BenchMark XT по общепринятой методике на депарафинизированных срезах толщиной 3–5 мкм, расположенных на положительно заряженных стеклах, согласно протоколам фирм-производителей. Применена подтип-специфическая панель антител, рекомендованная исследователями Lund Bladder Cancer Research Group, которая включала 22 антитела: CCNB1 (Y106; 1 : 400, Abcam, Cambridge, England), CCND1 (SP4; 1 : 200, Cell Marque, Rocklin, CA), CDKN2A/p16 (E6H4; RTU, Ventana, Oro Valley, AZ), E2F3 (PG30; 1 : 200, Abcam), HER2/neu (4B5; RTU, Ventana), EPCAM (Moc-31; 1 : 150, Cell Marque), FGFR3 (B9; 1 : 125, Santa Cruz Biotechnology), FOXA1 (2F83; 1 : 200, Cell Marque), GATA3 (L50-823; 1 : 200, Cell Marque), KRT5/6 (D5/16B4; 1 : 200, Cell Marque), KRT14 (LL002; 1 : 150, Innovative Diagnostik-System), KRT20 (Ks20.8; 1 : 200, Cell Marque), RB1 (4H1; 1 : 800, Cell Signalling Technology), SYP (MRQ40; 1 : 200, Cell Marque), TP63 (DAK-p63; 1 : 200, Dako),

months, with average value 42 ± 18 months, median 42 months), one of them with a fatal outcome.

All hematoxylin and eosin stained microslides have been reviewed and evaluated accordingly. The degree of malignancy and pathological stage have been determined according to the 8th edition of the TNM classification [18].

Immunophenotyping and additional research methods. Immunohistochemistry has been performed on a Ventana BenchMark XT immunostainer according to the standard technique on deparaffinized sections 3–5 μ m thick placed on positively charged glasses, according to the protocols of manufacturing companies. A specific antibody panel recommended by the Lund Bladder Cancer Research Group has been used, which included 22 antibodies: CCNB1 (Y106; 1 : 400, Abcam, Cambridge, England), CCND1 (SP4; 1 : 200, Cell Marque, Rocklin, CA), CDKN2A/p16 (E6H4; RTU, Ventana, Oro Valley, AZ), E2F3 (PG30; 1 : 200, Abcam), HER2/neu (4B5; RTU, Ventana), EPCAM (Moc-31; 1 : 150, Cell Marque), FGFR3 (B9; 1 : 125, Santa Cruz Biotechnology), FOXA1 (2F83; 1 : 200, Cell Marque), GATA3 (L50-823; 1 : 200, Cell Marque), KRT5/6 (D5/16B4; 1 : 200, Cell Marque), KRT14 (LL002; 1 : 150, Innovative Diagnostik-System), KRT20 (Ks20.8; 1 : 200, Cell Marque), RB1 (4H1; 1 : 800, Cell Signalling Technology), SYP (MRQ40; 1 : 200, Cell Marque), TP63 (DAK-p63; 1 : 200, Dako), UPK3 (AU-1; 1 : 50, Cell Marque), Ki67 (SP6; 1 : 200, Spring), EGFR (5B7; RTU, Ventana), E-cadherin (GM016; 1 : 200, Cell Marque), ZEB2 (E-11; 1 : 50, Santa Cruz Biotechnology), CD44 (MRQ13; 1 : 300, Cell Marque), VIM (V9; 1 : 200, GeneMed). The evaluation of positive and negative controls has met the requirements.

The method of immunohistochemical evaluation of tumors was used according to the Lund Group researchers with the assessment of each tumor specimen according to two criteria: staining intensity and percentage of positive cells. Tumor cell score (TCS) and percentage of positive cells (frac.) have been calculated for each marker.

To assess HER2 status, the dual *in situ* hybridization method has been used — chromogenic (Ventana Dual ISH Her2 DNP, CHR17 DIG probes on the BenchMark XT platform) and fluorescent using the ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (ZytoVision GmbH) in the ThermoBrite System (Abbott) automated hybridizer.

Statistical methods. Statistical tests have been performed in the SigmaPlot 12.5 statistical calcula-

UPK3 (AU-1; 1 : 50, Cell Marque), Ki67 (SP6; 1 : 200, Spring), EGFR (5B7; RTU, Ventana), E-cadherin (GMO16; 1 : 200, Cell Marque), ZEB2 (E-11; 1 : 50, Santa Cruz Biotechnology), CD44 (MRQ13; 1 : 300, Cell Marque), VIM (V9; 1 : 200, GeneMed). Оценка положительного и отрицательного контролей соответствовала требованиям.

Методика иммуногистохимической оценки опухолей использована согласно данным исследователей группы Lund с оценкой каждого опухолевого образца по двум критериям: интенсивность окрашивания и процент положительных клеток. Для каждого маркера производился подсчет балла опухолевых клеток (TCS) и процента положительных клеток (frac.).

Для оценки HER2-статуса применялся двойной метод гибридизации *in situ* — хромогенный (Ventana Dual ISH Her2 DNP, CHR17 DIG probes на платформе BenchMark XT) и флуоресцентный с использованием зонда ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (ZytoVision GmbH) в автоматическом гибридализере ThermoBrite System (Abbott).

Статистические методы. Статистические тесты были выполнены в программе для статистических вычислений SigmaPlot 12.5. Качественные признаки анализировались с вычислением точного критерия Фишера, который был использован для проверки различий в категориальных данных с критическим уровнем значимости $p < 0.05$. Статистическая значимость различий по значениям TCS и frac. оценивалась непараметрическим методом с использованием Mann-Whitney U-test. Для оценки клинического исхода проводился анализ Kaplan-Meier и анализ пропорциональных рисков — регрессия Cox с логарифмическим ранговым критерием (Logrank test). Все значения были даны как средние $\pm$ стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено раздельное (для каждой из трех возрастных подгрупп) иммунофенотипирование 56 случаев уротелиальных карцином у пациентов моложе 45 лет в соответствии с описанной методикой Lund и классифицированы молекулярные подтипы опухолей.

Уротелиоподобный подтип

Морфологически опухоли характеризовались классической уротелиальной морфологией, чаще папиллярного строения низкой степени злокачественности. Иммуногистохимически они экспрессировали маркеры уротелиальной дифференцировки. Клинически опухоли этого типа имели благоприятный прогноз, а пациенты демонстрировали наилучшую выживаемость с небольшими раз-

тионами. Качественные признаки были анализированы с помощью точного критерия Фишера, который был использован для проверки различий в категориальных данных с критическим уровнем значимости $p < 0.05$. Статистическая значимость различий в TCS и frac. значениях была оценена непараметрическим методом с использованием Mann-Whitney U-test. Анализ Кэпелана-Мейера и пропорциональный анализ — регрессия Кокса с тестом Логранка были выполнены для оценки клинического исхода. Все значения были даны как средние $\pm$ стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Отдельно (для каждой из трех возрастных подгрупп) иммунофенотипирование 56 случаев уротелиальных карцином у пациентов моложе 45 лет было выполнено в соответствии с описанной методикой Lund, а молекулярные подтипы опухолей были классифицированы.

Уротелиоподобный подтип

Морфологически, опухоли были характеризовались классической уротелиальной морфологией, чаще с папиллярной структурой низкой степени злокачественности. Иммуногистохимически они экспрессировали некоторые маркеры уротелиальной дифференциации. Клинически, опухоли этого типа имели благоприятный прогноз, а пациенты продемонстрировали наилучшую выживаемость с небольшими различиями.

Уротелиоподобный А подтип. В 44 случаях (78%), опухоли продемонстрировали классическую папиллярную уротелиальную морфологию, большинство из них были немускулиноинвазивными (84%), с низкой степенью злокачественности (77%). История болезни была доступна в 38 случаях, с периодом наблюдения 5–84 месяца. Повторные рецидивы произошли в 5 случаях (12%) в течение периода наблюдения 8–60 месяцев, один из которых закончился летальным исходом, который не был связан с прогрессированием заболевания. Опухоли продемонстрировали слабую экспрессию CCB1 (TCS 0.04) с сильной до умеренной экспрессией CCD1 (TCS 2.4), FOXA1 (TCS 2), p63 (TCS 0.9), RB1 (frac. 0.9) в сочетании с низкими уровнями E2F3 (frac. 0.05), p16 (TCS 0.3). Кроме того, экспрессия маркеров, характерных для нормальной уротелиальной дифференциации, была замечена: CK5/6 (TCS 0.3) в клетках опухоли.

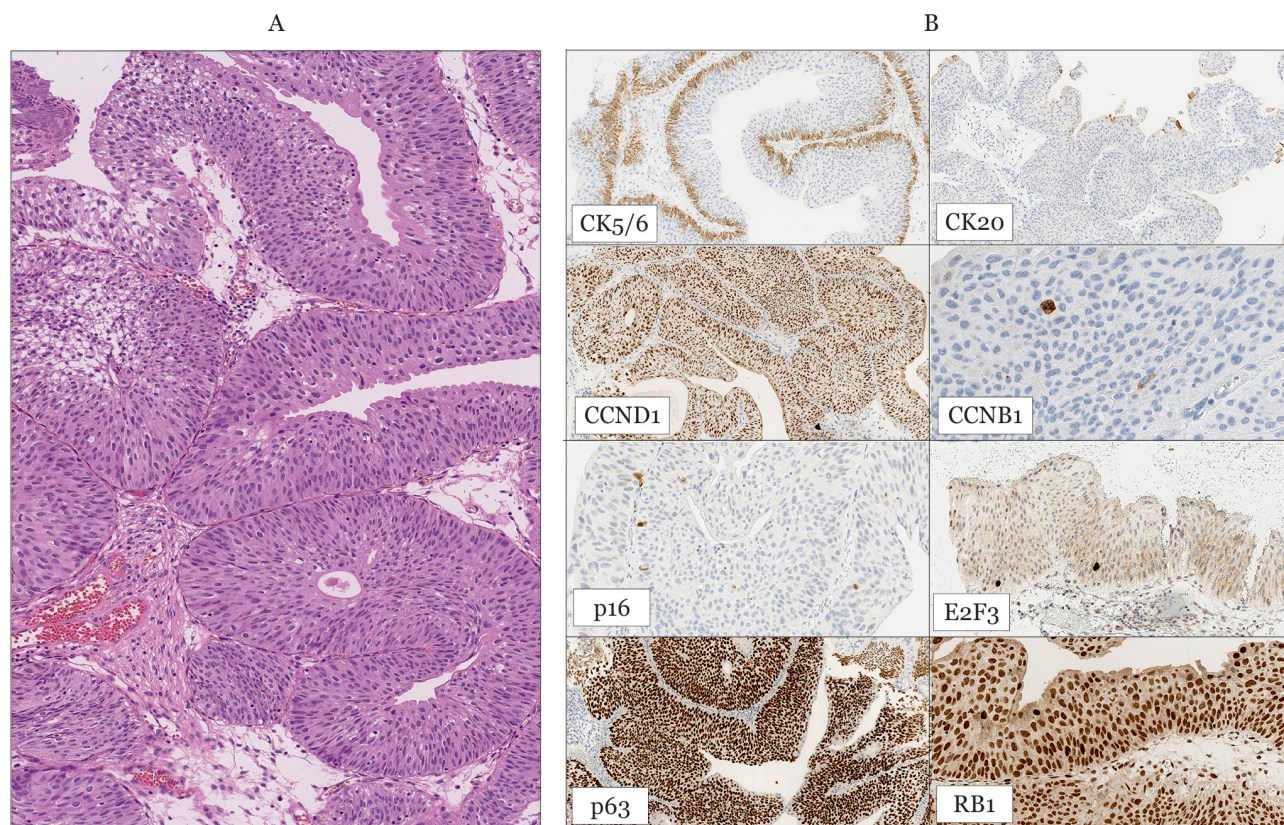


Рис. 3. Папиллярная уротелиальная карцинома low-grade (A) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение (ув.) $\times 10$) и иммунопрофиль уротелиоподобного A подтипа (B)

Fig. 3. A low-grade papillary urothelial carcinoma (A) (hematoxylin and eosin staining, magnification (mag.) $\times 10$) and an immunoprofile of the urothelial-like A subtype (B)

личиями среди дополнительно выделенных подтипов внутри уротелиального кластера [19]. Последняя редакция молекулярной классификации Lund подразделяет уротелиоподобный подтип на четыре дополнительных (УроА, УроАп, УроВ, УроС) с некоторыми молекулярно-генетическими и иммуногистохимическими отличиями.

Уротелиоподобный А подтип. В 44 случаях (78 %) опухоли демонстрировали классическую папиллярную уротелиальную морфологию, в большинстве своем были мышечно-неинвазивными (84 %), низкой степени злокачественности (77 %). Катамнез был доступен в 38 случаях, период наблюдения 5–84 мес. Рецидивы имели место в 5 случаях (12 %) за период наблюдения 8–60 мес, один из которых закончился летально, что не связано с прогрессированием заболевания. Опухоли демонстрировали слабую экспрессию CCB1 (TCS 0.04) при выраженной и умеренной экспрессии CCD1 (TCS 2.4), FOXA1 (TCS 2), p63 (TCS 0.9), RB1 (frac. 0.9) в сочетании с низким уровнем E2F3 (frac. 0.05), p16 (TCS 0.3). Кроме того, наблюдалась экспрессия маркеров, характерных для дифференцировки нормального уро-

basal and suprabasal urothelial layers, CK20 (TCS 0.1) in the cells of the surface urothelial layers (Fig. 3). According to the Lund classification, this group has been categorized as the *urothelial-like A* subtype, which was fully consistent with a similar subtype in elderly patients. It is noteworthy that all tumors in patients under 30 years of age have belonged to this subtype. From a clinical point of view, the tumors of the urothelial-like A subtype have proceeded favorably, and patients have showed the best survival rate (5-year survival rate amounted to 60%).

The Urothelial-like B subtype. A small cluster of tumors (2; 4%) with typical urothelial morphology and urothelial phenotype (FOXA1+, GATA3+), characterized by more pronounced expression of basal markers CK14 in cells of basal and parabasal urothelial layers, heterogeneous or diffuse CK5/6 expression in cells of basal, parabasal and intermediate urothelial layers, diffuse pronounced expression of CK20 and FGFR3 (Fig. 4).

This subtype has had a less favorable prognosis compared to the urothelial-like A subtype (5-year survival rate has been about 20%). The catamnesis

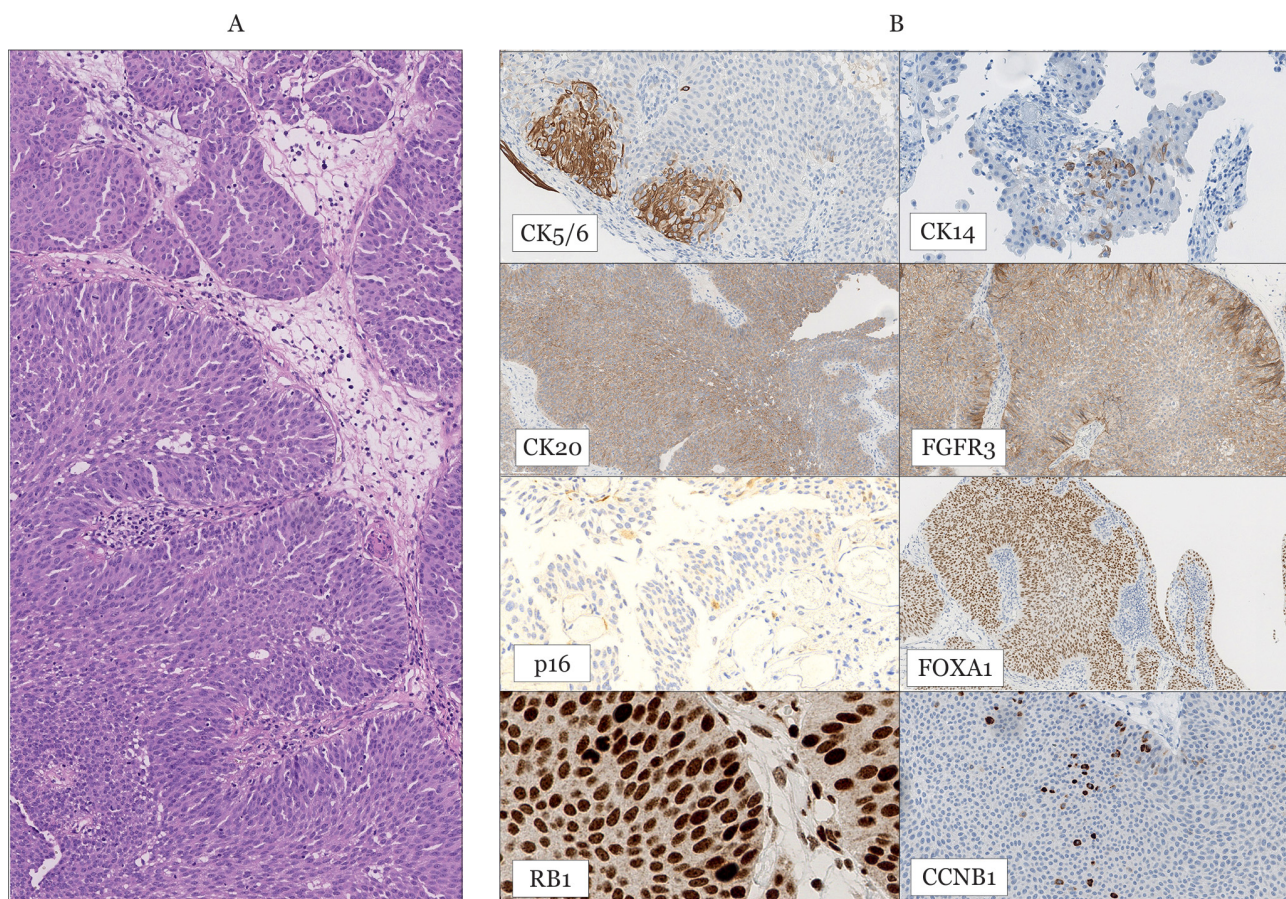


Рис. 4. Папиллярная уротелиальная карцинома high-grade (A) (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 10$) и иммунопрофиль уротелиоподобного B подтипа (B)

Fig. 4. A high-grade papillary urothelial carcinoma (A) (hematoxylin and eosin staining, mag. $\times 10$) and an immunoprofile of urothelial-like B subtype (B)

тели: CK5/6 (TCS 0.3) в клетках базального и супрабазального слоев уротелия, CK20 (TCS 0.1) в клетках поверхностных слоев уротелия (рис. 3). По классификации Lund эту группу отнесли к *уротелиоподобному A* подтипу, что полностью соответствовало аналогичному подтипу у пожилых пациентов. Примечательно, что все опухоли у пациентов до 30 лет относились к данному подтипу. Клинически опухоли уротелиоподобного A подтипа протекали благоприятно, а пациенты показывали наилучшую выживаемость (5-летняя выживаемость составила 60 %).

Уротелиоподобный B подтип. Небольшой кластер опухолей (2; 4 %) с типичной уротелиальной морфологией и уротелиальным фенотипом (FOXA1+, GATA3+), отличающийся более выраженной экспрессией базальных маркеров CK14 в клетках базального и парабазального слоев уротелия, гетерогенной или диффузной экспрессией CK5/6 в клетках базального, парабазального и промежуточного слоев уротелия, диффузной выраженной экспрессией CK20 и FGFR3 (рис. 4).

data has showed multiple relapses in one case (follow-up period of 60 months), in the second case no relapses have been registered (follow-up period of 36 months).

SK5/6+/p16+ subtype. A small group of tumors (4; 7%) with a statistically significant level of squamous differentiation has been identified within the urothelial subtype. In most of the tumors, the CK5/6 expression has been revealed not only in basal but also in intermediate urothelial layers (TCS 0.8), and there has been also CK14 expression in single cells of basal layer (TCS 0.03) (Fig. 5), which has been absent in the tumors of the urothelial-like A subtype. In contrast to the urothelial-like A subtype, the expression level of p16 has been significantly higher (TCS 2.0). In addition, a rather high level of E2F3 overexpression has been detected (frac. 0.15). High-grade malignancy tumors have prevailed (3; 75%), non-muscle invasive — 2 (50%), muscle-invasive — 2 (50%). Duration of catamnesis for all patients was 7–36 months. It should be noted that there have been frequent relapses (3; 75%) between 7 and 24

Данный подтип отличался менее благоприятным прогнозом в сравнении с уротелиоподобным А подтипом (5-летняя выживаемость составила около 20 %). Данные катмнеза показали в одном случае множественные рецидивы (период наблюдения 60 мес), во втором случае рецидивы не зарегистрированы (период наблюдения 36 мес).

CK5/6+ p16+ подтип. Внутри уротелиального подтипа выделена небольшая группа опухолей (4; 7 %) со статистически значимым уровнем плоскоклеточной дифференцировки. В большинстве опухолей экспрессия CK5/6 определялась не только в базальных, но и промежуточных слоях уротелия (TCS 0.8), а также отмечалась экспрессия CK14 в единичных клетках базального слоя (TCS 0.03) (рис. 5), что отсутствовало в опухолях уротелиоподобного А подтипа. В отличие от уротелиоподобного А подтипа, уровень экспрессии p16 был существенно выше (TCS 2.0). Кроме того, выявлен достаточно высокий уровень сверхэкспрессии E2F3 (frac. 0.15). Преобладали опухоли высокой степени злокачественности (3; 75 %), мышечно-неинвазивные — 2 (50 %), мышечно-инвазивные — 2 (50 %). Катмнестически охвачены все пациенты с доступным периодом наблюдения 7–36 мес. Отмечены частые рецидивы (3; 75 %) в период 7–24 мес. Подобные иммунофено-

months. Similar immunophenotypic features have been not found in any of the molecular subtypes of the tumors in elderly patients. For this reason, this group has been identified conventionally for statistical analysis and named by the immunophenotype CK5/6+/p16+.

Genomically unstable subtype

In the subgroup of age 40–44, there has been one (2%) high-grade muscle-invasive tumor with an immunoprofile other than the urothelial subtype. The tumor did not have classical urothelial morphology and was characterized by a heterogeneous structure: there were foci of a squamous and glandular differentiation (Fig. 6). Accordingly, the immunoprofile was also heterogeneous: very low expression of CCD1 (TCS 0.01–0.1), FOXA1 (TCS in the squamous cell component 0, in the glandular component 1.5), FGFR3 (frac. 0.1), p63 (frac. 0.05–1.0), absence of RB1 expression against overexpression of E2F3 (frac. 0.3–0.6), p16 (TCS in the squamous cell component 1.8, in the glandular component 3.0), CK20 (TCS in the glandular component 2.7, in the squamous cell component 0). In addition, molecular genetic testing has revealed amplification of the *HER2/neu* gene. No recurrences or metastases have been detected during the 24-month

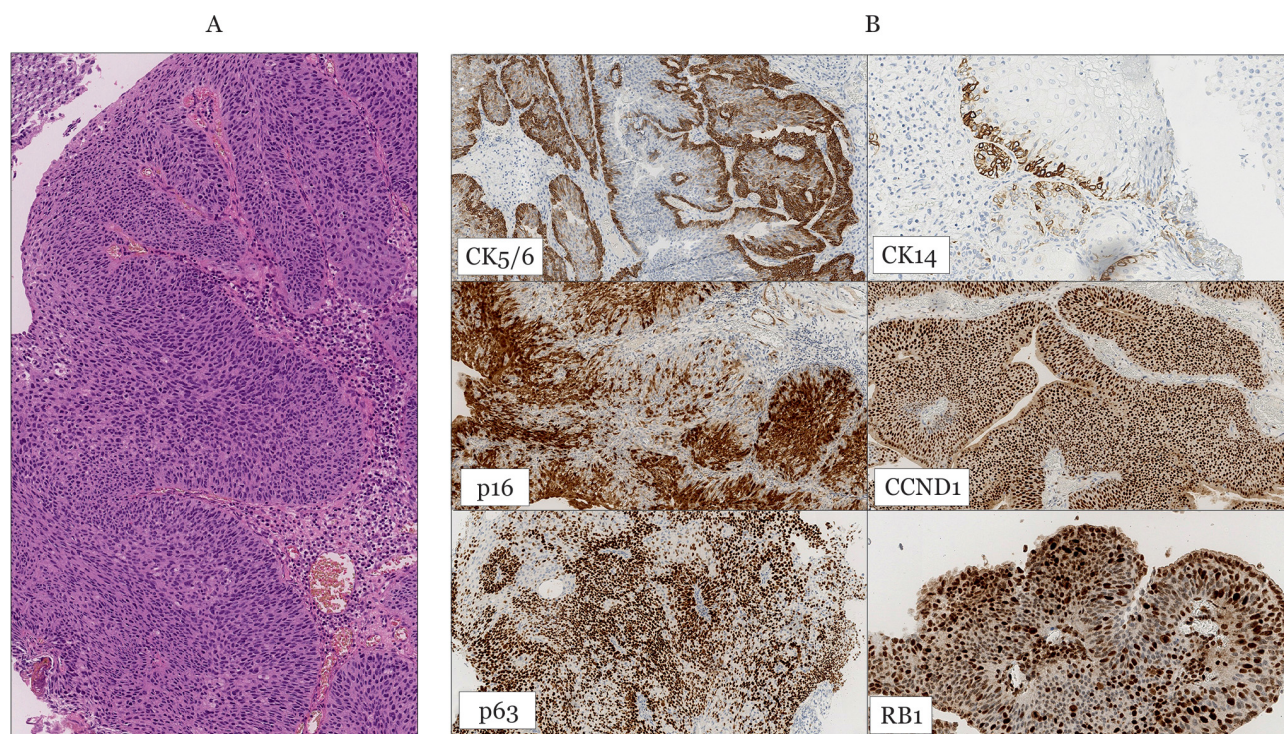


Рис. 5. Папиллярная уротелиальная карцинома high-grade (А) (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 10$) и иммунопрофиль уротелиоподобного подтипа CK5/6+/p16+ (В)

Fig. 5. A high-grade papillary urothelial carcinoma (А) (hematoxylin and eosin staining, mag. $\times 10$) and an immunoprofile of the CK5/6+/p16+ urothelial-like subtype (В)

типические признаки не обнаружены ни в одном из молекулярных подтипов опухолей у пожилых пациентов. По этой причине для статистического анализа эта группа была выделена условно и названа по иммунофенотипу «CK5/6+/p16+».

Геномно-нестабильный подтип

В подгруппе 40–44 года имела одна (2 %) мышечно-инвазивная опухоль высокой степени злокачественности с иммунопрофилем, отличным от уротелиального подтипа. Опухоль не имела классическую уротелиальную морфологию и характеризовалась гетерогенностью строения: встречались очаги плоскоклеточной и железистой дифференцировки (рис. 6). Соответственно, иммунопрофиль также был неоднородным:

follow-up. According to the Lund classification, this group has been classified as the *genomically unstable* subtype, fully reproducible in comparison with the group of elderly patients. This prognostically unfavorable group of tumors has been characterized by a high rate of progression and aggressive course.

Basal/squamous cell-like subtype

Three cases (5%) of high-grade, deeply invasive urothelial carcinomas have showed a marked squamous phenotype: high expression level of CK5/6 (TCS 2.7) and CK14 (TCS 2.4) with a low GATA3 (TCS 0.3) level. The FOXA1 (TCS 0) expression has been absent as well. The tumors have been characterized by an aggressive course: two of them have

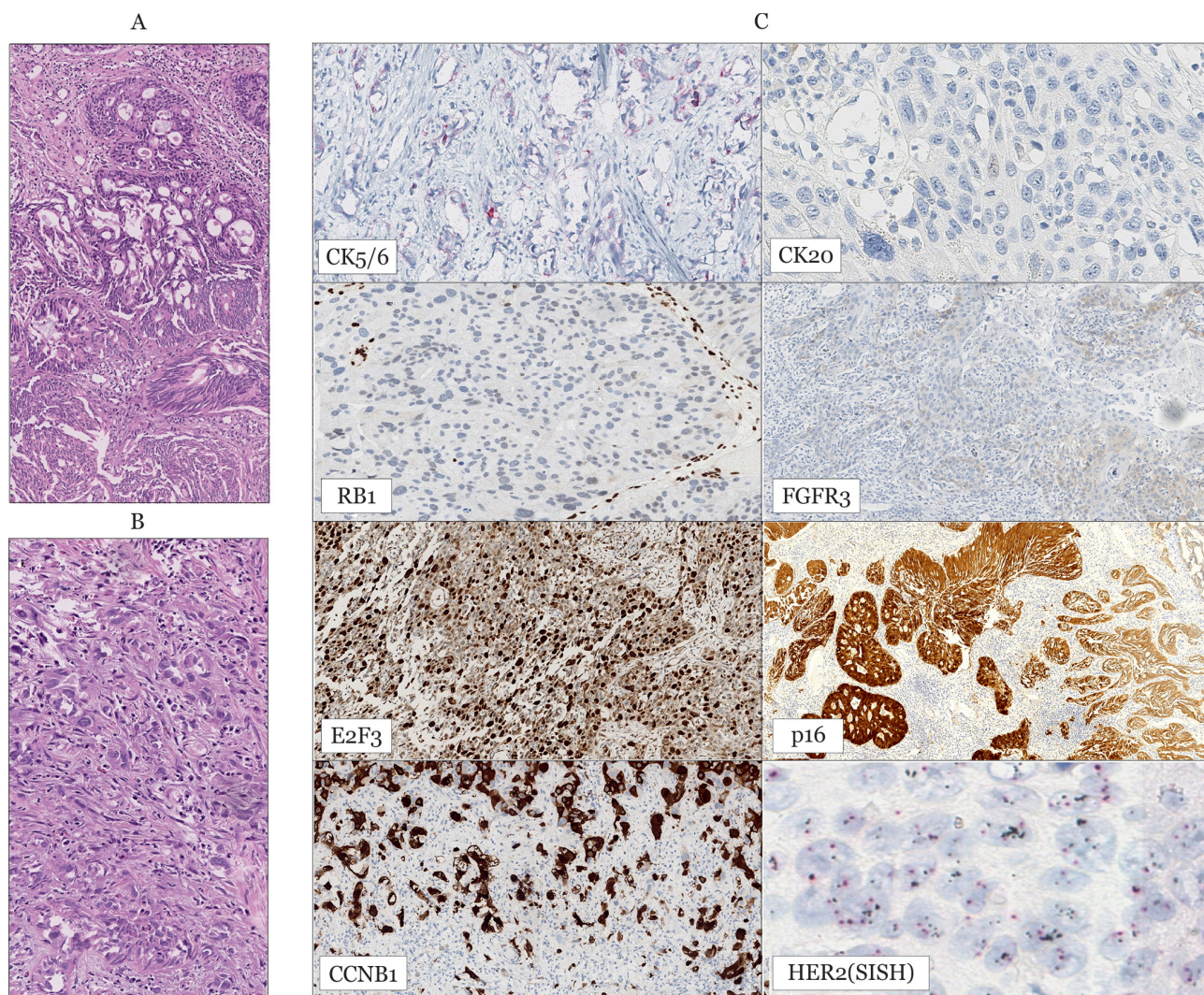


Рис. 6. Уротелиальная карцинома high-grade с участками гетерогенного строения (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 20$: А — очаги железистой дифференцировки; В — очаги плоскоклеточной дифференцировки) и иммунопрофиль геномно-нестабильного подтипа (С)

Fig. 6. A high-grade urothelial carcinoma with areas of heterogeneous structure (hematoxylin and eosin staining, mag. $\times 20$: А — foci of glandular differentiation; В — foci of squamous differentiation) and an immunoprofile of the genomically unstable subtype (С)

очень низкий уровень экспрессии CCD1 (TCS 0.01–0.1), FOXA1 (TCS в плоскоклеточном компоненте 0, в железистом 1.5), FGFR3 (frac. 0.1), p63 (frac. 0.05–1.0), отсутствие экспрессии RB1 на фоне сверхэкспрессии E2F3 (frac. 0.3–0.6), p16 (TCS в плоскоклеточном компоненте 1.8, в железистом 3.0), CK20 (TCS в железистом компоненте 2.7, в плоскоклеточном 0). В дополнение к этому при молекулярно-генетическом исследовании выявлена амплификация гена *HER2/neu*. В течение 24 мес наблюдения рецидивов и метастазов не обнаружено. По классификации Lund эта группа отнесена к *геномно-нестабильному* подтипу, полностью воспроизводимому в сравнении с пожилой группой. Данная прогностически неблагоприятная группа опухолей отличалась высокой частотой прогрессии и агрессивным течением.

Базальный/плоскоклеточно-подобный подтип

В трех случаях (5 %) глубоко инвазивных уротелиальных карцином высокой степени злокачественности выявлен выраженный сквамозный фенотип: высокий уровень экспрессии CK5/6 (TCS 2.7) и CK14 (TCS 2.4) при низком уровне GATA3 (TCS 0.3). Также отсутствовала экспрессия FOXA1 (TCS 0). Опухоли характеризовались агрессивным течением: две из них были глубоко инвазивными (pT3a, pT4), одна — стадия pT2. Морфологически все опухоли имели характерную плоскоклеточную дифференцировку (рис. 7). Катамнез был известен в двух случаях (период наблюдения 60 мес). Рецидив отмечен в одном слу-

been deeply invasive (pT3a, pT4), one has been in the pT2 stage. Morphologically, all tumors have had a characteristic squamous cell differentiation (Fig. 7). The catamnesis has been known in two cases (with a follow-up period of 60 months). A relapse has been noted in one case. According to the Lund classification, this subtype has correlated completely with a similar, prognostically unfavorable one in elderly patients.

Mesenchymal-like subtype

In one (2%) case of a high-grade muscle-invasive tumor, there was a pronounced morphological polymorphism with a combination of predominant spindle cell, chondroid, glandular, and focal squamous cell histological patterns (Fig. 8). Immunohistochemically, the tumor has showed a pronounced expression of vimentin with a weak expression of the other markers. This case, referred to the mesenchymal-like subtype, has been fully reproducible in a group of young patients and has been characterized by a recurrent course (follow-up period of 5 months) and a poor prognosis.

The distribution of tumors by molecular subtypes in the age subgroups of young patients is shown in Fig. 9. In the subgroup under 30 years of age, the tumors have been of the urothelial A subtype only, in the early pathological stage (pTa, pT1). In the subgroup of age 30–39, the urothelial-like A subtype have also prevailed, but other subtypes have appeared, such as the urothelial-like CK5/6+/p16+ subtype (10%), as well as a small percentage of the urothelial-like B and basal/squamous cell-like

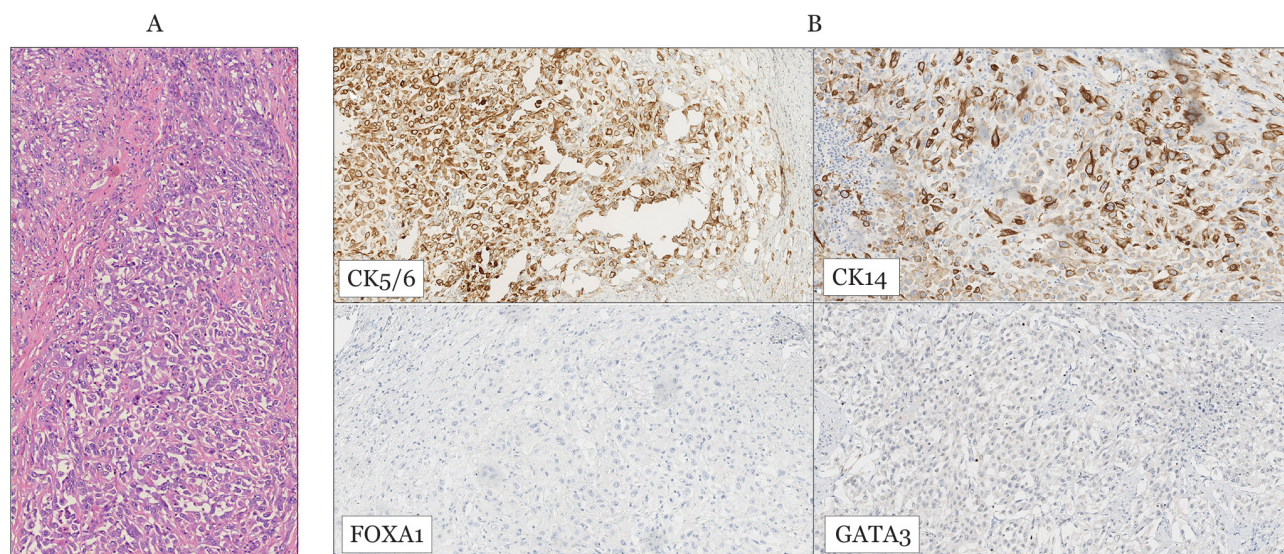


Рис. 7. Уротелиальная карцинома high-grade с выраженной плоскоклеточной дифференцировкой (А) (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 10$) и иммунопрофиль базального/плоскоклеточно-подобного подтипа (В)
Fig. 7. A high-grade urothelial carcinoma with marked squamous cell differentiation (A) (hematoxylin and eosin staining, mag. $\times 10$) and an immunoprofile of the basal/squamous cell-like subtype (B)

чае. По классификации Lund данный подтип полностью коррелировал с аналогичным, прогностически неблагоприятным у пожилых пациентов.

Мезенхимально-подобный подтип

В одном (2 %) наблюдении мышечно-инвазивной опухоли высокой степени злокачественности установлен выраженный морфологический полиморфизм с сочетанием преобладающего веретенноклеточного, хондроидного, железистого и очагово-плоскоклеточного гистологических паттернов (рис. 8). Иммуногистохимически опухоль продемонстрировала выраженную экспрессию виментина при слабой экспрессии остальных маркеров. Этот случай, отнесенный к мезенхимально-подобному подтипу, был полностью воспроизводим в группе молодых пациентов и характеризовался рецидивирующим течением (период наблюдения 5 мес) и худшим прогнозом.

Распределение опухолей по молекулярным подтипам в возрастных подгруппах молодых пациентов показано на рис. 9. В подгруппе до 30 лет опухоли были только уротелиоподобного А подтипа, на ранней патологической стадии (pTa,

subtypes. In patients older than 40 years old, in addition to those already mentioned, genomically unstable and mesenchymal-like subtypes have been detected.

The Kaplan-Meier analysis of the recurrence-free survival

When evaluating the recurrence-free survival rate, the urothelial-like A subtype showed the best prognosis in young patients ($p = 0.022$) compared to the other subtypes, we have analyzed between them because of the small sample of patients. The so-called urothelial-like CK5/6+/p16+ subtype that we had identified, has showed a slightly less favorable prognosis in contrast to the urothelial subtype ($p = 0.057$) (Fig. 10).

In our study we have applied the Lund molecular profiling method using an immunohistochemical method to a cohort of young patients [20]. Based on the above mentioned methodology, bladder tumors in most cases can be divided into four subtypes: urothelial-like, genomically unstable, basal/squamous cell-like, and mesenchymal-like. As mentioned above, the age-related hypothesis and clinical beha-

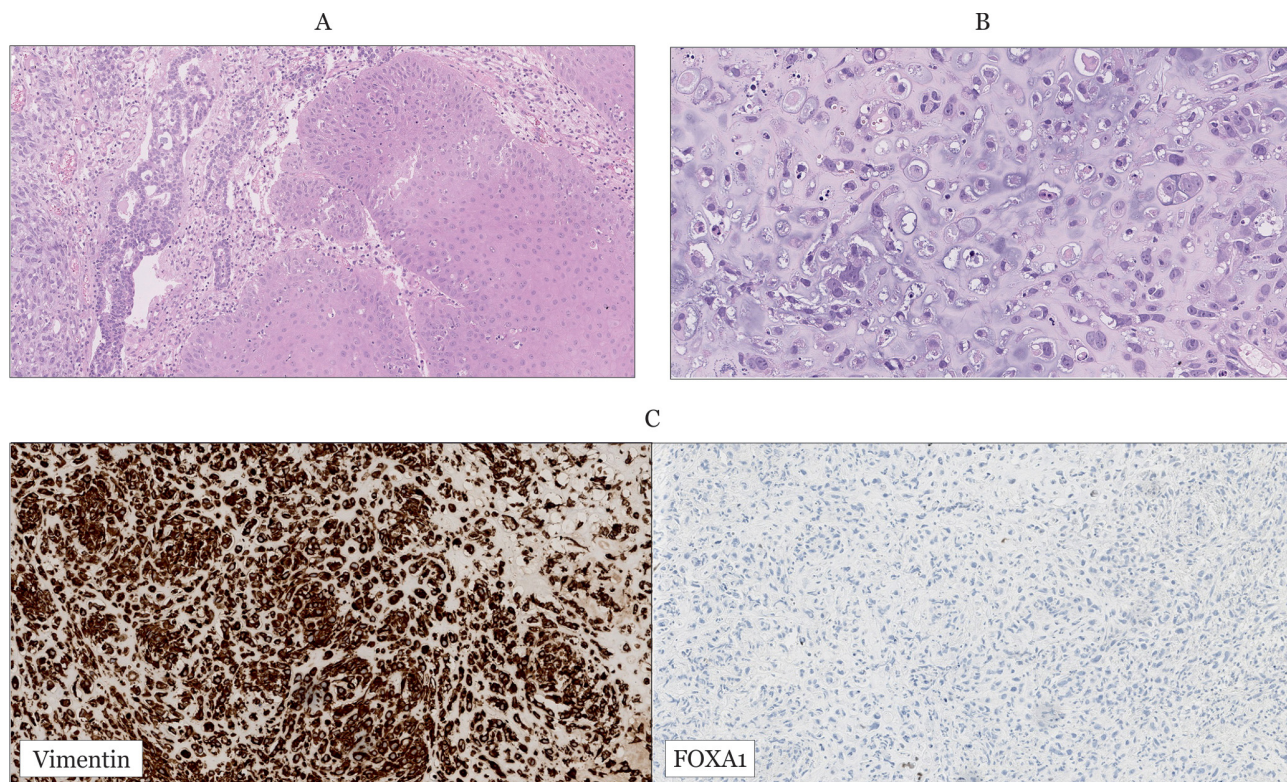


Рис. 8. Карцинома high-grade с участками гетерогенного строения (окраска гематоксилином и эозином:

А — очаги железистой, плоскоклеточной и веретенноклеточной дифференцировки, ув. $\times 10$;
 В — очаги хондроидной дифференцировки, ув. $\times 20$) и иммунопрофиль мезенхимально-подобного подтипа (С)
Fig. 8. A high-grade carcinoma with areas of heterogeneous structure (hematoxylin and eosin staining:
 А — foci of glandular, squamous cell, and spindle cell differentiation, mag. $\times 10$; В — foci of chondroid differentiation,
 mag. $\times 20$) and an immunoprofile of mesenchymal-like subtype (C)

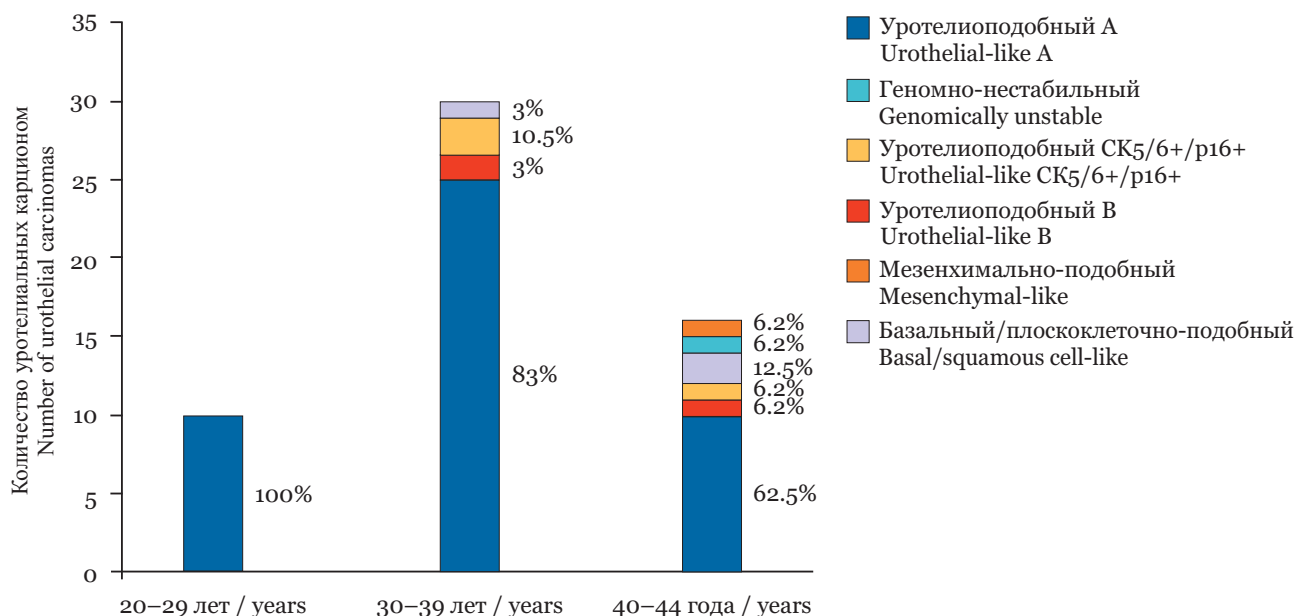


Рис. 9. Распределение молекулярных подтипов уротелиальных карцином в возрастных подгруппах молодых пациентов (цифры справа от молекулярного подтипа — доля этого подтипа)

Fig. 9. A distribution of molecular subtypes of urothelial carcinomas in the age subgroups of young patients (figures to the right of the molecular subtype are the proportion of that subtype)

pT1). В подгруппе 30–39 лет также превалировал уротелиоподобный А подтип, однако появились другие подтипы, такие как уротелиоподобный CK5/6+/p16+ подтип (10 %), а также небольшой процент уротелиоподобного В и базального/плоскоклеточно-подобного подтипа. У пациентов старше 40 лет, помимо уже названных, выявлялись геномно-нестабильный и мезенхимально-подобный подтипы.

Анализ безрецидивной выживаемости Kaplan-Meier

При оценке безрецидивной выживаемости наилучший прогноз у молодых пациентов показал уротелиоподобный А подтип ($p = 0.022$) в сравнении с другими подтипами, которые мы анализировали вместе из-за малой выборки пациентов. Выделенный нами так называемый уротелиоподобный CK5/6+/p16+ подтип показал несколько менее благоприятный прогноз в отличие от уротелиального подтипа ($p = 0.057$) (рис. 10).

В нашем исследовании мы применили метод молекулярного профилирования Lund с использованием иммуногистохимического метода на когорте молодых пациентов [20]. На основе вышеуказанной методики опухоли мочевого пузыря в большинстве случаев можно подразделить на четыре подтипа: уротелиоподобный, геномно-нестабильный, базальный/плоскоклеточно-подобный и мезенхимально-подобный. Как уже

behavior of bladder cancer have still been being under discussion. Some researchers report that the clinical course and prognosis of tumors in young patients is similar to that in older patients, while others report a higher survival rate, a favorable course, but a risk of recurrence of superficial urothelial carcinomas in young patients [19, 21, 22]. In general, the urothelial carcinomas in young patients have genetic features reflected in their biological behavior [23]. A number of authors indicate that these tumors are characterized by genomically stable [6, 7]. Some authors consider the low frequency of the *FGFR3* and *TP53* mutations, which play a crucial role in oncogenesis in the majority of elderly patients, to be a feature [8]. Contradictory data regarding genetic factors, clinical outcome, and prognosis of early urothelial bladder cancer may be due to the lack of consensus on a clear definition of the young group of patients within the group of individuals younger than 20 and 45 years [23–29].

This study has included an analysis of patients from 20 to 45 years of age according to the World Health Organization guidelines. In addition, the sample of young patients has been subdivided into three age subgroups for statistical analysis. Our results show that all Ta stage tumors and the majority of the T1 stage tumors had the phenotype of the urothelial-like A subtype. We have not identified any other molecular subtypes other than urothelial-like

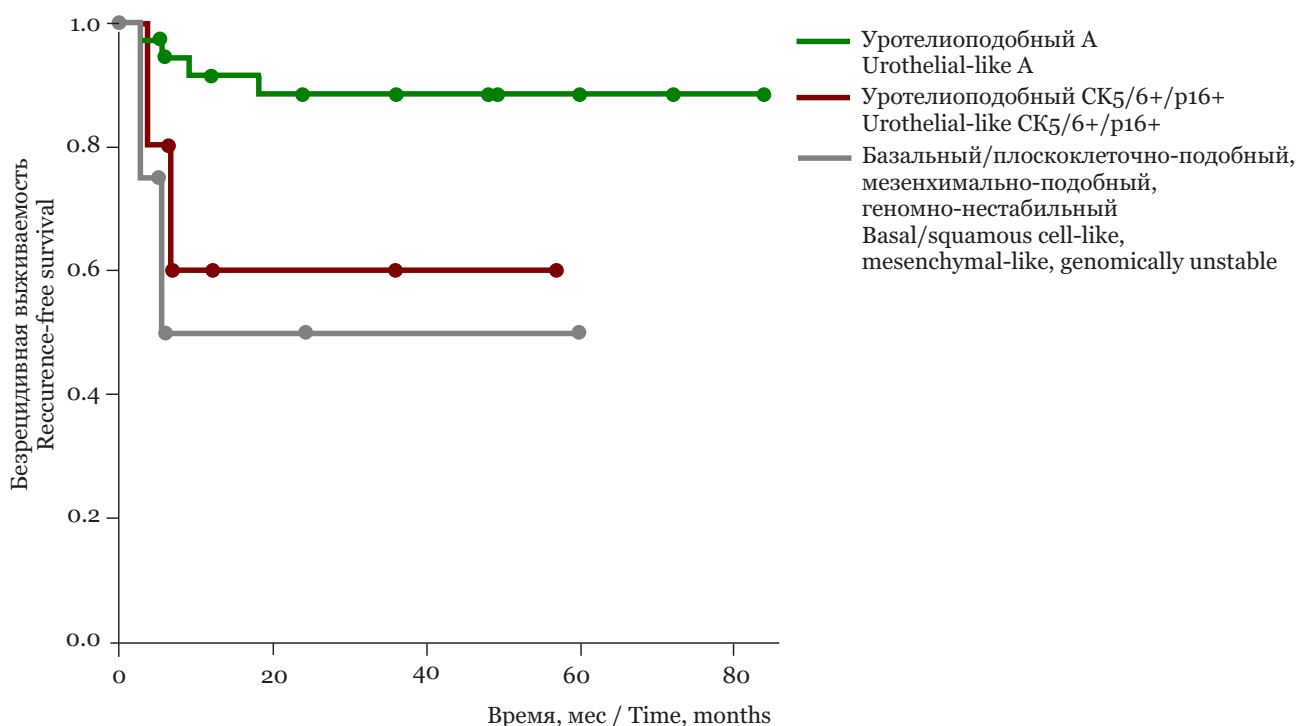


Рис. 10. Анализ безрецидивной выживаемости Kaplan-Meier
Fig. 10. The Kaplan-Meier analysis of the recurrence-free survival

указывалось выше, возрастная гипотеза и клиническое поведение рака мочевого пузыря все еще обсуждается. Некоторые исследователи сообщают, что клиническое течение и прогноз опухолей у молодых пациентов аналогичны таковым у пожилых, тогда как другие говорят о более высокой выживаемости, благоприятном течении, но риске рецидивирования поверхностных уротелиальных карцином у молодых пациентов [19, 21, 22]. В целом уротелиальные карциномы у молодых пациентов имеют генетические особенности, отражающиеся на их биологическом поведении [23]. Ряд авторов указывает, что для данных опухолей характерна геномная стабильность [6, 7]. Некоторые авторы считают особенностью низкую частоту мутаций генов *FGFR3* и *TP53*, которые играют решающую роль в онкогенезе у большинства пожилых пациентов [8]. Противоречивые данные относительно генетических факторов, клинического исхода и прогноза раннего уротелиального рака мочевого пузыря, возможно, объясняются отсутствием единого мнения о четком выделении «молодой группы» пациентов в пределах группы лиц моложе 20 и 45 лет [23–29].

Проведенное исследование включало анализ пациентов от 20 до 45 лет в соответствии с рекомендациями ВОЗ. При этом дополнительно выборка молодых пациентов подразделялась на три возрастные подгруппы для статистического ана-

А in non-invasive tumors, in contrast to the data of G. Sjö Dahl et al. in elderly patients [3, 30]. This aspect seems to reflect the hypothesis that tumors in young patients constitute a more genomically stable group [6, 7, 23]. In the urothelial cluster, we have identified a small group of tumors (7%) with immunophenotypic features atypical for the urothelial-like A subtype: a higher level of the squamous cell differentiation, a marked expression of p16 protein, a higher level of E2F3 and Ki67 expression, and an aberrant expression of CK20. The molecular profile has been similar to the genomically unstable subtype, on the one hand, and to the basal/squamous cell-like subtype, on the other, but it has showed typical features of the urothelial subtype. We have not found a similar expression profile in the Lund's studies in a cohort of elderly patients and, following the Lund's recommendation that molecular subtypes can only be identified based on mRNA expression, we have analyzed this group separately under the notation of the urothelial-like CK5/6+/p16+ subtype. The patients with urothelial-like A subtype carcinomas have showed a more favorable survival prognosis compared to the urothelial-like CK5/6+/p16+ subtype ($p = 0.057$). The p16 protein is known to be an early marker of malignant transformation as it plays an important role in cell cycle regulation and acts as a tumor suppressor. The urothelial carcinomas clas-

лиза. Наши результаты показывают, что все опухоли стадии Та и большинство стадии Т1 имели фенотип уротелиоподобного А подтипа. Мы не выявили в неинвазивных опухолях других молекулярных подтипов, кроме уротелиоподобного А, в отличие от данных G. Sjö Dahl et al. у пожилых пациентов [3, 30]. Этот аспект, по-видимому, отражает гипотезу о том, что опухоли у молодых составляют более геномно-стабильную группу [6, 7, 23]. В уротелиальном кластере мы выявили небольшую группу опухолей (7 %) с нетипичными для уротелиоподобного А подтипа иммунофенотипическими признаками: более высокий уровень плоскоклеточной дифференцировки, выраженная экспрессия белка p16, более высокий уровень экспрессии E2F3, Ki67, а также аберрантная экспрессия SK20. Молекулярный профиль, с одной стороны, схож с геномно-нестабильным подтипом, с другой — с базальным/плоскоклеточно-подобным, но при этом демонстрировал типичные признаки уротелиального подтипа. Мы не обнаружили подобный профиль экспрессии в исследованиях Lund в когорте пожилых пациентов и, согласно рекомендациям Lund о том, что молекулярные подтипы могут быть идентифицированы только на основе экспрессии мРНК, проанализировали эту группу отдельно под условным обозначением «уротелиоподобный SK5/6+/p16+ подтип». Пациенты с карциномами уротелиоподобного А подтипа показали более благоприятный прогноз выживаемости по сравнению с уротелиоподобным SK5/6+/p16+ подтипом ($p = 0.057$). Известно, что белок p16 является ранним маркером злокачественной трансформации, поскольку играет важную роль в регуляции клеточного цикла и действует как супрессор опухоли. Уротелиальные карциномы, классифицируемые как уротелиоподобный подтип, часто теряют экспрессию p16 из-за специфической для подтипа утраты гена. Это было показано G. Sjö Dahl на когорте пожилых пациентов [20]. У пациентов старше 45 лет при молекулярном профилировании уротелиальных карцином мы отмечали аналогичные результаты. Тем не менее S.R. Williamson et al. подтвердили, что альтерация гена *CDKN2A/p16* в опухолях у молодых пациентов встречается редко [8]. В нашей когорте случаев было выявлено увеличение экспрессии белка p16 в сочетании с более высоким уровнем плоскоклеточной дифференцировки, пролиферативной активности и экспрессии E2F3 в случаях мышечно-неинвазивных карцином высокой степени гистологической злокачественности с общими признаками уротелиального кластера.

sified as the urothelial-like subtype often lose p16 expression due to the subtype-specific gene loss. This has been shown by G. Sjö Dahl in a cohort of elderly patients [20]. In patients over 45 years of age, we have determined similar results in molecular profiling of the urothelial carcinomas. However, S.R. Williamson et al. confirmed that the *CDKN2A/p16* gene alteration in tumors in young patients is rare [8]. In our cohort, we have found an increased p16 protein expression in combination with a higher levels of squamous cell differentiation, a proliferative activity, and an E2F3 expression in cases of non-muscle invasive carcinomas of a high histological malignancy with common urothelial cluster features. It can be assumed that there is another pathway of urothelial carcinoma progression in young patients — through an MAPK signal activation, which promotes an epithelial-mesenchymal transition, and this, theoretically, leads to an increase in the p16 expression [31]. Some researchers have reported that an increased p16 expression in tumors, including urothelial muscle-invasive carcinomas, is associated with aggressive subtypes, and in certain clinical situations, an increased p16 expression may be an important prognostic and predictive marker [32–34]. Another explanation for the increase in the p16 expression may be related to a squamous cell differentiation. In the literature, there are indications that about 33% of urothelial carcinomas with the squamous cell differentiation show the p16 expression without any evidence of the human papillomavirus infection [35]. However, a biological significance of this aspect is unclear.

The frequency of, so-called, aggressive subtypes of urothelial carcinomas of the bladder (genomically unstable, basal/squamous cell-like, mesenchymal-like) in our cohort has been low (not more than 6%) in contrast to the cohort of older patients in the Lund's study, in which this frequency had exceeded 50%.

Dividing the young patient group into three age subgroups has revealed some differences in the distribution of molecular subtypes. All tumors in patients younger than 30 years old have been clearly classified in the urothelial-like A subtype, have had papillary urothelial morphology and have been associated with the best prognosis for recurrence-free survival. Statistically more aggressive subtypes (genomically unstable, basal/squamous cell-like, mesenchymal-like) have been detected only in patients older than 40 years. These data suggest that their frequency increases with age and is probably related to the accumulation of mutational burden [36].

Можно предположить, что существует другой путь прогрессирования уротелиальных карцином у молодых пациентов — через активацию МАРК-сигнала, что способствует эпителиально-мезенхимальному переходу, и это, теоретически, приводит к увеличению экспрессии p16 [31]. Некоторые исследователи сообщают, что увеличение экспрессии p16 в опухоли, в том числе в уротелиальных мышечно-неинвазивных карциномах, связано с агрессивными подтипами, и в определенной клинической ситуации повышение экспрессии p16 может быть важным прогностическим и предиктивным маркером [32–34]. Другое объяснение роста экспрессии p16 может быть связано с плоскоклеточной дифференцировкой. В литературе есть указания на то, что около 33 % уротелиальных карцином с плоскоклеточной дифференцировкой демонстрируют экспрессию p16 без признаков поражения вирусом папилломы человека [35]. Однако биологическая значимость этого аспекта неясна.

Частота так называемых агрессивных подтипов уротелиальных карцином мочевого пузыря (геномно-нестабильный, базальный/плоскоклеточно-подобный, мезенхимально-подобный) в нашей когорте была низкой (не более 6 %) в отличие от когорты пожилых пациентов в исследовании Lund, в которой эта частота превышала 50 %.

Разделение молодой группы пациентов на три возрастные подгруппы выявило некоторые различия в распределении молекулярных подтипов. Все опухоли у пациентов моложе 30 лет были четко классифицировались в уротелиоподобный А подтип, имели папиллярную уротелиальную морфологию и ассоциировались с наилучшим прогнозом в отношении безрецидивной выживаемости. Статистически более агрессивные подтипы (геномно-нестабильный, базальный/плоскоклеточно-подобный, мезенхимально-подобный) были выявлены только у пациентов старше 40 лет. Эти данные свидетельствуют о том, что частота их увеличивается с возрастом и, вероятно, связана с накоплением мутационной нагрузки [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования продемонстрировали достаточно хорошую воспроизводимость основных молекулярных подтипов рака мочевого пузыря, встречающихся у пожилых пациентов. Впервые адаптирована молекулярная патологическая классификация на основе соответствующей панели антител в редакции группы исследователей Lund к когорте молодых пациентов. Установлено, что у пациентов моло-

CONCLUSION

The results of this study have demonstrated a fairly good reproducibility of the main molecular subtypes of bladder cancer occurring in elderly patients. For the first time, the molecular pathological classification based on the corresponding antibody panel by the Lund Research Group has been adapted to the cohort of young patients. The urothelial-like A subtype of bladder cancer has been found to be significantly predominate in young patients (78%, $p = 0.005$). This aspect suggests a high genomic stability of tumors in young patients. Urothelial carcinomas in young patients are at an early pathological stage (pTa, pT1), characterized by a more favorable course, a low stage of malignancy compared to those in the older patient cohort. Among the urothelial carcinomas of young age a specific variant of cancer — urothelial-like CK5/6+/p16+, combining immunohistochemical features of basal/squamous-like and genomically unstable subtypes, tending to a more aggressive course and probably reflecting a different way of progression of some urothelial carcinomas at young age in contrast to bladder cancer of older patients, was revealed for the first time. According to our data, aggressive molecular subtypes, such as urothelial-like B, basal/squamous cell-like, genomically unstable, and mesenchymal-like, appear in patients over 30 years of age, and their frequency increases with age. The performed molecular profiling of bladder cancer in young patients showed its diagnostic significance, possibility of prognostic stratification and, therefore, reasonable practicality.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

дого возраста достоверно преобладает уротелиоподобный А подтип рака мочевого пузыря (78 %, $p = 0.005$). Этот аспект позволяет предположить высокую геномную стабильность опухолей у молодых пациентов. Уротелиальные карциномы у пациентов молодого возраста находятся на ранней патологической стадии (pTa, pT1), характеризуются более благоприятным течением, низкой степенью злокачественности по сравнению с таковыми в возрастной когорте пациентов. Среди уротелиальных карцином у лиц молодого возраста впервые выявлен специфический вариант рака — уротелиоподобный CK5/6+/p16+, сочетающий иммуногистохимические признаки базального/плоскоклеточно-подобного и геномно-нестабильного подтипов, имеющий тенденцию к

более агрессивному течению и, вероятно, отражающий иной путь прогрессии части уротелиальных карцином в молодом возрасте, в отличие от рака мочевого пузыря возрастных пациентов. По нашим данным агрессивные молекулярные подтипы, такие как уротелиоподобный В, базальный/плоскоклеточно-подобный, геномно-нестабильный, мезенхимально-подобный, появляются у пациентов старше 30 лет, а их частота увели-

чивается с возрастом. Выполненное молекулярное профилирование рака мочевого пузыря у молодых пациентов показало диагностическую значимость, возможность прогностической стратификационной оценки и, следовательно, практическую целесообразность.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Audenet F., Attalla K., Sfakianos J.P. The evolution of bladder cancer genomics: what have we learned and how can we use it? // *Urol. Oncol.* 2018. Vol. 36 (7). P. 313–320. doi: 10.1016/j.urolonc.2018.02.017.
2. Robertson A.G., Kim J., Al-Ahmadie H. et al. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer // *Cell*. 2017. Vol. 171 (3). P. 540–556. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.007.
3. Sjö Dahl G., Lövgren K., Lauss M. et al. Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma // *Am. J. Pathol.* 2013. Vol. 183 (3) P. 681–691. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.05.013.
4. Moch H., Humphrey P.A., Ulbright T.M., Reuter V.E. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2016. P. 77–112.
5. Eich M.L., Dyrskjot L., Netto G.J. Toward personalized management in bladder cancer: the promise of novel molecular taxonomy // *Virchows Arch.* 2017. Vol. 471 (2). P. 271–280. doi: 10.1007/s00428-017-2119-x.
6. Mongiat-Artus P., Miquel C., van der Aa M. et al. Infrequent microsatellite instability in urothelial cell carcinoma of the bladder in young patients // *Eur. Urol.* 2006. Vol. 49 (4). P. 685–690. doi: 10.1016/j.eururo.2005.11.024.
7. Wild P.J., Giedl J., Stoeck R. et al. Genomic aberrations are rare in urothelial neoplasms of patients 19 years or younger // *J. Pathol.* 2007. Vol. 211 (1). P. 18–25. doi: 10.1002/path.2075.
8. Williamson S.R., Wang M., Montironi R. et al. Molecular characteristics of urothelial neoplasms in children and young adults: a subset of tumors from young patients harbors chromosomal abnormalities but not *FGFR3* or *TP53* gene mutations // *Mod. Pathol.* 2014. Vol. 27. P. 1540–1548. doi: 10.1038/modpathol.2014.48.
9. Telli O., Sarici H., Ozgur B.C. et al. Urothelial cancer of bladder in young versus older adults: clinical and pathological characteristics and outcomes // *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2014. Vol. 30 (9). P. 466–470. doi: 10.1016/j.kjms.2014.02.017.
10. Sjö Dahl G., Eriksson P., Liedberg F., Höglund M. Molecular classification of urothelial carcinoma: global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification // *J. Pathol.* 2017. Vol. 242 (1). P. 113–125. doi: 10.1002/path.4886.
11. Lerner S.P., McConkey D.J., Hoadley K.A. et al. Bladder cancer molecular taxonomy: summary from a consensus meeting // *Bladder Cancer*. 2016. Vol. 2 (1). P. 37–47. doi: 10.3233/BLC-150037.

REFERENCES

1. Audenet F., Attalla K., Sfakianos J.P. (2018). The evolution of bladder cancer genomics: what have we learned and how can we use it? *Urol. Oncol.*, 36 (7), 313–320. doi: 10.1016/j.urolonc.2018.02.017.
2. Robertson A.G., Kim J., Al-Ahmadie H. et al. (2017). Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell*, 171 (3), 540–556. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.007.
3. Sjö Dahl G., Lövgren K., Lauss M. et al. (2013). Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma. *Am. J. Pathol.*, 183 (3), 681–691. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.05.013.
4. Moch H., Humphrey P.A., Ulbright T.M., Reuter V.E. (2016). *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. P. 77–112.
5. Eich M.L., Dyrskjot L., Netto G.J. (2017). Toward personalized management in bladder cancer: the promise of novel molecular taxonomy. *Virchows Arch.*, 471 (2), 271–280. doi: 10.1007/s00428-017-2119-x.
6. Mongiat-Artus P., Miquel C., van der Aa M. et al. (2006). Infrequent microsatellite instability in urothelial cell carcinoma of the bladder in young patients. *Eur. Urol.*, 49 (4), 685–690. doi: 10.1016/j.eururo.2005.11.024.
7. Wild P.J., Giedl J., Stoeck R. et al. (2007). Genomic aberrations are rare in urothelial neoplasms of patients 19 years or younger. *J. Pathol.*, 211 (1), 18–25. doi: 10.1002/path.2075.
8. Williamson S.R., Wang M., Montironi R. et al. (2014). Molecular characteristics of urothelial neoplasms in children and young adults: a subset of tumors from young patients harbors chromosomal abnormalities but not *FGFR3* or *TP53* gene mutations. *Mod. Pathol.*, 27, 1540–1548. doi: 10.1038/modpathol.2014.48.
9. Telli O., Sarici H., Ozgur B.C. et al. (2014). Urothelial cancer of bladder in young versus older adults: clinical and pathological characteristics and outcomes. *Kaohsiung J. Med. Sci.*, 30 (9), 466–470. doi: 10.1016/j.kjms.2014.02.017.
10. Sjö Dahl G., Eriksson P., Liedberg F., Höglund M. (2017). Molecular classification of urothelial carcinoma: global mRNA classification versus tumour-cell phenotype classification. *J. Pathol.*, 242 (1), 113–125. doi: 10.1002/path.4886.
11. Lerner S.P., McConkey D.J., Hoadley K.A. et al. (2016). Bladder cancer molecular taxonomy: summary from a consensus meeting. *Bladder Cancer*, (1), 37–47. doi: 10.3233/BLC-150037.

12. Hedegaard J., Lamy P., Nordentoft I. et al. Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma // *Cancer Cell*. 2016. Vol. 30 (1). P. 27–42. doi: 10.1016/j.ccell.2016.05.004.
13. Adam R.M., DeGraff D.J. Molecular mechanisms of squamous differentiation in urothelial cell carcinoma: a paradigm for molecular subtyping of urothelial cell carcinoma of the bladder // *Urol. Oncol.* 2015. Vol. 33. P. 444–450. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.06.006.
14. Kim K., Sung C.O., Park B.H. et al. Immunoprofile-based subgrouping of urothelial bladder carcinomas for survival prediction // *Hum. Pathol.* 2015. Vol. 46. P. 1464–1470. doi: 10.1016/j.humpath.2015.06.003.
15. Kamoun A., de Reinies A., Allory Y. et al. A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer // *Eur. Urol.* 2020. Vol. 77 (4). P. 420–433. doi: 10.1016/j.eururo.2019.09.006.
16. McConkey D.J., Choi W. Molecular subtypes of bladder cancer // *Curr. Oncol. Rep.* 2018. Vol. 20 (10). P. 77. doi: 10.1007/s11912-018-0727-5.
17. Warrick I.J., Knowles M.A., Yves A. et al. Report from the International Society of Urological Pathology (ISUP) Consultation Conference On Molecular Pathology Of Urogenital Cancers. II. Molecular Pathology of Bladder Cancer. Progress and Challenges // *Am. J. Surg. Pathol.* 2020. Vol. 44 (7). P. e30–e46. doi: 10.1097/PAS.0000000000001453.
18. TNM Classification of Malignant Tumours / ed. by J.D. Brierley, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind. 8th ed. Chichester, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., 2017. P. 204–207.
19. Caione P., Patruno G., Pagliarulo V. et al. Nonmuscular invasive urothelial carcinoma of the bladder in pediatric and young adult patients: age-related outcomes // *Urology*. 2017. Vol. 99. P. 215–220. doi: 10.1016/j.urolgy.2016.07.009.
20. Sjö Dahl G. Molecular subtype profiling of urothelial carcinoma using a subtype-specific immunohistochemistry panel // *Methods Mol. Biol.* 2018. Vol. 1655. P. 53–64. doi: 10.1007/978-1-4939-7234-0_5.
21. Yossepowitch O., Dalbagni G. Transitional cell carcinoma of the bladder in young adults: presentation, natural history and outcome // *J. Urol.* 2002. Vol. 168 (1). P. 61–66.
22. Nomikos M., Pappas A., Kopaka M.E. et al. Urothelial carcinoma of the urinary bladder in young adults: presentation, clinical behavior and outcome // *Adv. Urol.* 2011. Vol. 2011: 480738. doi: 10.1155/2011/480738.
23. Williamson S.R., Lopez-Beltran A., MacLennan G.T., Montironi R., Cheng L. Unique clinicopathologic and molecular characteristics of urinary bladder tumors in children and young adults // *Urol. Oncol.* 2013. Vol. 31 (14). P. 414–426. doi: 10.1016/j.urolonc.2010.08.003.
24. Saltsman J.A., Malek M.M., Reuter V.E. et al. Urothelial neoplasms in pediatric and young adult patients: a large single-center series // *J. Pediatr. Surg.* 2018. Vol. 53 (2). P. 306–309. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2017.11.024.
25. Gunlusoy B., Ceylan Y., Degirmenci T. et al. Urothelial bladder cancer in young adults: diagnosis, treatment and clinical behavior // *Can. Urol. Assoc. J.* 2015. Vol. 9 (9–10). P. E727–E730. doi: 10.5489/cuaj.3049.
26. Wang Q.H., Ji Z.G., Li H.Z. et al. Clinicopathologic comparison of urothelial bladder carcinoma in young
12. Hedegaard J., Lamy P., Nordentoft I. et al. (2016). Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma. *Cancer Cell*, 30 (1), 27–42. doi: 10.1016/j.ccell.2016.05.004.
13. Adam R.M., DeGraff D.J. (2015). Molecular mechanisms of squamous differentiation in urothelial cell carcinoma: a paradigm for molecular subtyping of urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urol. Oncol.*, 33, 444–450. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.06.006.
14. Kim K., Sung C.O., Park B.H. et al. (2015). Immunoprofile-based subgrouping of urothelial bladder carcinomas for survival prediction. *Hum. Pathol.*, 46, 1464–1470. doi: 10.1016/j.humpath.2015.06.003.
15. Kamoun A., de Reinies A., Allory Y. et al. (2020). A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur. Urol.*, 77 (4), 420–433. doi: 10.1016/j.eururo.2019.09.006.
16. McConkey D.J., Choi W. (2018). Molecular subtypes of bladder cancer. *Curr. Oncol. Rep.*, 20 (10), 77. doi: 10.1007/s11912-018-0727-5.
17. Warrick I.J., Knowles M.A., Yves A. et al. (2020). Report from the International Society of Urological Pathology (ISUP) Consultation Conference On Molecular Pathology Of Urogenital Cancers. II. Molecular Pathology of Bladder Cancer. Progress and Challenges. *Am. J. Surg. Pathol.*, 44 (7), e30–e46. doi: 10.1097/PAS.0000000000001453.
18. Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind C. (eds.) (2017). *TNM Classification of Malignant Tumours*. 8th ed. Chichester, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., 204–207.
19. Caione P., Patruno G., Pagliarulo V. et al. (2017). Non-muscular invasive urothelial carcinoma of the bladder in pediatric and young adult patients: age-related outcomes. *Urology*, 99, 215–220. doi: 10.1016/j.urolgy.2016.07.009.
20. Sjö Dahl G. (2018). Molecular subtype profiling of urothelial carcinoma using a subtype-specific immunohistochemistry panel. *Methods Mol. Biol.*, 1655, 53–64. doi: 10.1007/978-1-4939-7234-0_5.
21. Yossepowitch O., Dalbagni G. (2002). Transitional cell carcinoma of the bladder in young adults: presentation, natural history and outcome. *J. Urol.*, 168 (1), 61–66.
22. Nomikos M., Pappas A., Kopaka M.E. et al. (2011). Urothelial carcinoma of the urinary bladder in young adults: presentation, clinical behavior and outcome. *Adv. Urol.*, 2011: 480738. doi: 10.1155/2011/480738.
23. Williamson S.R., Lopez-Beltran A., MacLennan G.T., Montironi R., Cheng L. (2013). Unique clinicopathologic and molecular characteristics of urinary bladder tumors in children and young adults. *Urol. Oncol.*, 31 (14), 414–426. doi: 10.1016/j.urolonc.2010.08.003.
24. Saltsman J.A., Malek M.M., Reuter V.E. et al. (2018). Urothelial neoplasms in pediatric and young adult patients: a large single-center series. *J. Pediatr. Surg.*, 53 (2), 306–309. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2017.11.024.
25. Gunlusoy B., Ceylan Y., Degirmenci T. et al. (2015). Urothelial bladder cancer in young adults: diagnosis, treatment and clinical behavior. *Can. Urol. Assoc. J.*, 9 (9–10), E727–E730. doi: 10.5489/cuaj.3049.
26. Wang Q.H., Ji Z.G., Li H.Z. et al. (2016). Clinicopathologic comparison of urothelial bladder carcinoma in young and elder patients. *Pathol. Oncol. Res.*, 22 (1), 67–70. doi: 10.1007/s12253-015-9968-x.

- and elder patients // *Pathol. Oncol. Res.* 2016. Vol. 22 (1). P. 67–70. doi: 10.1007/s12253-015-9968-x.
27. Sen V., Bozkurt O., Demir O. et al. Clinical behavior of bladder urothelial carcinoma in young patients: a single center experience // *Scientifica (Cairo)*. 2016. Vol. 2016: 6792484. doi: 10.1155/2016/6792484.
 28. Paner G.P., Zehnder P., Amin A.M., Husain A.N., Desai M.M. Urothelial neoplasms of the urinary bladder occurring in young adult and pediatric patients: a comprehensive review of literature with implications for patient management // *Adv. Anat. Pathol.* 2011. Vol. 18 (1). P. 79–89. doi: 10.1097/PAP.0b013e318204c0cf.
 29. Weyerer V., Schneckenpointner R., Filbeck T. et al. Immunohistochemical and molecular characterizations in urothelial carcinoma of bladder in patients less than 45 years // *J. Cancer*. 2017. Vol. 8 (3). P. 323–331. doi: 10.7150/jca.17482.
 30. Sjö Dahl G., Eriksson P., Lövgren K. et al. Discordant molecular subtype classification in the basal-squamous subtype of bladder tumors and matched lymph-node metastases // *Mod. Pathol.* 2018. Vol. 31 (12). P. 1869–1881. doi: 10.1038/s41379-018-0096-5.
 31. Steinestel J., Cronauer M.V., Muller J. et al. Overexpression of p16^{INK4a} in urothelial carcinoma in situ is a marker for MAPK-mediated epithelial-mesenchymal transition but is not related to human papillomavirus infection // *PLoS One*. 2013. Vol. 8: e65189. doi: 10.1371/journal.pone.0065189.
 32. Rebouissou S., Herault A., Letouze E. et al. CDKN2A homozygous deletion is associated with muscle invasion in FGFR3-mutated urothelial bladder carcinoma // *J. Pathol.* 2012. Vol. 227. P. 315–324. doi: 10.1002/path.4017.
 33. Witkiewicz A.K., Knudsen K.E., Dicker A.P., Knudsen E.S. The meaning of p16^{ink4a} expression in tumors: functional significance, clinical associations and future developments // *Cell. Cycle*. 2011. Vol. 10 (15). P. 2497–2503. doi: 10.4161/cc.10.15.16776.
 34. Breyer J., Wirtz R.M., Erben P. et al. High CDKN2A/p16 and low FGFR3 expression predict progressive potential of stage pT1 urothelial bladder carcinoma // *Clin. Genit. Cancer*. 2018. Vol. 16 (4). P. 248–256. doi: 10.1016/j.clgc.2018.01.009.
 35. Alexander R.E., Hu Y., Kum J.B. et al. p16 expression is not associated with human papillomavirus in urinary bladder squamous cell carcinoma // *Mod. Pathol.* 2012. Vol. 25 (11). P. 1526–1533. doi: 10.1038/modpathol.2012.103.
 36. Wolff E.M., Liang G., Jones P.A. Mechanisms of disease: genetic and epigenetic alterations that drive bladder cancer // *Nat. Clin. Pract. Urol.* 2005. Vol. 2. P. 502–510. doi: 10.1038/ncpuro0318.
 27. Sen V., Bozkurt O., Demir O. et al. (2016). Clinical behavior of bladder urothelial carcinoma in young patients: a single center experience. *Scientifica (Cairo)*, 2016: 6792484. doi: 10.1155/2016/6792484.
 28. Paner G.P., Zehnder P., Amin A.M., Husain A.N., Desai M.M. (2011). Urothelial neoplasms of the urinary bladder occurring in young adult and pediatric patients: a comprehensive review of literature with implications for patient management. *Adv. Anat. Pathol.*, 18 (1), 79–89. doi: 10.1097/PAP.0b013e318204c0cf.
 29. Weyerer V., Schneckenpointner R., Filbeck T. et al. (2017). Immunohistochemical and molecular characterizations in urothelial carcinoma of bladder in patients less than 45 years. *J. Cancer*, 8 (3), 323–331. doi: 10.7150/jca.17482.
 30. Sjö Dahl G., Eriksson P., Lövgren K. et al. (2018). Discordant molecular subtype classification in the basal-squamous subtype of bladder tumors and matched lymph-node metastases. *Mod. Pathol.*, 31 (12), 1869–1881. doi: 10.1038/s41379-018-0096-5.
 31. Steinestel J., Cronauer M.V., Muller J. et al. (2013). Overexpression of p16^{INK4a} in urothelial carcinoma in situ is a marker for MAPK-mediated epithelial-mesenchymal transition but is not related to human papillomavirus infection. *PLoS One*, 8: e65189. doi: 10.1371/journal.pone.0065189.
 32. Rebouissou S., Herault A., Letouze E. et al. (2012). CDKN2A homozygous deletion is associated with muscle invasion in FGFR3-mutated urothelial bladder carcinoma. *J. Pathol.*, 227, 315–324. doi: 10.1002/path.4017.
 33. Witkiewicz A.K., Knudsen K.E., Dicker A.P., Knudsen E.S. (2011). The meaning of p16^{ink4a} expression in tumors: functional significance, clinical associations and future developments. *Cell. Cycle*, 10 (15), 2497–2503. doi: 10.4161/cc.10.15.16776.
 34. Breyer J., Wirtz R.M., Erben P. et al. (2018). High CDKN2A/p16 and low FGFR3 expression predict progressive potential of stage pT1 urothelial bladder carcinoma. *Clin. Genit. Cancer*, 16 (4), 248–256. doi: 10.1016/j.clgc.2018.01.009.
 35. Alexander R.E., Hu Y., Kum J.B. et al. (2012). p16 expression is not associated with human papillomavirus in urinary bladder squamous cell carcinoma // *Mod. Pathol.* 2012. Vol. 25 (11). P. 1526–1533. doi: 10.1038/modpathol.2012.103.
 36. Wolff E.M., Liang G., Jones P.A. (2005). Mechanisms of disease: genetic and epigenetic alterations that drive bladder cancer. *Nat. Clin. Pract. Urol.*, 2, 502–510. doi: 10.1038/ncpuro0318.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мещеряков Игорь Александрович — врач-патологоанатом ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

Крюков Кирилл Андреевич — врач-патологоанатом ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

ABOUT THE AUTHORS

Meshcheryakov Igor Aleksandrovich — Pathologist, St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic).

Kryukov Kirill Andreevich — Pathologist, St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic).

Mitin Nikolay Pavlovich — Doctor of Clinical and Laboratory Diagnostics, St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic).

Ponomareva Elena Vasilyevna — Pathologist, City Clinical Oncological Health Center (St. Petersburg).

Митин Николай Павлович — врач клинико-лабораторной диагностики ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

Пономарёва Елена Васильевна — врач-патологоанатом ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» (Санкт-Петербург).

Шелехова Ксения Владимировна — д-р мед. наук, профессор, заведующий патолого-анатомическим отделением ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»; заведующий кафедрой патологической анатомии ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт».

Образец цитирования: Мещеряков И.А., Крюков К.А., Митин Н.П., Пономарёва Е.В., Шелехова К.В. Молекулярные подтипы уротелиальных карцином мочевого пузыря у пациентов молодого возраста // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2021. № 3. С. 82–104.

Shelekhova Kseniya Vladimirovna — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Pathology Department, St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic); Head, Department of Pathological Anatomy, St. Petersburg Medico-Social Institute.

Citation example: Meshcheryakov I.A., Kryukov K.A., Mitin N.P., Ponomareva E.V., Shelekhova K.V. (2021). Molecular subtypes of urothelial carcinomas of the bladder in young patients. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 82–104.



Прогностическое значение ультразвуковой семиотики для выбора дальнейших диагностических процедур и методов лечения пациентов с абсцессами брюшной полости (обзор литературы)

Гречихина М.В.¹, Горбунов Н.А.², Дергилев А.П.²

¹ГБУЗ НСО «Клиническая консультативно-диагностическая поликлиника № 27» (Новосибирск)

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Forecasting importance of ultrasound semiotics for the choice of further diagnostic procedures and treatment methods for patients with abdominal abscesses (literature review)

Grechikhina M.V.¹, Gorbunov N.A.², Dergilev A.P.²

¹Consultative and Diagnostic Outpatient Clinic No. 27 (Novosibirsk)

²Novosibirsk State Medical University

АННОТАЦИЯ

Цель обзора — показать, что ультразвуковая картина при первичной диагностике может стать определяющей для планируемого обследования и лечения пациентов с абсцессами брюшной полости. В статье проведен анализ возможностей применения ультразвукового метода, описаны его достоинства и недостатки. Рассмотрены ключевые моменты, связанные с формированием ультразвуковой картины полостных образований различной этиологии и локализации, отличие их от патологических полостных образований гнойно-деструктивного характера. Определены основные ультразвуковые признаки абсцессов брюшной полости различной локализации, играющие ведущую роль в выборе дальнейшей тактики ведения пациента.

Ключевые слова: абсцесс, ультразвуковая диагностика, абсцесс печени, абсцесс селезенки, абсцесс поджелудочной железы, поддиафрагмальный абсцесс, подпеченочный абсцесс, аппендикулярный абсцесс.

ABSTRACT

The purpose of the review is to show that the ultrasound picture at the initial diagnosis can become decisive for the planned examination and treatment of patients with abdominal abscesses. The article analyzes the possibilities of using the ultrasound method, describes its advantages and disadvantages. The key points related to the formation of an ultrasound picture of cavity formations of various etiologies and localization, their difference from pathological cavity formations of a purulent-destructive nature are considered. The main ultrasound signs of abdominal abscesses of various localization, which play a leading role in the choice of further patient management tactics, are determined.

Keywords: abscess, ultrasound diagnostics, liver abscess, splenic abscess, pancreatic abscess, subdiaphragmatic abscess, subhepatic abscess, appendicular abscess.

Поступила 28.12.2020
Принята 05.08.2021

Автор, ответственный за переписку
Дергилев Александр Петрович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: a.dergilev@mail.ru

Received 28.12.2020
Accepted 05.08.2021

Corresponding author
Dergilev Aleksandr Petrovich: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: a.dergilev@mail.ru

Ультразвуковое исследование (УЗИ), или сонография, — один из наиболее информативных методов обнаружения целого ряда различных патологических образований. Будучи относительно недорогим, высокоинформативным, безопасным для персонала и пациентов, сонография является методом поиска, а иногда и методом выбора при большинстве патологических состояний различных органов и систем человеческого организма. Простота, возможность многократного проведения диагностической процедуры и высокая информативность метода обеспечивают ему несомненный приоритет при выборе первого диагностического шага [1–3]. Также на любом этапе есть возможность повторить ультразвуковое исследование с целью мониторингирования, равно как и использовать дуплексное сканирование при оценке состояния магистральных артерий и вен в зоне локализации образования. Чувствительность метода составляет, по данным разных авторов, 84.9–96.5 %, специфичность — 79.4–92.3 %, точность — 85.0–90.5 % [4–7]. Особую ценность имеет ультразвуковая семиотика при выборе дальнейших диагностических процедур и методов лечения пациентов.

Анализ изображений является основой постановки диагноза при всех лучевых исследованиях и невозможен без знания основ взаимодействия ультразвука с биологическими тканями и понимания принципов формирования эхографической картины. Знание общих принципов формирования ультразвуковой картины дает возможность правильно интерпретировать изображение, полученное на экране в режиме реального времени [8].

Основными понятиями и критериями в ультразвуковой диагностике образований брюшной полости являются:

- эхогенность. Формирующееся на экране изображение представляет собой визуальное отображение эхо-отраженных акустических сигналов в В-режиме [8];
- эхоструктура. Оценка структуры самого образования (содержимого в полости образования), отличие от структуры окружающих тканей;
- визуализация стенки, строение, контуры. Позволяют определить размеры образования, предположить наличие именно патологической полостной структуры, давность формирования образования, отграничение от окружающих тканей;
- локализация, количество;
- взаимоотношение с окружающими тканями. Возможная зона отека [9];
- оценка васкуляризации образования, кровотока в перифокальной зоне (наличие, степень

Ultrasound examination (ultrasound), or sonography, is one of the most informative methods for detecting a number of different pathological formations. Being relatively inexpensive, highly informative value, safe for staff and patients, sonography is a search method, and sometimes a method of choice for most pathological conditions of various organs and systems of the human body. The simplicity, the possibility of multiple diagnostic procedures and the high informative value of the method provide it with an undoubted priority when choosing the first diagnostic step [1–3]. Also, at any stage, it is possible to repeat the ultrasound examination for the purpose of monitoring, as well as to use duplex scanning to assess the condition of the main arteries and veins in the area of localization of the formation. According to various authors, the sensitivity of the method is 84.9–96.5%, specificity — 79.4–92.3%, accuracy — 85.0–90.5% [4–7]. Ultrasound semiotics is of particular value when choosing further diagnostic procedures and treatment methods.

Image analysis is the basis for diagnosis in all radiological examinations and is impossible without knowing the basics of the interaction of ultrasound with biological tissues and understanding the principles of the formation of an echographic picture. Knowledge of the general principles of ultrasonic pattern formation makes it possible to correctly interpret the image obtained on the screen in real time [8].

The main notions and criteria in ultrasound diagnostics of abdominal formations are:

- echogenicity. The image formed on the screen is a visual representation of the echo-reflected acoustic signals in the B-mode [8];
- echostructure. Assessment of the structure of the formation itself (the contents in the cavity of the formation), as opposed to the structure of the surrounding tissues;
- visualization of the wall, structure, contours. They allow us to determine the size of the formation, to assume the presence of a pathological cavity structure, the age of the formation, the separation from the surrounding tissues;
- localization, quantity;
- relationship with the surrounding tissues. Possible edema zone [9];
- assessment of vascularization of the formation, blood flow in the perifocal zone (presence, severity, nature of blood flow). The assessment of the presence of blood flow makes it possible to differentiate

выраженности, характер кровотока). Оценка наличия кровотока позволяет дифференцировать объемные образования и очаги иного происхождения, поскольку патологическая сеть возможна лишь в новообразованной ткани (или ткани вообще) и отсутствует в кистозных образованиях, абсцессах, гематомах, некротических фокусах (ишемические инфаркты) [4];

- наличие специфических артефактов (усиление, ослабление сигнала, акустическая тень, псевдоусиление, реверберация от пузырьков газа в полости образования) [9].

Есть некоторые особенности анализа изображения: наиболее часто искажение эхогенности различных структур наблюдается в результате наложения на изображения органов и тканей различных артефактов — акустических теней и зон псевдоусиления сигнала, которые, в сочетании с имеющимся изображением анатомических структур, могут создавать иллюзию диффузных или очаговых поражений. Возможность проанализировать «живое» изображение в большинстве случаев позволяет дифференцировать подобные артефакты и избегать диагностических ошибок. Однако трудности могут быть связаны не только с наличием специфических ультразвуковых артефактов. Искажение эхогенности изображения может в немалой мере зависеть от настроек ультразвукового сканера. Значительным достоинством ультразвукового исследования в реальном времени является его многоплоскостной характер. Эта особенность позволяет дифференцировать, к примеру, полостные структуры от трубчатых, неравномерное диффузное поражение — от очаговых образований [8].

Общими ультразвуковыми признаками полостных структур являются следующие:

- 1) низкая эхогенность содержимого. Структура однородная (при наличии однородной жидкости) или неоднородная (при наличии взвеси или примесей);

- 2) стенка значительно более эхогенна в сравнении с содержимым;

- 3) замкнутый контур стенки в любой плоскости сканирования;

- 4) наличие специфического артефакта — дистального псевдоусиления сигнала, «подсвечивающего» структуры, лежащие дистальнее изучаемого полостного образования [8].

Абсцессы представляют собой полостные структуры с плотной капсулой и гнойно-некротическим содержимым [2, 4–7, 10–14]. Ультразвуковая семиотика абсцессов позволяет в той или иной степени предположить дальнейшее «развитие со-

space-occupying formations and foci of other origin, since the pathological network is possible only in newly formed tissue (or tissue in general) and is absent in cystic formations, abscesses, hematomas, necrotic foci (ischemic infarcts) [4];

- presence of specific artifacts (enhancement, attenuation of the signal, acoustic shadow, false-enhancement, reverberation because of gas bubbles in the cavity of the formation) [9].

There are some features of image analysis: most often, the distortion of the echogenicity of various structures is observed as a result of the imposition of various artifacts on the images of organs and tissues — acoustic shadows and false-enhancement zones of the signal, which, in combination with the image of anatomical structures, can create the illusion of diffuse or focal lesions. The ability to analyze a “live” image in most cases allows to differentiate such artifacts and avoid diagnostic errors. However, difficulties may be associated not only with the presence of specific ultrasound artifacts. The distortion of the echogenicity may largely depend on the settings of the ultrasound scanner. A significant advantage of real-time ultrasound is its multiplanar nature. This feature makes it possible to differentiate, for example, cavity structures from tubular ones, and an uneven diffuse lesion from focal formations [8].

Common ultrasound signs of cavity structures are the following:

- 1) low echogenicity of the content. The structure is homogeneous (in the presence of a homogeneous liquid) or heterogeneous (in the presence of a suspension or impurities);

- 2) the wall is much more echogenic in comparison with the content;

- 3) closed contour of the wall in any scanning plane;

- 4) presence of a specific artifact — distal false-enhancement of the signal, highlighting the structures lying distal to the studied cavity formation [8].

Abscesses are cavity structures with a dense capsule and purulent-necrotic content [2, 4–7, 10–14]. Ultrasound semiotics of abscesses allows us to more or less assume the further “development of events”, to determine the necessary diagnostic procedures and treatment tactics. Abscesses, being a cavity pathological structure, do not have a pronounced differentiation of the shell. Unlike cavity non-purulent destructive formations, the capsule of abscesses with a small total wall thickness does not differentiate into layers, as a result of which the wall

бытий», определить необходимые диагностические мероприятия и тактику лечения. Абсцессы, являясь полостной патологической структурой, не имеют выраженной дифференцированности оболочки. В отличие от полостных образований не гнойно-деструктивного характера, капсула абсцессов при небольшой общей толщине стенки не дифференцируется на слои, вследствие чего стенка выглядит эхографически однородной. Также визуализация капсулы зависит от величины абсцесса [10]. При больших абсцессах стенка имеет значительную толщину и может представлять собой несколько недифференцируемых слоев [14]. При абсцессах небольших размеров капсула может вообще не определяться, эхографически полость визуализируется как образование, ограниченное окружающими тканями и органами [15].

Содержимое абсцесса эхографически может визуализироваться по-разному, в зависимости от его морфогистологического состава [2]. При гнойно-деструктивном процессе, наличии свища в полый орган и, как следствие, внутриполостных включений эхоструктура абсцесса неоднородна [9, 10]. Важно дифференцировать абсцессы брюшной полости от свободной внутрибрюшной жидкости, особенно в случаях, когда у небольших абсцессов не определяется капсула. Имея анэхогенное эхографическое изображение и отсутствие стенок полости, свободная внутрибрюшная жидкость отличается от абсцессов наличием легко перемещающейся эхогенной взвеси и легкой смещаемостью при перемене положения тела и надавливания датчиком [11, 15, 16].

Нечасто в полости абсцесса может встречаться газ [5, 7, 9, 14–17]. В таком случае пузыри газа всегда эхографически представляют собой гиперэхогенные структуры в полости образования, и в зависимости от количества скопления газа могут определяться ассоциированные дистальные артефакты, такие как акустические тени (для крупных газовых пузырей) и «хвост кометы» (для мелких пузырей газа) [8].

По форме внутрибрюшные абсцессы могут иметь различную УЗ характеристику. По данным В.А. Иванова и соавт. [18], чаще всего встречаются абсцессы неправильной формы, также их форма может быть овоидной, шаровидной, плащевидной и веретенообразной. По эхоструктуре чаще наиболее распространены гипоэхогенные и неоднородные абсцессы, реже — анэхогенные [18, 19]. Капсула по периферии абсцессов встречается в 36.5–44 % случаев [18].

Ультразвуковое исследование является ведущим методом диагностики абсцессов печени.

looks homogeneous. Also, the visualization of the capsule depends on the size of the abscess [10]. With large abscesses, the wall has a significant thickness and can consist of several undifferentiated layers [14]. With small abscesses, the capsule may not be determined at all, the cavity is visualized as a formation delimited by surrounding tissues and organs [15].

The content of the abscess can be visualized in different ways, depending on its morphohistological composition [2]. With a purulent-destructive process, the presence of a fistula in a hollow organ and, as a result, intracavitary inclusions, the echostructure of the abscess is heterogeneous [9, 10]. It is important to differentiate abdominal abscesses from free intra-abdominal fluid, especially in cases where the capsule is not determined in small abscesses. Having an non-echogenic echographic image and the absence of cavity walls, the intra-abdominal free fluid differs from abscesses by the presence of an easily moving echogenic suspension and easy displacement when changing the position of the body and pressure by the transducer [11, 15, 16].

Gas may occur infrequently in the cavity of the abscess [5, 7, 9, 14–17]. In this case, gas bubbles are always hyperechogenic structures in the cavity of the formation, and depending on the amount of gas accumulation, associated distal artifacts can be determined, such as acoustic shadows (for large gas bubbles) and the “comet tail” (for small gas bubbles) [8].

The shape of intra-abdominal abscesses can have different ultrasound characteristics. According to V.A. Ivanov et al. [18], abscesses of irregular shape are most often found, and their shape can also be ovoid, spherical, mantle-like and fusiform. According to the echostructure, hypoechogenic and heterogeneous abscesses are most common, and anechogenic abscesses are less common [18, 19]. A capsule on the periphery of abscesses occurs in 36.5–44% of cases [18].

Ultrasound is the leading method of diagnostics of liver abscesses. With the help of ultrasound diagnostics, it is possible to identify liver abscesses with a diameter of 0.3 to 2.0 cm, as well as to differentiate them from solid formations [12, 20]. Liver abscesses are more often single, less often multiple [4, 6, 7, 21]. They are located mostly in the right lobe, closer to the anterior surface [4, 6, 13, 22]. They are formations with a hypo-, non-echogenic or inhomogeneous structure, usually of irregular shape, often with an enhancement of the posterior wall and an internal sediment [17–19]. In the cavity of the abscess, an anecho-

С помощью методов ультразвуковой диагностики возможно выявить абсцессы печени диаметром от 0.3 до 2.0 см, а также дифференцировать их от солидных образований [12, 20]. Абсцессы печени бывают чаще одиночными, реже множественными [4, 6, 7, 21]. Располагаются большей частью в правой доле, ближе к передней поверхности [4, 6, 13, 22]. Представляют собой образования с гипо-, анэхогенной или неоднородной структурой обычно неправильной формы, часто с усилением задней стенки и внутренним осадком [17–19]. В полости абсцесса может определяться анэхогенный центр вследствие разжижения, а также гетерогенные участки [6, 15, 17]. В зависимости от стадии формирования акустическая картина абсцесса может изменяться.

Помимо характерных признаков (эффекты усиления задней стенки, боковые акустические тени, дистальное псевдоусиление) наблюдаются специфичные признаки:

- разделение полости абсцесса с образованием границы «жидкость — жидкость»;
- возможное появление пузырьков газа в полости абсцесса в виде гиперэхогенных структур, располагающихся у верхней стенки и дающих комусообразный эффект («хвост кометы»);
- перемещение всего внутреннего содержимого при изменении положения тела;
- формирование четкого отграничения полости абсцесса от окружающей паренхимы печени в виде неоднородного ободка повышенной эхогенности различной толщины — от 0.5–1 до 10–15 мм [16].

Можно выделить три стадии формирования внутрипеченочного абсцесса, в зависимости от которых возможны три варианта акустической картины абсцесса печени [15]:

1. В ранние сроки стадия инфильтрации представлена на изображении образованием в печеночной ткани неоднородного фрагмента паренхимы повышенной эхогенности с бесструктурным гипозоногенным участком внутри.
2. В течение недели стадия некроза характеризуется формированием в инфильтративном участке гнойной полости без четких границ с гипозоногенным, чаще гетерогенным содержимым. В прилежащей к абсцессу ткани печени сохраняются признаки умеренно выраженного перифокального воспаления.
3. В более поздние сроки на стадии хронизации по контуру гнойной полости появляется толстая плотная пиогенная капсула. УЗ картина хронического абсцесса печени представлена очаговым образованием с четкими контурами, гипо-

зоногенный центр может быть определен из-за коллапса, а также гетерогенные участки [6, 15, 17]. В зависимости от стадии формирования, акустическая картина абсцесса может изменяться.

В дополнение к характерным признакам (эффекты усиления задней стенки, боковые акустические тени, дистальное псевдоусиление), специфичные признаки наблюдаются:

- разделение полости абсцесса с образованием границы «жидкость — жидкость»;
- возможное появление пузырьков газа в полости абсцесса в виде гиперэхогенных структур, располагающихся у верхней стенки и дающих конусообразный эффект («хвост кометы»);
- перемещение всего внутреннего содержимого при изменении положения тела;
- формирование четкого отграничения полости абсцесса от окружающей паренхимы печени в виде неоднородного ободка повышенной эхогенности различной толщины — от 0.5–1 до 10–15 мм [16].

Существуют три стадии формирования интрапеченочного абсцесса, в зависимости от которых возможны три варианта акустической картины абсцесса печени [15]:

1. В ранние сроки стадия инфильтрации представлена на изображении образованием в печеночной ткани неоднородного фрагмента паренхимы повышенной эхогенности с бесструктурным гипозоногенным участком внутри.
2. В течение недели стадия некроза характеризуется формированием в инфильтративном участке гнойной полости без четких границ с гипозоногенным, чаще гетерогенным содержимым. В прилежащей к абсцессу ткани печени сохраняются признаки умеренно выраженного перифокального воспаления.
3. В более поздние сроки на стадии хронизации по контуру гнойной полости появляется толстая плотная пиогенная капсула. УЗ картина хронического абсцесса печени представлена очаговым образованием с четкими контурами, гипо-

зоногенный центр может быть определен из-за коллапса, а также гетерогенные участки [6, 15, 17]. В зависимости от стадии формирования, акустическая картина абсцесса может изменяться.

эхогенным содержимым и толстой обозначенной эхогенной оболочкой с признаками кровотока. Иногда в капсуле абсцесса визуализируются кальцинированные включения. Одним из путей обратного развития абсцесса может быть формирование в печени очага обызвествления.

Важное значение имеет дифференциальная диагностика абсцессов печени и полостных образований не гнойно-воспалительного характера. УЗ исследования позволяют определить характерные специфические признаки абсцессов бактериальной этиологии и паразитарного происхождения и абсцессов, образовавшихся в результате нагноения новообразований печеночной ткани и абсцедирования посттравматических гематом. По данным различных авторов наиболее часто внутрибрюшные абсцессы встречаются у пациентов после операций на желчных путях и толстой кишке, при закрытой травме живота, после аппендэктомии по поводу деструктивного аппендицита, после операций на желудке и тонкой кишке [2, 5–7, 11, 14, 19, 20, 21, 23].

УЗ картина посттравматических абсцессов печени представляет собой одно или несколько образований разных размеров неправильной формы, с нечетким неровным контуром, эхонегативных в центре и с повышенной эхогенностью за счет перифокального воспаления на периферии. Полость абсцесса имеет неоднородную акустическую картину за счет наличия в просвете гиперэхогенных или гиперэхогенных полиморфных включений — тканевого детрита, секвестров печеночной ткани, сгустков фибрина [6, 20, 24]. Эхографическая картина имеет определенную динамику, связанную с характером травмы, со временем существования гематомы и возможным повторяющимся поступлением свежей крови [11]. Как правило, гематомы располагаются вдоль условной линии удара ближе к поверхностным участкам паренхимы, часто вплотную к капсуле печени [16].

Внутрипеченочные кисты, как правило, являются асимптомными и не имеют выраженной клинической картины гнойного очага в печени [9]. Эхографически кисты печени обнаруживаются в любых отделах печени, могут быть множественными или солитарными, имеют четкие границы и анэхогенное содержимое (кроме паразитарных кист, имеющих гетерогенную акустическую картину) [9, 12, 16, 17, 25, 26].

Визуализация поддиафрагмальных, подпеченочных и других внеорганных абсцессов может быть снижена из-за затрудненного анатомического доступа, глубоко расположенного интере-

plasms of hepatic tissue and abscessing of post-traumatic hematomas. According to various authors, intra-abdominal abscesses are most often found in patients after surgery for the biliary tract and colon, a closed abdominal injury, after appendectomy for destructive appendicitis, after surgery for the stomach and small intestine [2, 5–7, 11, 14, 19, 20, 21, 23].

The ultrasound picture of post-traumatic liver abscesses is one or more irregularly shaped formations of different sizes, with an indistinct uneven contour, non-echogenic in the center and with increased echogenicity due to perifocal inflammation on the periphery. The abscess cavity has an inhomogeneous acoustic picture due to the presence of hyperisoechogenic or hyperechogenic polymorphic inclusions in the lumen — cellular detritus, liver tissue sequesters, fibrin clots [6, 20, 24]. The echographic picture has a certain dynamics associated with the nature of the injury, with the time of existence of the hematoma and the possible repeated supply of blood [11]. As a rule, hematomas are located along the conditional line of impact closer to the surface areas of the parenchyma, often close to the liver capsule [16].

Intrahepatic cysts, as a rule, are asymptomatic and do not have a pronounced clinical picture of a purulent focus in the liver [9]. Echographically, liver cysts are found in any parts of the liver, can be multiple or solitary, have clear boundaries and non-echogenic content (except for parasitic cysts that have a heterogeneous acoustic picture) [9, 12, 16, 17, 25, 26].

Visualization of subdiaphragmatic, subhepatic and other extraorgan abscesses may be decreased due to difficult anatomical access, a deeply located formation of interest [23]. In right-sided subdiaphragmatic abscesses, a non-echogenic homogeneous formation with a clearly defined shell is detected between the liver and the right hemidiaphragm [1]. In left-sided abscesses, a similar acoustic pattern is observed subdiaphragmally in the area of the pancreas, spleen and lesser sac. Chronic subdiaphragmatic abscesses may have an indistinct contour and a non-homogeneous echostructure [25]. Subhepatic abscesses are usually irregular formations located between the lower surface of the liver and the intestinal loops, the right kidney, with an unexpressed shell and a non-echogenic or heterogeneous structure of the content with an internal sediment [25].

If an echocardiographic picture of a subdiaphragmatic abscess is detected, it is advisable to conduct an

сующего образования [23]. При правосторонних поддиафрагмальных абсцессах между печенью и правым куполом диафрагмы обнаруживается анэхогенное однородное образование с четко очерченной оболочкой [1]. При левосторонних абсцессах похожая акустическая картина наблюдается поддиафрагмально в области поджелудочной железы, селезенки и сальниковой сумки. Хронические поддиафрагмальные абсцессы могут иметь нечеткий контур и неоднородную эхо-структуру [25]. Подпеченочные абсцессы обычно представляют собой неправильной формы образования, расположенные между нижней поверхностью печени и петлями кишечника, правой почкой, с невыраженной оболочкой и анэхогенной или гетерогенной структурой содержимого с внутренним осадком [25].

При обнаружении эхокартины поддиафрагмального абсцесса целесообразно провести исследование контралатерального поддиафрагмального пространства для исключения двухсторонних поддиафрагмальных абсцессов. Также в таком случае следует исследовать печень и плевральные полости для выявления сопутствующего плеврального выпота или прорыва абсцесса и делокализации гнойного инфекционного процесса [23, 25].

Абсцессы прочей внеорганической перитонеальной локализации представлены образованиями неправильной, овоидной, шаровидной, плащевидной и веретенообразной формы, располагающимися в любой части брюшной полости. Эхо-структура может быть анэхогенной или гетерогенной, с выраженной капсулой. Особенно настороженными в поиске абсцессов следует быть при наличии у пациента болезни Крона и дивертикулов толстой кишки [3]. У 15–20 % пациентов, страдающих дивертикулезом ободочной кишки, наблюдаются осложнения (околокишечный инфильтрат, перфоративный дивертикулит с абсцессами брюшной полости различной локализации и перитонитом) [2, 7, 23]. При экстренной диагностике приоритет отдается ультразвуковому исследованию [27].

Периаппендикулярный абсцесс можно визуализировать в косом сечении в нижней части живота: он представляет собой полость с выраженной капсулой соответствующей локализации, содержащей гипозэхогенное содержимое с гетерогенными включениями — фрагментами лизированного аппендикса [25]. Согласно N. D'Souza et al. [24], чувствительность и специфичность УЗИ (при подозрении на аппендицит) по литературным данным выше, чем результаты, наблюдаемые клиницистами в повседневной практике.

examination of the contralateral subphrenic space to exclude bilateral subdiaphragmatic abscesses. Also, in this case, the liver and pleural cavities should be examined to detect concomitant pleural effusion or abscess breakthrough and delocalization of the purulent infectious process [23, 25].

Abscesses of other extraorgan peritoneal localization are represented by irregular, ovoid, spherical, mantle-like and fusiform formations located in any part of the abdominal cavity. The echostructure can be non-echogenic or heterogeneous, with a pronounced capsule. Especially cautious in the search for abscesses should be if the patient has Crohn's disease and diverticula of the colon [3]. 15–20% of patients suffering from colonic diverticular disease have complications (peritoneal infiltrate, perforated diverticulitis with abdominal abscesses of various localization and peritonitis) [2, 7, 23]. In case of emergency diagnosis, priority is given to ultrasound examination [27].

A periappendicular abscess can be visualized in an oblique section in the lower abdomen: it is a cavity with a pronounced capsule of the appropriate localization with hypoechogenic content with heterogeneous inclusions — fragments of a lysed vermiform appendix [25]. According to N. D'Souza et al. [24], the sensitivity and specificity of ultrasound (in case of suspected appendicitis) according to the literature data is higher than the results observed by clinicians in everyday practice.

Splenic abscesses are rare, they have a diverse somomorphology, which partly depends on the duration of their existence and etiology [2, 28–30]. Usually, splenic abscesses have an irregular shape with an uneven contour, a hypoechogenic or heterogeneous structure, and occasionally they can fill almost the entire spleen. As a rule, abscesses are visualized as solid formations, but sometimes they can resemble cystic structures with septa [16].

Pancreatic abscesses have an irregular shape and heterogeneous echostructure and combined echogenicity, often associated with severe pancreatitis [2]. Abscessing occurs at the site of a massive infiltration in the pancreas area, and not only the pancreas itself, but also the parapancreatic retroperitoneal adipose tissue and surrounding organs are involved in the inflammatory process. At the same time, characteristic non-echogenic fluid-containing areas with an echogenic suspension appear, giving the effect of distal false-enhancement [31]. It is important to differentiate abscesses from other abdominal formations of the pancreas [32–34]. Pan-

Абсцессы селезенки встречаются редко, имеют разнообразную сономорфологию, которая частично зависит от длительности их существования и этиологии [2, 28–30]. Обычно селезеночные абсцессы имеют неправильную форму с неровным контуром, гипоэхогенную или неоднородную структуру, изредка могут заполнять практически всю селезенку. Как правило, абсцессы визуализируются в виде солидных образований, но иногда могут напоминать кистозные структуры с перегородками [16].

Абсцессы поджелудочной железы имеют неправильную форму и неоднородную эхоструктуру и смешанную экзогенность, часто связаны с выраженным панкреатитом [2]. Абсцедирование возникает в месте массивного инфильтрата в зоне поджелудочной железы, а в воспалительный процесс вовлекается не только сама поджелудочная железа, но и парапанкреатическая забрюшинная жировая клетчатка и окружающие органы. При этом появляются характерные эхонегативные содержащие жидкость участки с экзогенной взвесью, дающие эффект дистального псевдоусиления [31]. Важно дифференцировать абсцессы от других полостных образований поджелудочной железы [32–34]. Кисты поджелудочной железы, как правило, солитарные, имеют ровные контуры и гомогенную анэхогенную структуру, встречаются редко. Псевдокисты могут быть как единичными, так и множественными, могут обнаруживаться в любой части брюшной полости, смещаясь от поджелудочной железы. Псевдокисты — исход острого панкреатита или травматического повреждения, но могут возникать и после оперативных вмешательств на поджелудочной железе и диагностических пункций [32]. Они формируются в результате некротических изменений паренхимы и представляют собой не имеющее собственной капсулы скопление межтканевой жидкости, панкреатического сока, продуктов некроза ткани железы и ее фрагментов, иногда крови. Стенкой псевдокисты на первом этапе служат окружающие органы и ткани. Впоследствии формируется ложная капсула [16]. Иногда полость таких жидкостных скоплений может иметь тонкие перегородки, что не позволяет исключить опухолевое поражение, особенно при регистрации кровотока в перемычках кистоподобных образований [4].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клинически значимыми эхографическими характеристиками абсцессов брюшной полости,

creatic cysts, as a rule, are solitary, have smooth contours and a homogeneous non-echogenic structure, are rare. Pseudocysts can be either single or multiple, they can be found in any part of the abdominal cavity, moving away from the pancreas. Pseudocysts are the outcome of acute pancreatitis or traumatic injury, but they can also occur after surgical interventions for the pancreas and diagnostic punctures [32]. They are formed as a result of necrotic changes in the parenchyma and represent an accumulation of interstitial fluid, pancreatic juice, products of necrosis of the gland tissue and its fragments, sometimes blood, that does not have its own capsule. The pseudocyst wall at the first stage is the surrounding organs and tissues. Subsequently, a false capsule is formed [16]. Sometimes the cavity of such fluid accumulations may have thin septa, which does not allow to exclude a tumor lesion, especially when detecting blood flow in the bridges of cyst-like formations [4].

CONCLUSION

Clinically significant echographic characteristics of abdominal abscesses, which make it possible to distinguish them from other abdominal formations that do not require treatment measures (medical interventions), are, first of all, localization, number and size, mono- or multilocularity [35], echogenicity of the capsule and the content of abscesses, the presence and nature of inclusions and acoustic artifacts (shadow, distal enhancement, etc.), which allows determining the need for further examination, a possible method of surgical treatment [2, 7, 9, 13, 22, 30, 36, 37].

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

позволяющими отличить их от других, не требующих лечебных мероприятий (медицинских вмешательств) полостных образований, являются, в первую очередь, локализация, количество и размеры, моно- или мультилокулярность [35], экзогенность капсулы и содержимого абсцессов, наличие и характер включений и акустических артефактов (тень, дистальное усиление и др.), что позволяет определить необходимость дальнейшего обследования, возможный метод инвазивного лечения [2, 7, 9, 13, 22, 30, 36, 37].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутырский А.Г., Шерендак С.А., Хилько С.С. и др. Поддиафрагмальные абсцессы: сегодня и завтра // Вестн. неотложной и восстановит. хирургии. 2017. Т. 2, № 4. С. 371–376.
2. Dietrich C.F., Lorentzen T., Appelbaum L. et al. EFSUMB Guidelines on Interventional Ultrasound (INVUS), Part III — abdominal treatment procedures (Long Version) // *Ultraschall Med.* 2016. Vol. 37 (1). P. 1–32.
3. Tsai M.S., Lee H.M., Hsin M.C. et al. Increased risk of pyogenic liver abscess among patients with colonic diverticular diseases: a nationwide cohort study // *Medicine (Baltimore)*. 2015. Vol. 94 (49): e2210.
4. Khim G., Em S., Mo S., Townell N. Liver abscess: diagnostic and management issues found in low resource setting // *Br. Med. Bull.* 2019. Vol. 132 (1). P. 45–52.
5. Васильева А.А., Емельянова Н.Б., Хайдукова И.В. Ультразвуковая диагностика абсцессов печени и подпеченочного пространства // Вестн. Челябинской областной клин. больницы. 2017. № 3 (37). С. 18–21.
6. Бушланов П.С., Мерзликин Н.В., Семичев Е.В., Цхай В.Ф. Современные тенденции в лечении абсцессов печени // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. 2018. Т. 177, № 6. С. 87–90.
7. Mavilia M.G., Molina M., Wu G.Y. The evolving nature of hepatic abscess: a review // *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2016. Vol. 4 (2). P. 158–168.
8. Зорин Я.П., Бойцова М.Г., Карпова Н.А. Основы анализа ультразвукового изображения. Часть 2 // Лучевая диагностика и терапия. 2015. № 1 (6). С. 88–93.
9. Morii K., Yamamoto T., Nakamura S., Okushin H. Infectious hepatic cyst: an underestimated complication // *Intern. Med.* 2018. Vol. 57 (15). P. 2123–2129.
10. Вилсон Дж.И. Ультразвуковое исследование в диагностике посттравматических абсцессов печени и контроле мини-инвазивных лечебных вмешательств // Травма. 2016. Т. 17, № 1. С. 116–120.
11. Имамова А.М., Красильников Д.М., Бородин М.А., Спиридонов С.И., Малова И.И. Чрескожные пункционные и дренирующие операции у пациентов с ранними послеоперационными абдоминальными осложнениями // *Практ. медицина*. 2017. № 6 (107). С. 41–45.
12. Barosa R., Pinto J., Caldeira A., Pereira E. Modern role of clinical ultrasound in liver abscess and echinococcosis // *J. Med. Ultrason.* 2017. Vol. 44. P. 239–245.
13. Cai Y.L., Xiong X.Z., Lu J. et al. Percutaneous needle aspiration versus catheter drainage in the management of liver abscess: a systematic review and meta-analysis // *HPB (Oxford)*. 2015. Vol. 17 (3). P. 195–201.
14. Lardiere-Deguelte S., Ragot E., Amroun K. et al. Hepatic abscess: Diagnosis and management // *J. Visc. Surg.* 2015. Vol. 152 (4). P. 231–243.
15. Альперович Б.И. Хирургия печени. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 352 с.
16. Практическое руководство по ультразвуковой диагностике. Общая ультразвуковая диагностика / под ред. В.В. Митькова. 2-е изд. М.: Видар-М, 2008. 698 с.
17. Хофер М. Ультразвуковая диагностика: Базовый курс. М.: Мед. лит., 2006. 104 с.

REFERENCES

1. Butyrsky A.G., Sherendak S.A., Khilko S.S. et al. (2017). Subdiaphragmatic abscesses: today and tomorrow. *Bull. of Urgent and Recovery Surgery*, 2 (4), 371–376. In Russ.
2. Dietrich C.F., Lorentzen T., Appelbaum L. et al. (2016). EFSUMB Guidelines on Interventional Ultrasound (INVUS), Part III — abdominal treatment procedures (Long Version). *Ultraschall Med.*, 37 (1), 1–32.
3. Tsai M.S., Lee H.M., Hsin M.C. et al. (2015). Increased risk of pyogenic liver abscess among patients with colonic diverticular diseases: a nationwide cohort study. *Medicine (Baltimore)*, 94 (49), e2210.
4. Khim G., Em S., Mo S., Townell N. (2019). Liver abscess: diagnostic and management issues found in low resource setting. *Br. Med. Bull.*, 132 (1), 45–52.
5. Vasilyeva A.A., Emelyanova N.B., Haydukova I.V. (2017). Ultrasound diagnostics of abscesses of the liver and subhepatic space. *Bull. of the Chelyabinsk Regional Clinical Hospital*, 3 (37), 18–21.
6. Bushlanov P.S., Merzlikin N.V., Semichev E.V., Tskhai V.F. (2018). Current trends in the treatment of liver abscesses. *Grekov's Bulletin of Surgery*, 177 (6), 87–90.
7. Mavilia M.G., Molina M., Wu G.Y. (2016). The evolving nature of hepatic abscess: a review. *J. Clin. Transl. Hepatol.*, 4 (2), 158–168.
8. Zorin Ya.P., Boytsova M.G., Karpova N.A. (2015). Basics of the ultrasound images analysis. Part 2. *Diagnostic Radiology and Radiotherapy*, 1 (6), 88–93.
9. Morii K., Yamamoto T., Nakamura S., Okushin H. (2018). Infectious hepatic cyst: an underestimated complication. *Intern. Med.*, 57 (15), 2123–2129.
10. Wilson J.I. (2016). Ultrasonography in the diagnosis of posttraumatic liver abscesses and control of minimally invasive therapeutic interventions. *Trauma*, 17 (1), 116–120. In Russ.
11. Imamova A.M., Krasilnikov D.M., Borodin M.A., Spiridonov S.I., Malova I.I. (2017). Transcutaneous puncture and drainage operations in patients with early postoperative abdominal complications. *Practical Medicine*, 6 (107), 41–45.
12. Barosa R., Pinto J., Caldeira A., Pereira E. (2017). Modern role of clinical ultrasound in liver abscess and echinococcosis. *J. Med. Ultrason*, 44, 239–245.
13. Cai Y.L., Xiong X.Z., Lu J. et al. (2015). Percutaneous needle aspiration versus catheter drainage in the management of liver abscess: a systematic review and meta-analysis. *HPB (Oxford)*, 17 (3), 195–201.
14. Lardiere-Deguelte S., Ragot E., Amroun K. et al. (2015). Hepatic abscess: Diagnosis and management. *J. Visc. Surg.*, 152 (4), 231–243.
15. Alperovich B.I. (2013). *Liver Surgery*. Moscow: GEOTAR-Media, 352 p. In Russ.
16. Mit'kov V.V. (ed.) (2008). *Practical Guide to Ultrasound Diagnostics. General Ultrasound Diagnostics*. 2nd ed. Moscow: Vidar-M, 698 p. In Russ.
17. Hofer M. (2006). *Ultrasound Diagnostics: Basic Course*. Moscow: Med. Lit., 104 p. In Russ.
18. Ivanov V.A., Denisov A.E., Sundushnikova N.V., Malushenko R.N. (2014). Mini invasive ultrasound-guided interventions for treatment postoperative complications. *Koloproktologia*, 1 (47), 42–47.

18. Иванов В.А., Денисов А.Е., Сундушникова Н.В., Малушенко Р.Н. Миниинвазивные вмешательства под контролем ультразвукового исследования у послеоперационных больных // Колопроктология. 2014. № 1 (47). С. 42–47.
19. Дзидзава И.И., Котив Б.Н., Апполонов А.А. и др. Минимально инвазивные хирургические технологии в лечении холангиогенных абсцессов печени // Здоровье. Мед. экология. Наука. 2017. № 2 (69). С. 22–27.
20. Костюченко М.В. Посттравматические абсцессы печени: возможности миниинвазивных методов диагностики и лечения // Хирургия. Прил. к журн. Consilium Medicum. 2016. № 1. С. 20–23.
21. Akhondi H., Sabih D.E. Liver abscess // StatPearls. 2020. URL: <https://www.starpearls.com/articlelibrary/viewarticle/24361/>. Дата обращения: 21.01.2021.
22. Vardakostas D., Damaskos C., Garmpis N. et al. Minimally invasive management of hepatic cysts: indications and complications // Eur. Med. Pharmacol. Sci. 2018. Vol. 22 (5). P. 1387–1396.
23. Morita S., Kamimura K., Suda T. et al. Endoscopic ultrasound-guided transmural drainage for subphrenic abscess: report of two cases and a literature review // BMC Gastroenterol. 2018. Vol. 18: 55.
24. D'Souza N., D'Souza C., Grant D., Royston E., Farouk M. The value of ultrasonography in the diagnosis of appendicitis // Int. J. Surg. 2015. Vol. 13. P. 165–169.
25. Руководство по ультразвуковой диагностике / под ред. П.Е.С. Палмера. М., 2000. С. 334.
26. Barbier L., Lagadek M., Dokmak S. et al. Liver cysts and abscesses // Rev. Prat. 2015. Vol. 65 (9). P. 1183–1187.
27. Sugi M.D., Sun D.C., Menias Ch.O., Prabhu V., Choi H.H. Acute diverticulitis: Key features for guiding clinical management // Eur. J. Radiol. 2020. Vol. 128: 109026.
28. Davido B., Dinh A., Rouveix E. et al. Splenic abscesses: From diagnosis to therapy // Rev. Med. Interne. 2017. Vol. 38 (9). P. 614–618.
29. Хажалиев В.А., Айсханов С.К., Лечиев И.У., Хажалиев Р.В. Дифференциальная диагностика и хирургическая тактика между абсцессом селезенки и опухолевым образованием // Материалы конф. проф.-препод. состава, посвященной 80-летию Чеченского гос. ун-та. Грозный, 2018. С. 121–123.
30. Lotfollahzadeh S., Mathew G., Zemaitis M.R. Splenic abscess // StatPearls. 2020. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519546/>. Дата обращения: 21.01.2021.
31. Мороз О.В., Степанова Ю.А., Кулезнёва Ю.В., Кубышкин В.А. Минимально инвазивное лечение гнойно-некротических осложнений деструктивного панкреатита // Мед. визуализация. 2014. № 4. С. 32–41.
32. Kadiyala V., Lee L.S. Endosonography in the diagnosis and management of pancreatic cysts // World. J. Gastrointest Endosc. 2015. Vol. 7 (3). P. 213–223.
33. Lee L.S. Diagnostic approach to pancreatic cysts // Curr. Opin. Gastroenterol. 2014. Vol. 30 (5). P. 511–517.
34. Chiang A.L., Lee L.S. Clinical approach to incidental pancreatic cysts // World. J. Gastroenterol. 2016. Vol. 22 (3). P. 1236–1245.
35. Dżidżawa I.I., Kotiv B.N., Appolonov A.A. et al. (2017). Minimallyinvasive surgical techniques in the treatment of cholangiogenic liver abscesses. *Health. Medical Ecology. Science*, 2 (69), 22–27.
36. Kostyuchenko M. V. (2016). Post-traumatic abscesses of the liver: the possibility of minimally invasive methods of diagnosis and treatment. *Surgery. Consilium Medicum*, 1, 20–23.
37. Akhondi H., Sabih D.E. (2020). Liver abscess. *StatPearls*. Retrieved on Jan. 21, 2021 from URL: <https://www.starpearls.com/articlelibrary/viewarticle/24361/>.
38. Vardakostas D., Damaskos C., Garmpis N. et al. (2018). Minimally invasive management of hepatic cysts: indications and complications. *Eur. Med. Pharmacol. Sci.*, 22 (5), 1387–1396.
39. Morita S., Kamimura K., Suda T. et al. (2018). Endoscopic ultrasound-guided transmural drainage for subphrenic abscess: report of two cases and a literature review. *BMC Gastroenterol.*, 18: 55.
40. D'Souza N., D'Souza C., Grant D., Royston E., Farouk M. (2015). The value of ultrasonography in the diagnosis of appendicitis. *Int. J. Surg.*, 13, 165–169.
41. Palmer P.E.S. (ed.) (2000). *Manual on Ultrasound Diagnostics*. Moscow, 334 p. In Russ.
42. Barbier L., Lagadek M., Dokmak S. et al. (2015). Liver cysts and abscesses. *Rev. Prat.*, 65 (9), 1183–1187.
43. Sugi M.D., Sun D.C., Menias Ch.O., Prabhu V., Choi H.H. (2020). Acute diverticulitis: Key features for guiding clinical management. *Eur. J. Radiol.*, 128: 109026.
44. Davido B., Dinh A., Rouveix E. et al. (2017). Splenic abscesses: From diagnosis to therapy. *Rev. Med. Interne.*, 38 (9), 614–618.
45. Khazhaliev V.A., Aiskhanov S.K., Lechiev I.U., Khazhaliev R.V. (2018). Differential diagnosis and surgical tactics between spleen abscess and tumor-like formation. Materials of the Conference of the teaching staff dedicated to the 80th anniversary of the Chechen State University. Grozny, pp. 121–123. In Russ.
46. Lotfollahzadeh S., Mathew G., Zemaitis M.R. (2020). Splenic abscess. *StatPearls*. Retrieved Jan 21, 2021 from URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519546/>.
47. Moroz O.V., Stepanova Yu.A., Kuleznyova Yu.V., Kubyshev V.A. (2014). Percutaneous interventions with necrotic suppurative complications of pancreatonecrosis. *Med. Visualization*, 4, 32–41.
48. Kadiyala V., Lee L.S. (2015). Endosonography in the diagnosis and management of pancreatic cysts. *World. J. Gastrointest Endosc.*, 7 (3), 213–223.
49. Lee L.S. (2014). Diagnostic approach to pancreatic cysts. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 30 (5), 511–517.
50. Chiang A.L., Lee L.S. (2016). Clinical approach to incidental pancreatic cysts. *World. J. Gastroenterol.*, 22 (3), 1236–1245.
51. Haider S.J., Tarulli M., McNulty N.J., Hoffer E.K. (2017). Liver abscesses: factors that influence outcome of percutaneous drainage. *Am. J. Roentgenol.*, 209 (1), 205–213.
52. Lo J.Z., Leow J.J., Ng P.L. et al. (2015). Predictors of therapy failure in a series of 741 adult pyogenic liver abscesses. *J. Hepatobil. Pancreat. Sci.*, 22 (2), 156–165.

35. Haider S.J., Tarulli M., McNulty N.J., Hoffer E.K. Liver abscesses: factors that influence outcome of percutaneous drainage // *Am. J. Roentgenol.* 2017. Vol. 209 (1). P. 205–213.
36. Lo J.Z., Leow J.J., Ng P.L. et al. Predictors of therapy failure in a series of 741 adult pyogenic liver abscesses // *J. Hepatobil. Pancreat. Sci.* 2015. Vol. 22 (2). P. 156–165.
37. Springer J.E., Doumouras A.G., Nair S., Eskicioglu C., Forbes S. Does imaging before percutaneous drain removal affect rates of intra-abdominal abscess recurrence? // *J. Surg. Res.* 2018. Vol. 232. P. 408–414.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гречихина Марина Витальевна — врач ультразвуковой диагностики отделения лучевой диагностики ГБУЗ НСО «Клиническая консультативно-диагностическая поликлиника № 27» (Новосибирск).

Горбунов Николай Алексеевич — д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Дергилев Александр Петрович — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Образец цитирования: Гречихина М.В., Горбунов Н.А., Дергилев А.П. Прогностическое значение ультразвуковой семиотики для выбора дальнейших диагностических процедур и методов лечения пациентов с абсцессами брюшной полости (обзор литературы) // *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2021. № 3. С. 105–115.

37. Springer J.E., Doumouras A.G., Nair S., Eskicioglu C., Forbes S. (2018). Does imaging before percutaneous drain removal affect rates of intra-abdominal abscess recurrence? *J. Surg. Res.*, 232, 408–414.

ABOUT THE AUTHORS

Grechikhina Marina Vitalievna — Ultrasonographer, Department of Radiation Diagnostics, Clinical Consultative and Diagnostic Outpatient Clinic No. 27 (Novosibirsk).

Gorbunov Nikolay Alekseevich — Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of Radiation Diagnostics, Novosibirsk State Medical University.

Dergilev Aleksandr Petrovich — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Radiation Diagnostics, Novosibirsk State Medical University.

Citation example: Grechikhina M.V., Gorbunov N.A., Dergilev A.P. (2021). Forecasting importance of ultrasound semiotics for the choice of further diagnostic procedures and treatment methods for patients with abdominal abscesses (literature review). *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 105–115.

Рак эндометрия (краткий обзор)

Мимун Н.^{1,2}, Аззуз М.Я.³, Бенаджель У.¹, Келеф Д.¹, Каиди Р.²

¹Национальная высшая школа ветеринарии (г. Алжир, Баб-Эззуар, Алжир)

²Институт ветеринарии, лаборатория биотехнологий репродукции животных, Университет Блidy 1 (Алжир)

³Университет Блidy 1, факультет естественных наук (Алжир)

Uterine cancer at a glance

Mimoune N.^{1,2}, Azzouz M.Y.³, Benadjel O.¹, Khelef D.¹, Kaidi R.²

¹National High School of Veterinary (Algiers, Bab-Ezzouar, Algeria)

²Institute of Veterinary Sciences, Laboratory of Biotechnologies Related to Animal Reproduction, University of Blida 1 (Blida, Algeria)

³University of Blida 1, Faculty of Nature and Life Sciences (Blida, Algeria)

АННОТАЦИЯ

Злокачественные новообразования тела матки (ЗНТМ) занимают 6-е место в структуре гинекологического рака (среди новых случаев рака у женщин в 2012 г.) и 15-е — среди всех видов рака. В 2018 г. в мире зарегистрировано 382 069 новых случаев ЗНТМ и 89 929 вызванных этим заболеванием смертей. Таким образом, в 2018 г. ЗНТМ были 2-м наиболее распространенным типом гинекологического рака и занимали 4-е место в структуре женской смертности вследствие гинекологического рака. Ожидается, что к 2040 г. смертность вследствие ЗОЭ ЗНТМ вырастет более чем вдвое. Наиболее низкий уровень смертности вследствие ЗНТМ отмечается в Центральной и Южной Азии, максимальный — в Африке. У выживших после злокачественных опухолей матки могут возникнуть проблемы, связанные с проведенным лечением — бесплодие, раннее наступление менопаузы, расстройства сексуальной сферы и лимфедема нижних конечностей. Всемирная организация здравоохранения создает собственную базу данных на основе национальных оценок заболеваемости, используя метод выборки, который опирается на вычисления средневзвешенного или простого среднего наиболее распространенных коэффициентов-показателей для населения ряда регионов, либо на приблизительную оценку, основанную на данных, предоставленных медицинскими учреждениями стран-соседей. В Алжире существующая система статистического и эпидемиологического учета не так совершенна. В связи с этим целью нашего обзора являлось освещение современной ситуации по ЗНТМ в Алжире и краткое представление основных аспектов (этиология, диагностика и лечение) этой патологии.

Ключевые слова: матка, злокачественная опухоль, женщина, статистика, этиология, диагностика, лечение, Алжир.

ABSTRACT

Among gynecological tumors, malignant uterine tumor (MUT) is the 6th most common cancer in women and the 15th most common cancer overall. There were approximately 382 069 new cases and 89 929 deaths attributed to this type worldwide in 2018. Therefore, MUT was the second most common gynecological cancer and the fourth leading cause of death due to gynecological cancer in 2018, and is expected to increase the incidence rate by more than 50% globally by 2040. Mortality rates are lowest in Central and South Asia and most of Africa. Survivors of MUT may experience treatment-related issues, including infertility, early onset of menopause, sexual problems, and lower limb lymphedema. WHO

Поступила 11.05.2021
Принята 15.06.2021

Автор, ответственный за переписку
Мимун Нура: Лаборатория биотехнологий репродукции животных (ЛБРЖ), Институт ветеринарии, Университет Блidy 1, PB 270, г. Блidy, Алжир.
E-mail: nora.mimoune@gmail.com

Received 11.05.2021
Accepted 15.06.2021

Corresponding author
Mimoune Nora: Laboratory of Biotechnologies related to Animal Reproduction (LBRA), Institute of Veterinary Sciences, University of Blida 1, PB 270, Blida, Algeria.
E-mail: nora.mimoune@gmail.com

builds its own database from national modeling incidence estimates, using incidence ratios with a sampling method that relies on the calculation of a weighted or simple average of the most popular local rates applied to the population of a few regions or by an approximate estimate based on data provided by health establishments in neighboring countries. While in Algeria, existing statistical and epidemiological data and updated information on the pathology are insufficient. The objective of this work is to highlight the importance and the situation of the MUT in this country and to describe the different recent aspects (etiology, diagnostics and treatment) related to the disease.

Keywords: uterus, malignant tumor, woman, statistics, etiology, diagnostics, treatment, Algeria.

ВВЕДЕНИЕ

Гинекологический рак — ведущая причина смертности среди женщин вследствие онкологических заболеваний во всем мире. В современном обществе гинекологическому раку подвержена достаточно большая доля женщин детородного возраста, которые хотели бы сохранить способность к деторождению в будущем [1].

Злокачественные новообразования тела матки (ЗНТМ) занимают 6-е место среди наиболее распространенных видов рака у женщин и 15-е — в структуре онкопатологии в целом. В 2018 г. было выявлено 382 069 новых случаев ЗНТМ и 89 929 летальных исходов, вызванных ими. Таким образом, в 2018 г. ЗНТМ было 2-м наиболее распространенным типом гинекологического рака и занимало 4-е место в структуре женской смертности вследствие гинекологического рака [2], и, по прогнозам, к 2040 г. уровень смертности в мире вследствие ЗНТМ вырастет более чем на 50 % [3]. Самый низкий уровень смертности вследствие ЗНТМ фиксируется в Центральной и Южной Азии, самый высокий — в странах Африки [4]. Выжившие после ЗНТМ могут испытывать проблемы, обусловленные лечением, включая бесплодие, раннюю менопаузу, расстройства сексуальной сферы и лимфатические отеки нижних конечностей [5].

Согласно проведенному исследованию [6], в Алжире в период с 1990 по 2017 г. распространенность рака матки выросла на 40–60 %, а показатель пятилетней выживаемости пациентов с тяжелыми формами опухолей оказался низким по причине малой доступности онкологической помощи и ограниченного числа специализированных лечебных учреждений [7].

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) ведет собственную статистику, моделируя показатели с использованием индексов заболеваемости и метода выборки, что позволяет рассчитывать средневзвешенное или простое среднее значение коэффициентов заболеваемости, исходя из самых свежих локальных данных, касающихся населения нескольких регионов, либо проводит предварительную оценку, основываясь

INTRODUCTION

Gynecologic cancers are the leading cause of cancer death among women worldwide, and in modern societies, a significant number of these cancers affects a high proportion of women of childbearing age, who wish to preserve their fertility for future reproductive opportunities [1].

Among gynecological tumors, malignant uterine tumor (MUT) is the 6th most common cancer in women and the 15th most common cancer overall. There were an estimated 382 069 new cases and 89 929 deaths attributed to this type worldwide in 2018. Therefore, MUT was the second most common gynecological cancer and the fourth leading cause of death due to gynecological cancer in 2018 [2], and is projected to increase the incidence rate by more than 50% worldwide by 2040 [3]. Mortality rates are lowest in Central and South Asia and most of Africa [4]. Survivors of MUT may experience problems related to treatment, including infertility, early menopause, sexual problems, and lower limb lymphedema [5].

A study showed that Algeria experienced an increase of 40–60% in the prevalence of uterine cancer by socio-demographic index from 1990 to 2017 [6], and the 5-years survival rate for severe tumors is low due to poor access to cancer care and an incomplete care setting [7].

The World Health Organization (WHO) builds its own database from national incidence estimates by modelling, using incidence rates with a sampling method that relies on the calculation of a weighted or simple average of the most recent local rates applied to the population of a few regions, or by rough estimation from data provided by health facilities in neighboring countries [8]. While in our country, existing statistical and epidemiological data and updated information on pathology are insufficient. Similarly, studies are currently being conducted to improve the management of MUT. In order to contribute to the elimination of this problem, we have carried out this study, which represents a modest contribution of knowledge regarding uterine cancers.

на сведениях, которые предоставляют учреждения здравоохранения соседних стран [8]. В Алжире имеющиеся статистические и эпидемиологические данные, а также актуальная информация, касающаяся обсуждаемой патологии, не совершенны. Причем в настоящее время ведутся исследования, нацеленные на совершенствование тактики лечения ЗНТМ. В рамках решения данной проблемы и проведено настоящее исследование, которое, надеемся, внесет свой скромный вклад в изучение проблемы ЗНТМ.

1. СИТУАЦИЯ В АЛЖИРЕ

1.1. Общая ситуация в регионе

Точной статистики по заболеваемости гинекологическим раком в Алжире нет. В табл. 1, 2 представлены общие статистические данные по онкологической патологии в Алжире в 2018 г., опубликованные Международным агентством по изучению рака.

1. SITUATION IN ALGERIA

1.1. Global situation

Complete statistics on gynecological tumors reported in Algeria are insufficient. Tables 1, 2 represent some figures on uterine tumors in Algeria from the International Agency for Research on Cancer (IARC).

1.2. Situation in Algiers

Table 3 represents some statistics relating to gynecological tumors in Algiers.

2. CLASSIFICATIONS OF GYNECOLOGICAL CANCERS

2.1. The different references in terms of classifications of gynecological cancers

The various classifications of pelvic gynecological cancers have been modified from one day to the next in accordance with the improvement of medical

Таблица 1. Число новых случаев гинекологического рака среди всех возрастных групп населения Алжира в 2018 г. [9]

Table 1. Estimated total new cases in 2018 of gynecological tumors in all ages in Algeria [9]

Территория Population	Число случаев Number	Общий коэффициент* Crude rates*	Стандартизированный возрастной коэффициент (по данным мировой статистики)* Age-standardized rate (world)*
Северная Африка North Africa	12 244	10.3	11.7
Алжир Algeria	2 142	10.3	10.9

* Коэффициенты рассчитаны на 100 000 населения.
Crude and age-standardized rates per 100 000 habitants.

Таблица 2. Расчетное число новых случаев заболевания и смерти по некоторым видам гинекологического рака в Алжире в 2018 г. [9]

Table 2. Estimated number of new cases and deaths for each type of gynecological tumors in Algeria in 2018 [9]

Код по МКБ-10 ICD	Вид рака Cancer	Число случаев Number	Смертность Mortality	Общий коэффициент* Crude rate*	Стандартизированный по возрасту коэффициент (в мире)* Age-standardized rate (world)*
C00-97	Все виды All cancers	29 112	13 391	140.0	140.6
C53	Рак шейки матки Cervix	1 594	1 066	7.7	8.1
C54	Рак тела матки Corpus uteri	436	73	2.1	2.3
C51	Рак вульвы Vulva	76	27	0.37	0.36
C52	Рак влагалища Vagina	36	16	0.17	0.18

* Коэффициенты рассчитаны на 100 000 населения.
Crude and age-standardized rates per 100 000 habitants.

1.2. Ситуация в г. Алжир

В табл. 3 представлены статистические данные по раку органов женской репродуктивной системы в г. Алжир в 2017 г.

2. КЛАССИФИКАЦИИ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОГО РАКА

2.1. Различия в терминологии классификаций гинекологического рака

Разные классификации рака органов малого таза у женщин постоянно видоизменяются по мере появления новых данных об этой патологии и эволюции подходов к ее лечению [11].

Существует 4 основные классификации гинекологического рака:

1. Классификация Международной федерации гинекологии и акушерства (FIGO), которая стала первым официальным спонсором Ежегодного отчета по результатам лечения гинекологического рака в 1958 г. [12].

2. Система TNM Всемирного противоракового союза (в настоящее время называется Союз по международному контролю рака — UICC), разработанная доктором Пьером Денуа в период 1943–1955 гг. [13].

3. Классификация Американского объединенного комитета по раку (AJCC) 1965 г., в рамках которой была предпринята попытка классифицировать все виды гинекологического рака. Эта классификация была объединена с классификацией FIGO в 1976 г. [14].

4. Гистопатологическая классификация ВОЗ, последнее издание вышло в 2014 г.

Действующая в настоящее время система классификации злокачественных опухолей TNM признается как FIGO и UICC, так и национальными комитетами по раку, включая AJCC [15].

В последние 30 лет в мире широко используется классификация FIGO (табл. 4), признанная UICC, AJCC, а также профильными комитетами ВОЗ. Последняя редакция этой классификации

knowledge and the evolution of practices in gynecological oncology [11].

There are now four main classifications of gynecological cancers:

1. The classification of the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO), which became the first official sponsor of the Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer in 1958 [12].

2. The TNM classification of the International Union against Cancer created by Dr Pierre Denoix between 1943 and 1952 (today is the Union for International Cancer Control — UICC) [13].

3. The American Joint Committee on Cancer (AJCC) classification in 1965, which tried to develop a classification for each type of cancer, to join the international classification (FIGO) in 1976 [14].

4. The WHO histopathological classification, last updated in 2014.

The currently published TNM System classifications have been approved by the FIGO, UICC, and National Committees including the AJCC [15].

The FIGO classification (Table 4) has been discussed and approved by the UICC, AJCC and WHO committees for the last 30 years and was reviewed in its latest version in 2009. These three classifications appear to be virtually identical and the goal of international collaboration is to have only one classification [16].

For instance, the Cancer Genome Atlas (TCGA) has recently defined four clinically distinct types of endometrial cancer based on their overall mutation load, specific mutations, microsatellite instability, and histology [17].

2.2. Histomolecular classification, example of endometrial carcinomas

According to the classic dualistic model introduced by Bokhman in 1983, endometrial cancer was classified into two types. The histological prototype for type I: low-grade endometrioid tumors, mainly estrogen-related, strongly associated with obesity

Таблица 3. Основная локализация раковых опухолей органов женской репродуктивной системы в г. Алжире в 2017 г. [10]

Table 3. Main locations of gynecological tumors in Algiers in 2017 [10]

Локализация Location	Частота Frequency	Относительная частота (%) Relative frequency (%)	Общий коэффициент Gross impact	Стандартизированный коэффициент Standard impact
Молочные железы / Breast	1605	38.4	88.4	82.2
Шейка матки / Cervix	155	3.7	8.5	8.1
Яичники / Ovary	152	3.6	8.4	8.3
Матка / Uterus	93	2.2	5.1	5

Таблица 4. Классификации рака эндометрия FIGO и TNM
Table 4. 2009 FIGO Pathology Classification of Endometrial Cancers

FIGO (2009)	TNM (2009)	Описание / Description	FIGO (1989)
Стадия I*: Stage I*:	T1	Опухоль ограничена телом матки Tumor confined to the corpus uteri	Стадия I: Stage I
IA	T1a	Опухоль в пределах эндометрия или инвазия менее 1/2 толщины миометрия Tumor limited to endometrium or invading less than half of myometrium	IA – B
IB	T1b	Инвазия более 1/2 толщины миометрия Tumor invades one half or more of myometrium	IC
Стадия II* Stages II*	T2	Опухоль распространяется в строму шейки матки, но не выходит за пределы матки Tumor invades cervical stroma but does not extend beyond the uterus	Стадия II – B Stages II – B
Стадия III*: Stages III*	T3 и/или N1 T3 and/or N1	Локальное и/или местное распространение: Local and/or regional spread as specified here:	Стадия III: Stage III
IIIA	T3a	В серозную оболочку или придатки матки** Serosa of the corpus uteri and/or adnexae**	IIIA
IIIB	T3b	Во влагалище или параметрий** Vaginal and/or parametrial involvement**	IIIB
IIIC:	N1	Метастазы в лимфатические узлы**: Metastasis to pelvic or paraaortic lymph nodes **:	IIIC
IIIC1		Тазовые Pelvic lymph node involvement	
IIIC2		Поясничные (параортальные) и/или тазовые Paraortic lymph node +/- pelvic nodes involvement	
Стадия IV*: Stages IV*	T4 и/или M1 T4 and/or M1	Распространение опухоли в слизистую оболочку мочевого пузыря и/или прямой кишки, отдаленные метастазы Extension to bladder and/or bowel mucosa, distant metastases	Стадия IV Stages IV
IVA	T4	Распространение на слизистую оболочку мочевого пузыря и/или прямой кишки Invasion of bladder and/or bowel mucosa	IVA
IVB	M1	Отдаленные метастазы, в том числе внутрибрюшные, и/или вовлечение паховых лимфатических узлов Distant metastases including intra-abdominal metastases and/or inguinal lymph nodes	IVB

* Классифицируются, в свою очередь, по степени злокачественности на 1, 2 и 3-ю стадии.
 Grade 1, 2 or 3.

** Результаты цитологического исследования перитонеальной жидкости и смывов из брюшной полости должны быть указаны отдельно в медицинской документации и не влияют на определение стадии по данной классификации.
 Positive cytology has to be reported separately without changing the stage (the classification of FIGO 1989 included the results of positive cytology for stages IIIA).

вышла в 2009 г. Представленные в табл. 4 три классификации имеют много общего, что позволит в будущем разработать единую классификацию гинекологического рака [16].

Так, например, специалистами проекта Атлас генома рака (TCGA) в настоящее время выделяется четыре основных вида рака эндометрия. Это классификация основана на таких показателях, как общая мутационная нагрузка опухоли, специфические мутации, микросателлитная нестабильность и результаты гистологического исследования [17].

and other components of the metabolic syndrome, and type II: high-grade non-endometrioid tumors [17, 18]. This classification, also based on the incorporation of anatomopathological and molecular data, has been developed to best represent 2 major histogenetic pathways and 2 major prognostic groups (Table 5).

2.3. Towards a new model? The TCGA

In 2006, the National Cancer Institute and the National Human Genome Research Institute conducted different types of high-throughput molec-

2.2. Гистомолекулярная классификация на примере карцином эндометрия

Согласно классической модели, предложенной Бохманом в 1983 г., рак эндометрия бывает двух типов. Тип 1: эндометриодные опухоли с низким потенциалом злокачественности, в основном связанные с воздействием эстрогенов, вероятные факторы риска — ожирение и другие проявления метаболического синдрома. Тип 2: неэндометриодные опухоли с высоким потенциалом злокачественности [17, 18]. Эта классификация, базирующаяся на данных патоморфологического и молекулярного исследований, легла в основу выделения 2 базовых морфогенетических вариантов и, соответственно, 2 прогностических групп карцином эндометрия (табл. 5).

2.3. Новая классификация? Атлас генома рака

В 2006 г. Национальный институт рака и Национальный институт исследования генома человека провели различные виды высокопроизводительного молекулярного анализа нормальной выборки, охватывающей 33 типа рака. В результате этого исследования были получены молекулярные характеристики 20 000 видов первичного рака различных гистологических типов [20]. Кроме того, исследование позволило выделить 4 основных подтипа карцином эндометрия (табл. 6).

3. ЭТИОЛОГИЯ

Рак тела матки (термин, широко используемый в онкологии для обозначения рака эндометрия) чаще встречается у женщин в период постменопаузы. Заболевание, как правило, возникает в возрасте 50–70 лет, пик — около 59 лет [21]. Ниже приведены основные факторы риска.

3.1. Врожденные факторы

Возраст является тем фактором, который повышает риск онкологии, поскольку с течением времени число генных мутаций нарастает и они накапливаются [22].

Генетическая предрасположенность. Около 5 % случаев рака эндометрия генетически детерминированы. Наследственная предрасположенность может быть причиной возникновения этого вида рака у членов одной семьи [22]. В генетическом плане рак эндометрия нередко ассоциирован с синдромом Линча (от 2–4 до 11 % пациентов). Эта патология связана с мутацией гена *MMR*, участвующего в исправлении ошибок спаривания нуклеотидов в ДНК. В этом случае рак

анализ на нормальных образцах, охватывающих 33 типа рака, результатом была молекулярная характеристика более чем 20 000 первичных раков различных гистологических типов [20], и эти исследования выявили 4 основных подтипа опухоли (табл. 6).

3. ЭТИОЛОГИЯ

Утеринный рак (термин, обычно используемый в онкологии для обозначения рака эндометрия) обычно является раком постменопаузальных женщин, с пиковым распространением в возрасте 59 лет, с пиковым возникновением в возрасте 50–70 лет [21]. Основные факторы риска приведены ниже.

3.1. Внутренние факторы

Возраст. Возраст является фактором, усиливающим возникновение рака, поскольку с течением времени геномные изменения накапливаются [22].

Генетическое происхождение. Около 5 % раков имеют генетическое происхождение. Эти наследственные предрасположенности могут быть ответственными за возникновение рака у нескольких членов одной семьи [22]. Фактор, ассоциированный с раком матки, — это в основном синдром Линча (2–4 до 11 % пациентов). Он связан с мутацией гена *MMR*, участвующего в исправлении ошибок спаривания нуклеотидов в ДНК. В этом случае рак характеризуется возникновением в раннем возрасте (до 60 лет), у пациентов с более низким индексом массы тела (ИМТ), чем у пациентов с раком эндометрия [23]. Синдром Cowden вызывает мутацию в супрессорном гене *PTEN* и определяет 13–19 % пожизненного риска развития рака эндометрия [24].

Гормональное воздействие. Когда эндокринная система нарушена, гормональный дисбаланс возникает в организме и способствует возникновению определенных раков. Действительно, гиперсекреция эстрогенов может вызвать рак матки [22].

Избыточный вес. Избыточный вес увеличивает риск развития рака молочной железы и рака эндометрия, в основном из-за хранения части эстрогенов и андрогенов в жировой ткани [22, 25].

3.2. Внешние факторы

Питание. Различия в диетах, употребляемых разными популяциями, в отношении количества и относительной пропорции основных групп продуктов (растительные, животные) оказывают значительное влияние на распространение рака [26].

Лекарства. Лекарства с канцерогенным эффектом у человека включают противоопухолевые препараты и их комбинации, гормоны и гормонотерапевтические препараты, и иммуно-

Таблица 5. Два основных клинических гистомолекулярных типа карцином эндометрия [19]
Table 5. Two main clinical-histomolecular types of endometrial carcinomas [19]

Показатель Indicator	Карцинома I типа Type I carcinoma	Карцинома II типа Type II carcinoma
Частота (%) Frequency (%)	≈80	≈20
Тип Description model	Эндометриодная карцинома с низким потенциалом злокачественности Low-grade endometrioid carcinoma	Серозная карцинома Serous carcinoma
Другие опухоли, связанные с данным типом Other tumors of the category	Эндометриодная карцинома 3-й степени злокачественности Grade 3 endometrioid carcinoma	Светлоклеточная карцинома Clear cell carcinoma Недифференцированная карцинома Undifferentiated carcinoma Смешанная карцинома с >5 % II типа Mixed carcinoma with >5% type II Карциносаркома Carcinosarcoma
Механизмы канцерогенеза Carcinogenesis pathway	Гормонозависимый Hormone-dependent	Гормоннезависимый Hormone-independent Хромосомная нестабильность Chromosomal instability
Прилегающий эндометрий Adjacent endometrium	Гиперпластический Hyperplastic	Атрофический Atrophic
Состояние, предшествующее возникновению карциномы Precursor	Атипичная гиперплазия эндометрия Atypical endometrial hyperplasia	Серозная карцинома <i>in situ</i> Serous carcinoma <i>in situ</i>
Экспрессия гормональных рецепторов (%) Hormone receptor expression (%)	>80	60–70
Мутации гена <i>TP53</i> Mutation in <i>TP53</i>	Нет Absent	Есть Present
Другие генетические альтерации Other genetic alterations	Мутации генов <i>PIK3CA</i> (экзон 9), <i>CTNNB1</i> , <i>KRAS</i> , <i>PTEN</i> Mutations in <i>PIK3CA</i> (exon 9), <i>CTNNB1</i> , <i>KRAS</i> , <i>PTEN</i> Микросателлитная нестабильность Microsatellite instability	Мутации гена <i>PIK3CA</i> (экзон 20) Mutations in <i>PIK3CA</i> (exon20) Амплификация <i>HER2</i> <i>HER2</i> amplification Сверхэкспрессия P16 P16 overexpression
Средний возраст при постановке диагноза (лет) Average age at diagnosis (years)	59	66
Стадия I (%) Stage I (%)	80	10
Выживаемость (%) Survival (%)	>80	40

манифестирует в раннем (для этого типа рака) возрасте (до 60 лет), чаще у пациенток с низким индексом массы тела по сравнению с больными со sporadическим раком эндометрия [23]. Синдром Коудена вызывается мутациями гена *PTEN*, супрессора опухолевого роста. Риск возникновения рака эндометрия у пациенток с этим синдромом составляет 13–19 % [24].

Гормональная нагрузка. При нарушении деятельности эндокринной системы возникает состояние гормонального дисбаланса, которое может способствовать развитию определенных ви-

suppressants. Tamoxifen use, especially in the case of breast cancer, predisposes to uterine cancer. In addition, contraceptive hormone therapy with combined estrogen-progestin therapy shows a protective effect [27].

Chronic infections. Experimental and biological evidence now indicates that a wide variety of infectious agents are one of the leading causes of cancer worldwide. Viruses are the main agents [28].

Ionizing radiation. The carcinogenic effect of ionizing radiation (X, gamma, neutrons, beta and alpha) is definite for humans and is well estab-

Таблица 6. Классификация карциномы эндометрия по TCGA [19]
Table 6. Classification of endometrial carcinomas according to the TCGA study [19]

Тип Type	Частота (%) Frequency (%)	Основные молекулярные характеристики Main molecular characteristics	Преобладающий морфологический тип Most frequent histological types	Прогноз Prognosis	Суррогатный маркер, потенциально пригодный для рутинного использования Surrogate marker potential for routine use
Ультрамутиро- ванный With ultramutation	7	Большое число мутаций (C > A) Very high mutation frequency (C > A) Мутации <i>POLE</i> <i>POLE</i> mutations	Эндометриоидный, высокой степени злокачественности Endometrioid, high- grade	Благо- приятный Favorable	Мутация <i>POLE</i> <i>POLE</i> mutation
Гипермути- рованный With hypermutation	28	Большое число мутаций High mutation frequency Микросателлитная нестабильность Microsatellite instability	Эндометриоидный Endometrioid	Удовлетвори- тельный Intermediate	Иммуногистохимическое исследование MLH1, PMS2, MSH2, MSH6 (потеря экспрессии) Immunohistochemistry MLH1, PMS2, MSH2, MSH6 (loss of expression)
С низким числом копий Copy number low	39	Незначительное число мутаций Low mutation frequency Мутации <i>CTNNB1</i> <i>CTNNB1</i> mutations	Эндометриоидный Endometrioid	Удовлетвори- тельный Intermediate	Иммуногистохимическое исследование P53 (слабое/очаговое окрашивание) Immunohistochemistry P53 (weak/focal marking)
С большим числом копий Copy number high	26	Хромосомная нестабильность Chromosomal instability Мутации <i>TP53</i> <i>TP53</i> mutations	Серозный Serous Эндометриоидный степени 1/2 Endometrioid of grade 1/2	Неблагопри- ятный Poor	Иммуногистохимическое исследование P53 (интенсивное и диффузное или полное отсутствие окрашивания) Immunohistochemistry P53 (intense and diffuse marking or completely absent one)

дов рака. Гиперсекреция эстрогенов, бесспорно, является одной из причин рака эндометрия [22].

Избыточная масса тела увеличивает риск возникновения рака молочной железы и эндометрия вследствие депонирования в жировой ткани эстрогенов, а также конверсии андрогенов в эстрогены [22, 25].

3.2. Приобретенные факторы

Питание. Пищевые предпочтения в различных популяциях с точки зрения сбалансированности питания (количество потребляемой пищи, баланс жиров, белков и углеводов, полноценность рациона) оказывают большое влияние на заболеваемость раком данной локализации [26].

Лекарственные средства. Некоторые группы лекарственных препаратов (antineoplastic, гормональные, иммуносупрессоры) обладают канцерогенным эффектом. Применение тамоксифена в терапии злокачественных образований молочной железы может стать причиной

lished for doses of a few hundred milliSieverts (mSv) [29].

4. DIAGNOSIS OF TUMORS

4.1. Positive diagnosis

Revealing signs. Emphasizes the frequent lack of anatomical-clinical correlation. Three elements are particularly suspected:

1. Hemorrhage (even) on anticoagulants.

2. Recent functional disorders persisting for more than 2 to 3 weeks and in any case an evolution towards aggravation, possibly interrupted by stages but without any real improvement.

3. Appearance of swelling [30].

Arguments in favor of diagnosis:

1. The local arguments. They are clinically associated infiltration in typical cases with ulceration and hemorrhagic budding. Specific signs exist for certain localizations: painful and hemorrhagic inflammatory disease [31]. Local arguments exist in endoscopy for

рака эндометрия. При этом терапия комбинированным оральными контрацептивами (эстроген-прогестины) демонстрирует защитное действие на эндометрий [27].

Инфекции. Доказано, что бактерии и вирусы являются одной из ведущих причин онкозаболеваемости в мире, причем вирусы лидируют [28].

Ионизирующее излучение (рентгеновское, гамма, нейтронное, бэта, альфа) в дозах несколько сотен миллизивертов определенно обладает канцерогенным эффектом [29].

4. ДИАГНОСТИКА

4.1. Начальная диагностика

Общие симптомы. При данной патологии обращает на себя внимание то, что нередко отсутствует корреляция между анатомическими и клиническими признаками. Три момента особенно настораживают:

1. Наличие кровотечения (даже) на фоне антикоагулянтов.
2. Недавние функциональные нарушения длительностью больше 2–3 нед с тенденцией к прогрессированию; возможно, чередующиеся с временным достижением плато, но без реально-го улучшения состояния.
3. Появление отека [30].

Относительные (косвенные) аргументы в пользу положительного диагноза:

1. В типичных случаях – очевидная связь выявленной инфильтрации с изъязвлением, геморрагиями и дальнейшим ростом. Наличие специфических симптомов в определенной локализации – болезненности или воспалений с геморрагическим компонентом [31]. Для подтверждения предполагаемого диагноза следует провести эндоскопическое (при наличии доступа), ультразвуковое исследование, МРТ, а также биопсию [30].
2. Необходимо учитывать возраст, семейный анамнез и установки, сведения о географии рождения и проживания, наличие патологии, которая может предрасполагать к развитию рака эндометрия.

3. Онкомаркеры не всегда могут прояснить картину, поскольку их значения повышаются в случаях, когда опухоль имеет достаточно большие размеры или начала распространяться в соседние ткани или органы [30].

Абсолютные аргументы в пользу положительного диагноза. Выявление раковых клеток или инвазии в соседние ткани происходит по результатам гисто- и цитологического исследования биоптатов. Это исследование позволяет установить тип злокачественного поражения и, кро-

organs that are accessible to this means of investigation. If there is the slightest doubt, the examination is used to take the opportunity to perform biopsies or imaging [30].

2. Arguments linked to the context. They take into account age, a family context of orientation, a particular geographical origin, a predisposing pathology.

3. Biological arguments. They are usually of no help when the diagnosis is not immediately obvious. Tumor markers are elevated only when tumors are large or when they have spread [30].

Arguments of certainty. They are histological or cytological after biopsy. They are based on the malignant appearance of the cells and the invasion of normal tissues. They allow medical certainty and specify the strain. They are also of forensic interest [30, 32]. The purpose of the study is to precise:

- histological nature of the tumor;
- its potential aggressivity;
- its prognosis;
- its ability to respond to increasingly specific treatments [33].

4.2. Morphological diagnosis

Cytological or histological diagnosis requires good quality samples that are representative of the tumor and which have not been altered during collection or transport.

Examination of histological sections. The histological examination forms the basis for anatomopathological diagnosis (histological classification, grade, stage, limits). Other stains that reveal particularities of tumor cells or the stroma are often useful for diagnosis [34].

Immunohistochemistry with mono- or polyclonal antibodies is frequently used in tumor pathology. The use of combined antibodies, the choice of which is guided by histological study, makes it possible to determine in most cases the nature of poorly differentiated tumors and the primary origin of metastases.

Antibodies can be used to determine the nature of the intermediate filaments of the cytoskeleton of cells. They have a specific distribution:

- cytokeratin filaments in epithelial cells;
- vimentin filaments in connective tissue cells;
- desmin filaments in muscle cells;
- neurofilaments in nerve cells.

Thus, carcinoma is usually cytokeratin-positive and vimentin-negative, whereas sarcoma has the opposite phenotype.

ме того, может быть использовано в ходе судебных разбирательств [30, 32]. Основные цели исследования — это определение:

- гистологического строения опухоли;
- ее злокачественного потенциала;
- прогноза заболевания;
- прогноза возможного ответа опухоли на специфическое лечение [33].

4.2. Морфологическая диагностика

Для проведения цито- и гистологического исследования необходимы образцы опухоли определенного качества, не поврежденные в ходе забора или транспортировки.

Оценка гистологических срезов. Гистологическое исследование является основой для постановки патолого-анатомического диагноза (тип опухоли по гистологической классификации, степень злокачественности, стадия, границы). Окрашивание срезов, выявляющее особенности раковых клеток или стромы, также во многом определяет точность морфологической диагностики [34].

Иммуногистохимическое исследование с использованием моно- или поликлональных антител широко распространено в онкодиагностике. Использование комбинаций антител, выбор которых определяется целями гистологического исследования, позволяет в большинстве случаев установить морфологию низкодифференцированных опухолей или первичный опухолевый очаг.

Применение антител позволяет определить состояние промежуточных филаментов, которые являются одним из составляющих цитоскелета клеток. По распространению выделяют следующие виды промежуточных микрофиламентов:

- цитокератиновые в эпителиальных клетках;
- виментиновые в клетках соединительной ткани;
- десминовые в мышечных клетках;
- нейрофиламенты в нервных клетках.

Карцинома обычно цитокератин-позитивна и виментин-негативна, в то время как саркома принадлежит противоположному фенотипу.

Поверхностные маркеры также специфичны для определенных типов клеток, среди них: антиген CD20 (на В-лимфоцитах), эпителиальный мембранный антиген (на эпителиальных клетках), нейрональная молекула клеточной адгезии (на нервных и нейроэндокринных клетках).

Также применяются цитоплазматические маркеры, соответствующие секретируемым веществам или функциональным молекулам: это муцины (при диагностике аденокарцином) и хро-

Surface markers are also specific for cell types: CD20 antigen (B lymphocyte), epithelial antigen membrane (epithelial cells), neural cell adhesion molecule (NCAM) (nerve cells and neuroendocrine cells).

Cytoplasmic markers that correspond to secretory products or functional molecules are also exploited: mucins in adenocarcinomas and chromogranin in neuroendocrine tumors.

Antibodies directed against molecules with prognostic or therapeutic value are being increasingly used. Thus, the quantification of hormone receptors in the nuclei of adenocarcinoma tumor cells of certain organs provides information on the potential effects of antihormonal treatment [33].

The differential diagnosis of different types of uterine tumors is carried out between several subtypes such as serous and clear-cell carcinomas. Strategies for distinguishing between these entities are shown in Table 7, which represents a summary of histological and immunohistochemical profiles useful in the diagnosis and differential diagnosis of gynecological cancer types.

4.3. Molecular diagnosis

Molecular pathology techniques are used to highlight molecular alterations in tumor cells. They can be performed on histological sections (e.g., *in situ* fluorescent hybridization (FISH) (Fig. 1)) or after the extraction of one of the molecular constituents from the tissue.

These tools have diagnostic and prognostic value in certain malignant tumors, and can also help to predict the response to targeted therapy (theranostics), detect residual disease after treatment, or diagnose an inherited predisposition to develop cancer.

Genetic alterations occur consecutively during the growth of a tumor. Some of these abnormalities are recurrent, meaning that the same type of abnormality occurs with high frequency in a given tumor type [38].

4.4. Differential diagnosis

Most often it occurs between poorly differentiated tumors [37] and between dysplasia and benign tumors. In actual practice, it is necessary to know them in order not to get lost and thus reduce the frequency of late diagnosis [30]. Differential diagnoses also make use of molecular methods (Table 8).

4.5. Extended diagnosis

Clinical. It specifies the location and dimensions of the tumor. The regional extension of the

Таблица 7. Иммуно- и гистологический профиль различных типов гинекологического рака [35–37]
Table 7. Immuno- and histological profiling of gynecological cancer types [35–37]

Тип/локализация Tumor/condition	Гистологический тип Histology	Характеристика, маркеры Marker panel
Матка, мезенхимальная Uterus, mesenchymatous	Лейомиома Leiomyomatous	Десмин, h-кальдесмон, окситоцин, α-актин SM, ± CD10, Ki-67 Desmin, h-caldesmon, oxytocin, α-actine SM, ± CD10, Ki-67
	Стромальная опухоль Stromal	CD10, Ki-67, ± десмин, h-кальдесмон, α-актин SM CD10, Ki-67, ± desmin, h-caldesmon, α-actin SM
Карцинома эндометрия Endometrial carcinoma	Эндометриоидная аденокарцинома Endometrioid adenocarcinoma	Аналогичные маркерам и признакам для доброкачественных новообразований матки Similar to benign endometrial epithelium Гиперплазия эндометрия Endometrial hyperplasia Плоскоклеточная, плоскоклеточная с морулами, муцинозная метаплазия Squamous, morulous, mucinous metaplasia Гладкие контуры просветов желез Smooth luminous contours Плеоморфизм слабой или средней степени Mild to moderate nuclear pleomorphism ER, PR, виментин-положительные; P53, P16, CEA-негативные (стадии I и II по FIGO) ER, PR, vimentin positive; P53, P16, CEA negative (FIGO grades 1 and 2)
	Серозная карцинома Serous carcinoma	Плоскоклеточный рак, с морулами, муцинозная метаплазия не выявляется No squamous, morular, mucinous metaplasia Зубчатые контуры просветов желез Serrated luminous contours Щелевидные пространства Slit-shaped spaces Клеточный плеоморфизм, множественные митозы Cytological pleomorphism, numerous mitosis Вероятность десквамации эпителиальных клеток (микрососочки, феномен «сапожного гвоздя») и образование псаммомных телец Possibility of cell exfoliation (hobnail) and psammoma body formation Сверхэкспрессия P53, P16 и экспрессия виментина; ER, PR, CEA-негативная или слабо позитивная Overexpression of P53, P16 and vimentin positive; ER, PR, CEA negative or weakly positive
	Светлоклеточная карцинома Carcinoma with clear cells	Феномен «сапожного гвоздя»: скопления клеток в виде трубочек или сосочков, клетки содержат гликоген Hobnail cells, in tubular or papillary arrays, filled with glycogen Гиалиноз стромы Hyaline stroma Клеточный плеоморфизм Cytological pleomorphism Ткани виментин-позитивные; ER, PR, CEA-негативные или слабо позитивные; экспрессия P16, P53 переменная Vimentin positive; ER, PR, CEA negative or weakly positive; variable positivity p16 and p53
	Муцинозная карцинома Mucinous carcinoma	Цилиндрические клетки эндоцервикального типа с богатой муцином цитоплазмой Cylindrical cells of endocervical type; mucin-rich cytoplasm Часто высокая степень дифференцировки Often low-grade
	Карциносаркома Carcinosarcoma	Комбинация карциноматозного и саркоматозного компонентов Mix of carcinomatous and sarcomatous components Эпителиальный компонент в основном низкой степени дифференцировки, может быть эндометриоидным (часто), серозным, светлоклеточным, муцинозным, недифференцированным и плоскоклеточным Epithelial component generally of high-grade, can be endometrioid (common), serous, clear cell, mucinous, undifferentiated or squamous Саркоматозный компонент может иметь сходство с эндометриальной (гомологичной) и неэндометриальной (гетерологичной) стромой Sarcomatous component may resemble an endometrial (homologous) or non-endometrial (heterologous) stroma
	Сквамозная карцинома Squamous carcinoma	Широкий диапазон от ороговения отдельных клеток до формирования значительных масс кератина в эксперименте Models range from the keratinization of individual cells to the formation of large masses of keratin
	Карцинома из клеток переходного эпителия Carcinoma with transitional cell	Очаговая или папиллярная морфология уротелия, включая продольные бороздки в ядрах Nested or papillary urothelial morphology, including lengthwise nuclear grooves
	Недифференцированная карцинома Undifferentiated carcinoma	Нет закономерностей в структуре Non-distinctive appearance Часто представляет собой произвольно расположенные слои клеток или гнезда с обширным некрозом Often composed of scattered cell layers and nests with extended necrosis

могранин (при диагностике нейроэндокринных опухолей).

Использование антител в отношении молекул, представляющих интерес для диагностики и терапии онкопатологии, становится все более распространенным. Так, например, количественное определение гормональных рецепторов в ядрах клеток аденокарциномы того или иного органа позволяет судить об эффективности проводимой антигормональной терапии [33].

Дифференциальная диагностика различных типов рака эндометрия проводится между несколькими основными группами новообразований, такими как серозная и светлоклеточная карцинома. Стратегии выбора между этими типами представлены в табл. 7, в которой представлены краткие сведения о гистологических и иммуногистохимических характеристиках, используемых для диагностики типа гинекологического рака и дифференциального диагноза.

4.3. Молекулярная диагностика

Методы молекулярной диагностики используются для выявления повреждений в раковых клетках на молекулярном уровне. Они могут проводиться как с применением гистологических препаратов (например, в ходе флуоресцентной гибридизации *in situ* (рис. 1)), так и после выделения какого-либо молекулярного компонента из ткани.

Эти методы имеют диагностическую и прогностическую значимость при выявлении определенных типов раковых опухолей, а также могут быть использованы для прогнозирования ответа на таргетную терапию (например, в рамках подхода, известного как тераностика), оценки ре-

lymph nodes is then investigated and finally potential remote locations that are directly accessible for clinical examination: lymph nodes, skin, liver, pleura. Functional signs that may indicate the presence of metastases are also investigated [30].

By imaging. This type of examination can be useful to check for metastases prior to surgery and can help to clarify local and regional tumor extension. In some cases, when in doubt, the use of guided cytologic puncture might be considered [31].

By endoscopy. Allows to measure the surface extension of tumors accessible to this method of investigation and possibly to nearby organs.

Through surgical observation. Provides useful information on the invaded structures and the possible extension and specifies whether the resection is histologically complete or not, whether there is regional lymph node invasion or not, and whether there are capsular ruptures and/or neoplastic sites outside the lymph nodes.

The search for second cancers (also called second localizations) is systematic for certain types of locations: multifocal foci in the same organ [30].

4.6. Diagnostic strategy

It requires a good knowledge of the advantages and limitations of each method. The objective of medical management of a cancer patient is to treat him or her in the best possible way and at the lowest possible cost. In the vast majority of cases, an anatomopathological diagnosis, with at least a tumor type, is necessary prior to treatment. However, this mostly requires an invasive procedure that has to be considered in relation to the risks and

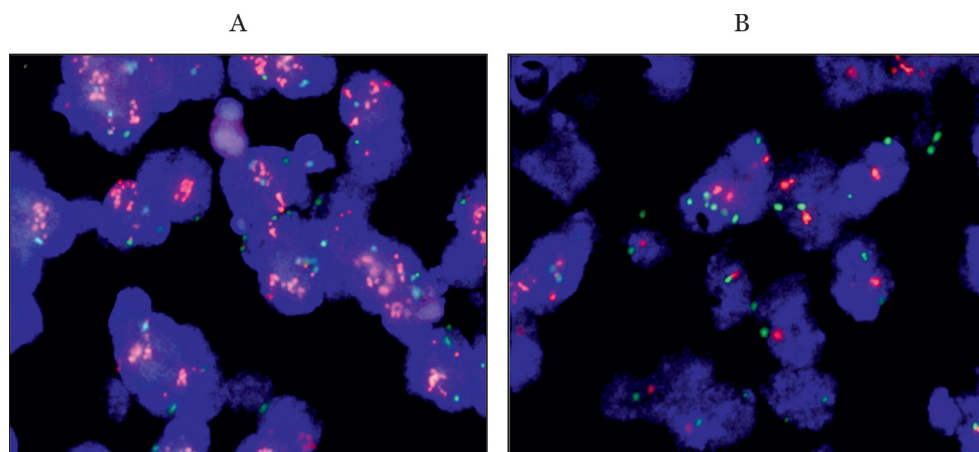


Рис. 1. Гетерогенность амплификации гена *HER2* при серозной эндометриальной карциноме — метод флуоресцентной гибридизации *in situ* [39], увеличение $\times 600$:

А — отношение *HER2*/CEP17 = 7.14; В — отношение *HER2*/CEP17 = 1.25

Fig. 1. Heterogeneity of gene amplification (*HER2*) in serous endometrial carcinoma by fluorescent *in situ* hybridization (FISH) [39] (magnification $\times 600$): А — *HER2*/CEP17 ratio = 7.14; В — *HER2*/CEP17 ratio = 1.25

зультатов проведенного лечения или выявления предрасположенности к развитию рака.

Генетические повреждения последовательно возникают в процессе роста опухоли. Некоторые из них повторяются, что свидетельствует о преобладании определенного типа аномалий при данном типе опухоли [38].

4.4. Дифференциальная диагностика

Чаще всего дифференциальная диагностика проводится между низкодифференцированными опухолями [37] и между дисплазиями и доброкачественными новообразованиями. В клинической практике знания по дифференциальной диагностике необходимы для выявления злокачественных опухолей на ранних стадиях [30]. При дифференциальной диагностике также используются методы молекулярной генетики (табл. 8).

4.5. Диагностика метастазов

Клиническая картина. Устанавливается локализация и размеры опухоли. Определяется распространение клеток опухоли в регионарные лимфоузлы с оценкой возможности ее удаления. Для этого в ходе клинического исследования оценивается состояние лимфатических узлов, кожи, печени и плевры. Также оцениваются функциональные симптомы, которые могут свидетельствовать о метастазировании [30].

УЗИ может быть полезным в выявлении метастазов до проведения хирургической операции, а также местного и регионарного метастазирования. В некоторых сложных случаях возможно проведение пункционной биопсии под контролем УЗИ [31].

Эндоскопическое исследование позволяет определить площадь распространения опухоли и возможность поражения близлежащих органов.

Оценка в ходе хирургических манипуляций дает полезную информацию о структурах, в которые прорастает опухоль, и возможностях ее дальнейшего распространения, а также позволяет ответить на следующие вопросы: возможно ли пол-

benefits for the patient. Some methods have a virtually certain diagnosis, but the inconvenience and risk of a histological confirmatory biopsy is not compensated by the expected benefit for the patient [33].

5. TREATMENT

Depending on the type and stage of the cancer, treatments may include surgery, which is often used, radiotherapy, hormone therapy or chemotherapy; the latter two are considered systemic treatments for metastatic or recurrent cancer [34]. These treatments can be used alone or in combination.

The goal is to achieve a complete cure, extend the patient's survival, and minimize disease-related symptoms [31].

5.1. Therapeutic means

Surgery. It forms the basis of treatment [40], allows surgical staging and a decision to be made on postoperative strategy [41]. The standard treatment consists of a total hysterectomy without adnexal preservation [42]. Hysterectomy by vaginal access is the approach chosen whenever possible [43]. However, it does not allow inspection of the peritoneal surfaces and cytology cannot be retrieved. It is counter-indicated in cases of pelvic adhesions, prior surgical procedures in the pelvic region and inability to correctly position a female patient for vaginal access. Other approaches are possible in the first place, such as the laparoscopically (coelio-) assisted vaginal approach, as well as abdominal, or coelioscopy assisted and robot-assisted laparoscopic radical hysterectomy [31].

Radiotherapy. Because of its documented efficacy in improving locoregional control and reducing rates of vaginal vault recurrence, radiotherapy has been used as an adjunct to surgery for the past 5 decades. Several randomized studies have established the role of adjuvant radiotherapy in reducing local recurrence in patients at risk of raising intermediate local failure.

Таблица 8. Выбор антител при дифференциальной диагностике низкодифференцированных опухолей [37]
Table 8. Antibody selection for poorly differentiated tumours at differential diagnosis [37]

Вид опухоли Differential diagnosis	Панель антител Antibody panel
Карцинома/саркома (эпителиоидные варианты) Carcinoma/sarcoma (epithelioid variants)	CAM5.2, AE1/AE3, S100, Melan-A, HMB-45, CD45, CD30, ALK, PLAP, CD117, десмин/ desmin, CD34
Мезотелиома Mesothelioma	AE1/AE3, CK5/6, кальретинин/ calretinin, тромбомодулин/thrombomoduline, ЕМА, CEA, Ber-EP-4, МОС-31, TIF-1

ное удаление? вовлечены ли в опухолевый процесс регионарные лимфоузлы? есть ли разрывы капсул или очаги неоплазии вне лимфатических узлов?

Поиск другого типа рака, имеющего иное расположение, обязателен при определенной локализации, поскольку возможно развитие множественных очагов малигнизации в одном и том же органе — там, где возникла первичная опухоль [30].

4.6. Диагностическая стратегия

Определение диагностической стратегии требует знаний о преимуществах и ограничениях каждого диагностического метода. Целью оказания помощи раковому больному является назначение такого лечения, которое было бы оптимальным с точки зрения терапевтических целей и по возможности финансово менее обременительным. В подавляющем большинстве случаев необходимо установить патолого-анатомический диагноз с определением типа новообразования до начала лечения. Однако постановка такого диагноза требует проведения инвазивных процедур, которые следует оценить с точки зрения пользы или потенциального вреда для организма пациента. Некоторые методы позволяют получить точный диагноз, однако причиненное неудобство и риск, связанный с выполнением диагностической процедуры — биопсии, например, — превосходит ожидаемую пользу для пациента [33].

5. ЛЕЧЕНИЕ

В зависимости от типа и стадии ракового процесса может применяться хирургическое лечение, лучевая, гормональная или химиотерапия. Два последних вида терапии рассматриваются как системное лечение метастазов или рецидивов рака [34]. Указанные виды лечения могут применяться как по отдельности, так и в комбинации.

Цель терапии — полное излечение, повышение выживаемости пациента и сведение к минимуму симптомов, связанных с заболеванием [31].

5.1. Виды лечения

Хирургическое лечение является базисом терапии этого типа рака [40], позволяет точно установить стадию ракового процесса и принять решение о стратегии ведения пациента после операции [41]. Стандартное хирургическое лечение включает тотальную гистерэктомию, удаление матки с придатками [42]. При отсутствии противопоказаний гистерэктомию проводят через вагинальный доступ [43], однако в этом случае невозможно оценить состояние брюшной полости

External radiotherapy allows local control at the cost of some morbidity but does not influence overall survival.

Intracavitary brachytherapy. Appeared as an alternative to external radiotherapy because of its reduced overall morbidity. Trials are being conducted to determine the additional potential advantage of chemotherapy over radiotherapy, as well as to explore smaller doses of brachytherapy in the early stage of the disease [44].

Hormonotherapy. There are no standardized methods agreed upon. Most oncogynecologists choose megestrol acetate as their first choice, but doses and durations are not standardized. Medroxyprogesterone acetate, depo-medroxyprogesterone acetate and combinations of tamoxifen and progesterone have also been suggested. Some authors suggest the use of cyclic therapy with combined estrogen-progestin pills to induce monthly bleeding, because the continuous treatment ultimately results in an atrophic endometrium; while others suggest an intrauterine hormonal device application. Since progesterone is not well tolerated by many women, since breast sensitivity and weight gain are frequent complaints, it is probably best to use the ultra low dose oral contraceptives, that will also successfully invert the neoplastic endometrium; the dose is likely to depend on the patient's BMI and tumor. Only women with grade 1 endometrioid adenocarcinomas and a disease clinically perceived as confined to endometrium with the best available radiologic modality should be considered for this treatment. Studies have suggested that histologic architectural complexity and high BMI are treatment failure predictors [45].

Chemotherapy for endometrial cancer has advanced over the last four decades and plays a role in the treatment of both advanced and recurrent endometrial cancer. Agents with established anti-tumor activity include doxorubicin, cisplatin and paclitaxel.

First-line chemotherapy. A combination of paclitaxel with carboplatin (analogue of cisplatin) is currently the most commonly used combination for the first-line treatment of metastatic disease. Questions remain about the contribution of these therapies in adjuvant contexts, on the role of pharmacotherapy beyond first-line therapy, and the incorporation of targeted agents. Recent efforts have focused on the addition of other agents of interest such as metformin, temsirolimus and bevacizumab [31, 46].

и взять материал для цитологического исследования. Гистерэктомия вагинальным доступом противопоказана при наличии спаек в малом тазу, недавнем проведении хирургических операций в этой области и невозможности придать необходимое положение пациентке для выполнения операции через этот доступ. Могут использоваться также и другие подходы, среди которых вагинальный доступ под контролем целиакоскопии, абдоминальный доступ, оперативная целиакоскопия, оперативная роботизированная целиакоскопия [31].

Лучевая терапия. Зарекомендовавшая себя в качестве эффективного метода локорегионарного сдерживания роста опухоли, позволяющего бороться с рецидивами рака в области влагалища, лучевая терапия активно применяется в качестве дополнения к хирургическому лечению рака эндометрия в течение последних 50 лет. В ходе многочисленных клинических исследований показана роль адъювантной лучевой терапии в снижении рецидивов рака у пациенток с риском рецидивирования.

Дистанционная лучевая терапия позволяет контролировать тяжесть регионарного ракового процесса, однако практически не влияет на выживаемость.

Внутриполостная брахитерапия возникла как альтернатива дистанционной лучевой терапии, позволяющая снижать частоту осложнений. Проводящиеся в настоящее время клинические исследования показывают потенциальное преимущество химиотерапии по сравнению с лучевой терапией, а также применения малых доз облучения на ранних стадиях рака эндометрия [44].

Гормонотерапия. Этот метод терапии рака эндометрия окончательно не стандартизирован. Большинство онкогинекологов в качестве препарата 1-й линии выбирают мегестрола ацетат, но стандартизированных протоколов, определяющих дозировку и длительность лечения препаратом, на данный момент не существует. Использование медроксипрогестерона ацетата, депо-медроксипрогестерона ацетата и комбинации тамоксифена и прогестерона является в настоящее время дискуссионным. Ряд авторов полагает, что циклическая гормонотерапия активизирует менструальные кровотечения, что позитивно влияет на атрофированный вследствие патологического процесса эндометрий. Поскольку многие женщины не очень хорошо переносят прогестерон, а молочные железы к нему чувствительны, кроме того, довольно часто он вызывает увеличение массы тела, целесообразно использо-

Second-line chemotherapy. There are very limited number of randomized trials of second-line chemotherapy in Phase II or III, most of the results are from non-randomized, but sometimes randomized, Phase II trials for ixabepilone, etoposide (VP-16), paclitaxel, oxaliplatin, doxorubicin, cisplatin, ifosfamide, methotrexate, topotecan, vinblastine and vincristine. Response rates have always been quite low. Ixabepilone, a synthetic analogue of epothilone B, was considered sufficiently promising in Phase II [46, 47].

Targeted therapy. In endometrial cancer, many trials of single-agent mTOR inhibitors are showing occasional patients with long-term benefit. Several studies have shown no association between tumor *PTEN* alterations or *PI3KCA* mutations and the clinical benefit of mTOR inhibitors [48]. One study shows the effect of the combination of everolimus and letrozole with an overall response rate of 32%. No significant toxicity was reported. Serous histology was the most powerful predictor of the non-response. Patients receiving metformin were observed to have an increased response rate to treatment [31].

Anti-angiogenic agents have consistently produced a modest response rate in endometrial cancer. However, C. Kandoth et al. [20] observed toxicities including gastrointestinal and vaginal fistulas, intestinal perforation and venous thromboembolism and have been classified as adverse.

There is currently one trial of carboplatin/paclitaxel with or without concurrent trastuzumab of women suffered from serous endometrial cancer with overexpression or amplification of HER2 [49, 50].

New approaches to immunotherapy based on immune checkpoints of antibodies in hyper- and ultramutated tumors and the administration of tumor-specific drugs: small molecules, against the PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors; novel anti-angiogenic and cytotoxic agents such as epothilones against microsatellite stability and biologically aggressive high copies serous endometrial tumors are among the most promising developments in this disease [51].

5.2. Fertility management

Infertility is also a characteristic of women under 40 with endometrial cancer, unlike their menopausal females, who are often referred to as fertile. In a series of 11 female patients (12%) were accidentally diagnosed with endometrial cancer during the infertility evaluation [52]. A study that analyzed pregnancy outcomes in young women with early endometrial

вать микродозированные комбинированные оральные контрацептивы, которые могут способствовать обратному развитию неопластических процессов в эндометрии. Дозировка зависит от индекса массы тела пациентки и типа опухоли. Только пациентки с высококодифференцированной эндометриальной аденокарциномой, ограниченной пределами исключительно эндометрия, которым показана также лучевая терапия, могут проходить лечение гормонами. Гистологическая неоднородность и высокий индекс массы тела являются предикторами неэффективности лечения [45].

Химиотерапия используется уже более 40 лет в качестве высокоэффективного метода терапии как распространенного, так и рецидивирующего рака эндометрия. Чаще всего применяются следующие противоопухолевые препараты — доксорубин, цисплатин и паклитаксел.

Химиотерапия 1-й линии. Чаще всего используется комбинация паклитаксела с карбоплатином, аналогом цисплатина. Остается нерешенным вопрос об использовании химиотерапии 1-й линии в качестве адъювантной, о роли фармакотерапии после терапии 1-й линии и использовании таргетных препаратов. Новое направление в химиотерапии 1-й линии связано с такими препаратами, как метформин, темсиrolimus и бевацизумаб [31, 46].

Химиотерапия 2-й линии. К настоящему времени проведено немного клинических исследований в фазе II и III, посвященных препаратам этой линии. Есть немногочисленные данные по результатам II фазы клинических испытаний таких препаратов, как иксабепилон, этопозид (VP-16), паклитаксел, оксалиплатин, доксорубин, цисплатин, ифосфамид, метотрексат, топтокан, винбластин и винкристин. Частота положительного ответа на терапию указанными препаратами оказалась низкой. У единственного препарата из упомянутых — иксабепилона (синтетического аналога эпотилона В) — потенциально возможен более сильный терапевтический эффект [46, 47].

Таргетная терапия. Большинство клинических исследований показало эффективность монотерапии ингибиторами mTOR для ряда пациенток с раком эндометрия. Некоторые исследования не выявили связи между вызывающими опухоль мутациями в генах *PTEN* и *PI3KCA* и применением ингибиторов mTOR [48]. В одном исследовании частота случаев положительного ответа на комбинацию эверолимуса и летрозолла составила 32 %. У этой комбинации также не

cancer in Korea reported an infertility rate of 38.3%, which was higher than that of the general population (10–15%) [53]. It is likely that in many of these cases, infertility is the result of anovulation, associated with high levels of uncontrolled circulating estrogen. Unfortunately, all data are retrospective and often are limiting in the obtaining of information on patients' hormonal status unless specifically documented in the patient's record.

Treatment of the ovarian tumor should include dilation and curettage (D and C) to exclude underlying endometrial neoplasia.

The possibility of underlying grade 1 (or higher) endometrioid adenocarcinoma should be considered when treating complex atypical hyperplasia with hormones to preserve fertility. Precautions should be taken to exclude carcinoma as a possibility, either via D and C (as a standard), slide examination by an expert pathologist, or both when considering treatment with hormones and preservation of the uterus.

The number of women with endometrial cancer who wish to preserve their fertility will continue to increase and prospective trials are currently in progress to establish a standard medication. In order to set a new standard of care in this regard, we need a better understanding of the molecular and genetic level of the mechanism of various progesterone formulations on endometrial cancer at the progesterone receptors isoform level [45, 54].

CONCLUSION

Malignant uterine tumors are among the most common cancers of the genital tract with a potentially fatal nature. They mostly occur in postmenopausal women. The essential etiological factors are represented by menopause, nulliparity, infertility, hormonal disorders, certain metabolic and genetic diseases, without forgetting the heredity component. The diagnosis is made on the existence of bleeding (mainly), or abdominal pain. It is confirmed by the anatomopathological examination. The prognosis depends on many clinical and histological factors. The size of the tumor, its thickness, histological type and its differentiation grade, the time of consultation, lymph node invasion and metastases represent the most important prognostic factors. The treatment is based on the combination of surgery and radiotherapy, chemotherapy currently gives a better chance of survival.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

было выявлено токсического эффекта. Серозный тип раковой опухоли являлся мощным предиктором неэффективности лечения. У пациенток, принимавших метформин, отмечен положительный эффект от лечения [31].

Антиангиогенные препараты показали положительный, хотя и довольно скромный эффект в лечении рака эндометрия. Вместе с тем С. Kandoth et al. [20] наблюдали токсические эффекты при терапии этой группой препаратов (желудочно-кишечные и вагинальные фистулы, перфорации кишечника и венозная тромбоэмболия), которые однозначно были классифицированы как неблагоприятные.

Есть результаты недавнего исследования применения карбоплатина/ паклитаксела в комбинации с трастузумабом или без него у пациенток с серозным раком эндометрия с экспрессией или амплификацией HER2 [49, 50].

Новые подходы в таргетной терапии связаны с иммунотерапевтическим направлением, базирующимся на ингибировании контрольных точек и применении специфичных противоопухолевых препаратов. Малые молекулы — ингибиторы PI3K/AKT/mTOR сигнального пути, новые антиангиогенные и цитотоксические препараты — эпотилоны (стабилизирующие агенты, которые могут оказаться не эффективными при микросателлитной стабильности) являются многообещающим направлением терапии рака эндометрия [51].

5.2. Сохранение фертильности

Бесплодие — одна из основных сопутствующих патологий у женщин старше 40 лет с раком эндометрия. В этом состоит их основное отличие от женщин в возрасте менопаузы, которые сохраняют способность к деторождению. В исследовании, проведенном L.R. Duska et al. [52], у 11 пациенток (12 %) в ходе установления причины бесплодия был выявлен рак эндометрия. В когорте корейских женщин с ранней стадией рака эндометрия частота бесплодия составила 38.3 %, что значительно выше, чем в общей популяции (10–15 %) [53]. Предполагается, что в большинстве случаев бесплодие является следствием ановуляции, связанной с высоким уровнем бесконтрольно вырабатываемого эстрогена. К сожалению, данные о гормональном статусе пациенток носят исключительно ретроспективный характер, кроме редких случаев, когда он был описан в истории болезни.

Лечение рака яичников заключается в выскабливании полости матки, направленном на

устранение неопластического процесса в эндометрии.

Прежде чем начинать лечение комплексной атипической гиперплазии с применением гормонов с целью сохранения фертильности, следует исключить наличие эндометриоидной аденокарциномы 1-й (или выше) степени злокачественности. При проведении гормонотерапии и сохранении матки как органа следует исключить наличие карциномы. Для этого проводится либо диагностическое выскабливание матки (стандартная процедура), либо гистологическое исследование, либо комбинация этих мероприятий.

Число женщин с раком эндометрия, которые стремятся сохранить фертильность, неуклонно растет. Проспективные исследования, проводящиеся в этом направлении, дают обнадеживающие результаты. Для того чтобы помочь этой группе пациенток была максимально эффективной, необходимо лучше понимать молекулярные и генетические механизмы, запускаемые различными препаратами прогестерона, действующими на разные изоформы рецепторов прогестерона [45, 54].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Злокачественные опухоли эндометрия — один из самых распространенных видов гинекологического рака с неблагоприятным прогнозом. В основном этой патологии подвержены женщины в возрасте постменопаузы. Основные этиологические факторы — наступление менопаузы, бесплодие, гормональные нарушения, метаболические болезни и генетические аномалии, наследственность. Диагноз ставится на основании клинической симптоматики (кровотечение (основной симптом), абдоминальные боли) и подтверждается результатами патоморфологического исследования. Прогноз заболевания зависит от множества факторов, наиболее значимые из них — размер опухоли, ее толщина, гистологический тип и уровень дифференцировки, на какой стадии выявлена, когда состоялась первичная консультация, распространение опухоли в лимфатические узлы и наличие отдаленных метастазов. Лечение основывается на комбинации хирургических методов, лучевой и химиотерапии, что дает наиболее высокий шанс на излечение.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taylan E., Oktay K. Fertility preservation in gynecologic cancers // *Gynecol. Oncol.* 2019. Vol. 155 (3). P. 522–529. doi: 10.1016/j.ygyno.2019.09.012.
2. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA Cancer. J. Clin.* 2018. Vol. 68 (6). P. 394–424.
3. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective. A Summary of the Third Expert Report. Continuous Update Project. 2018. 112 p.
4. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // *Int. J. Cancer.* 2015. Vol. 136 (5). P. E359–E386.
5. Torre L.A., Farhad I., Siegel R.L., Ward E.M., Ahmaddin J. Global cancer in women: burden and trends // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2017. Vol. 26 (4). P. 444–457.
6. Zhang S., Gong T.T., Liu F.H. et al. Global, Regional, and National Burden of Endometrial Cancer, 1990–2017: Results From the Global Burden of Disease Study, 2017 // *Front. Oncol.* 2019. Vol. 9: 1440. doi: 10.3389/fonc.2019.01440.
7. Hamdi Cherif M., Bidoli E., Birri S. et al. Cancer estimation of incidence and survival in Algeria 2014 // *J. Cancer. Res. Ther.* 2015. Vol. 3 (9). P. 100–104.
8. World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention / ed. by C.P. Wild, E. Weiderpass, B.W. Stewart. Lyon, France, 2020. URL: <http://publications.iarc.fr/586>. Дата обращения: 10.06.2021.
9. Global Cancer Observatory. 2018. URL: <https://gco.iarc.fr>. Дата обращения: 10.06.2021.
10. Institut National de Santé Publique. 2019. URL: <http://www.insp.dz/index.php/publications/registres-des-tumeurs-d-alger.html>. Дата обращения: 10.06.2021.
11. Gospodarowicz M., Benedet L., Hutter R.V. et al. History and international developments in cancer staging // *Cancer Prev. Control.* 1998. Vol. 2 (6). P. 262–268.
12. Benedet J.L. History of the Annual Report // *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2006. Vol. 95 (1). P. S1–S2.
13. Denoix P.F., Schwartz D. General rules for classification of cancers and presentation of the therapeutic results // *Mem. Acad. Chir.* 1959. Vol. 85. P. 415–424. In French.
14. Kottmeier H.L. Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. FIGO, 1982.
15. Wittekind C., Greene F.L., Hutter R.V.P., Klimpfinger M., Sobin L.H. TNM Atlas. Guide Illustré de la Classification TNM/pTNM des Tumeurs Malignes. 5th ed. Springer, 2005. In French.
16. Carcopino X., Levêque J., Riethmuller D. *Cancers Gynécologiques Pelviens*. Elsevier Masson, 2013. 460 p.
17. Suarez A.A., Felix A.S., Cohn D.E. Bokhman Redux: Endometrial cancer “types” in the 21st century // *Gynecol. Oncol.* 2017. Vol. 144 (2). P. 243–249. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.12.010.
18. Wilczyński M., Danielska J., Wilczyński J. An update of the classical Bokhman’s dualistic model of endometrial cancer // *Menopause. Rev.* 2016. Vol. 15 (2). P. 63–68. doi: 10.5114/pm.2016.61186.

REFERENCES

1. Taylan E., Oktay K. (2019). Fertility preservation in gynecologic cancers. *Gynecol. Oncol.*, 155 (3), 522–529. doi: 10.1016/j.ygyno.2019.09.012.
2. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et al. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer. J. Clin.*, 68 (6), 394–424.
3. *Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective. A Summary of the Third Expert Report. Continuous Update Project.* 2018. 112 p.
4. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R. et al. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer.*, 136 (5), E359–E386.
5. Torre L.A., Farhad I., Siegel R.L., Ward E.M., Ahmaddin J. (2017). Global cancer in women: burden and trends. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 26 (4), 444–457.
6. Zhang S., Gong T.T., Liu F.H. et al. (2019). Global, Regional, and National Burden of Endometrial Cancer, 1990–2017: Results from the Global Burden of Disease Study, 2017. *Front. Oncol.*, 9, 1440. doi: 10.3389/fonc.2019.01440.
7. Hamdi Cherif M., Bidoli E., Birri S. et al. (2015). Cancer estimation of incidence and survival in Algeria 2014. *J. Cancer. Res. Ther.*, 3 (9), 100–104.
8. Wild C.P., Weiderpass E., Stewart B.W. (eds.). *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention*. Lyon, France, 2020. Retrieved June 10, 2021 from <http://publications.iarc.fr/586>.
9. Global Cancer Observatory. 2018. Retrieved June 10, 2021 from <https://gco.iarc.fr>.
10. Institut National de Santé Publique. 2019. Retrieved June 10, 2021 from <http://www.insp.dz/index.php/publications/registres-des-tumeurs-d-alger.html>.
11. Gospodarowicz M., Benedet L., Hutter R.V. et al. (1998). History and international developments in cancer staging. *Cancer Prev. Control.*, 2 (6), 262–268.
12. Benedet J.L. (2006). History of the Annual Report. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, 95 (1), S1–S2.
13. Denoix P.F., Schwartz D. (1959). General rules for classification of cancers and presentation of the therapeutic results. *Mem. Acad. Chir.*, 85, 415–424. In French.
14. Kottmeier H.L. *Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer*. FIGO, 1982.
15. Wittekind C., Greene F.L., Hutter R.V.P., Klimpfinger M., Sobin L.H. *TNM Atlas. Guide Illustré de la Classification TNM/pTNM des Tumeurs Malignes*. 5th ed. Springer, 2005. In French.
16. Carcopino X., Levêque J., Riethmuller D. *Cancers Gynécologiques Pelviens*. Elsevier Masson, 2013. 460 p.
17. Suarez A.A., Felix A.S., Cohn D.E. (2017). Bokhman redux: Endometrial cancer “types” in the 21st century. *Gynecol. Oncol.*, 144 (2), 243–249. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.12.010.
18. Wilczyński M., Danielska J., Wilczyński J. (2016). An update of the classical Bokhman’s dualistic model of endometrial cancer. *Menopause Rev.*, 15 (2), 63–68. doi: 10.5114/pm.2016.61186.
19. Just P.A., Borghese B., Alexandre J. (2015). Classification des carcinomes de l’endomètre et de l’ovaire. *Cor-*

19. Just P.A., Borghese B., Alexandre J. Classification des carcinomes de l'endomètre et de l'ovaire // Correspondances en Onco-Théragnostique. 2015. Vol. 4 (4). P. 140–149. In French.
20. Kandath C., Schultz N., Cherniack A.D. et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma // Nature. 2013. Vol. 497 (7447). P. 67–73.
21. Blair A.R., Casas C.M. Gynecologic cancers // Prim. Care Clin. Office Pract. 2009. Vol. 36 (1). P. 115–130. doi: 10.1016/j.pop.2008.10.001.
22. El-Harrak M. Education thérapeutique des patients atteints de cancer. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Univ. Mohamed V. Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, Maroc, 2016. In French.
23. Bats A.S., Rossi L., Le Frere-Belda M.A. et al. Lynch syndrome and endometrial cancer // Bull. Cancer. 2017. Vol. 104 (12). P. 1013–1021.
24. Reid-Nicholson M., Iyengar P., Hummer A.J. et al. Immunophenotypic diversity of endometrial adenocarcinomas: implications for differential diagnosis // Modern Path. 2006. Vol. 19 (8). P. 1091–1100.
25. American Cancer Society. Global Cancer Facts & Figures. 4th ed. Atlanta: American Cancer Society, 2018.
26. Jain M.G., Rohan T.E., Howe G.R., Miller A.B. A cohort study of nutritional factors and endometrial cancer // Eur. J. Epidemiol. 2000. Vol. 16. P. 899–905.
27. Collinet P., Poncelet P., Vinatier D. Cancer de l'endomètre // J. Gynécol. Obstétr. Biol. Reprod. 2008. Vol. 37 (2). P. F57–F63.
28. Selbey J.V., Friedman G.D., Herrinton L.J. Pharmaceuticals other than hormones // Cancer Epidemiology and Prevention / ed. by D. Schottenfeld, J.F. Fraumeni. New York, Oxford University Press, 1996. P. 489–501.
29. Pisani P., Parkin D.M., Muñoz N., Ferlay J. Cancer and infection: estimates of the attributable fraction in 1990 // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1997. Vol. 6 (6). P. 387–400.
30. Baillet. Cours : Cancérologie. Chapitre 3. Université Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine. Service de radiothérapie. Niveau DCEM3, 2015. In French.
31. Belhaddad E.H. La prise en charge du cancer de l'endomètre au CHU Med VI de Marrakech entre 2009 et 2017. Thèse N° 027. Faculté de médecine. Univ. Marrakech, 2019. In French.
32. Goodman A. Endometrial cancer: screening, diagnosis, and surgical staging // F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment. Springer, 2018. P. 13–24.
33. Anatomie-pathologique. Polycopie. Collège Français des Pathologistes. Ch. 1, 7–11. 2012.
34. Pautier P., Haie-Meder C. Les Cancers de l'endomètre. Fondation ARC. Pour la Recherche. Sur le Cancer. 2013. 29 p.
35. Merritt M.A., Cramer D.W. Molecular pathogenesis of endometrial and ovarian cancer // Cancer. Biomark. 2010. Vol. 9 (1–6). P. 287–305.
36. Soslow R.A., Oliva E. Uterine cancer: pathology // Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment / ed. by F. Muggia, E. Oliva. Humana Press, Springer Science + Business Media. New York, 2009.
37. Allen D.C. Histopathology Reporting. Guidelines for Surgical Cancer. 2nd ed. Springer, 2006. P. 239–293.
38. Ellenson L.H. Endometrial carcinoma — molecular genetic aspects // Molecular Pathology of Gynecologic respondances en Onco-Théragnostique, 4 (4), 140–149. In French.
20. Kandath C., Schultz N., Cherniack A.D. et al. (2013). Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature*, 497 (7447), 67–73.
21. Blair A.R., Casas C.M. (2009). Gynecologic cancers. *Prim. Care Clin. Office Pract.*, 36 (1), 115–130. doi: 10.1016/j.pop.2008.10.001.
22. El-Harrak M. *Education thérapeutique des patients atteints de cancer*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Univ. Mohamed V. Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, Maroc, 2016. In French.
23. Bats A.S., Rossi L., Le Frere-Belda M.A. et al. (2017). Lynch syndrome and endometrial cancer. *Bull. Cancer.*, 104 (12), 1013–1021.
24. Reid-Nicholson M., Iyengar P., Hummer A.J. et al. (2006). Immunophenotypic diversity of endometrial adenocarcinomas: implications for differential diagnosis. *Modern Path.*, 19 (8), 1091–1100.
25. *American Cancer Society. Global Cancer Facts & Figures*. 4th ed. Atlanta: American Cancer Society, 2018.
26. Jain M.G., Rohan T.E., Howe G.R., Miller A.B. (2000). A cohort study of nutritional factors and endometrial cancer. *Eur. J. Epidemiol.*, 16, 899–905.
27. Collinet P., Poncelet P., Vinatier D. (2008). Cancer de l'endomètre. *J. Gynécol. Obstétr. Biol. Reprod.*, 37 (2), F57–F63.
28. Selbey J.V., Friedman G.D., Herrinton L.J. Pharmaceuticals other than hormones. In D. Schottenfeld, J.F. Fraumeni. *Cancer Epidemiology and Prevention* (pp. 489–501). New York, Oxford University Press, 1996.
29. Pisani P., Parkin D.M., Muñoz N., Ferlay J. (1997). Cancer and infection: estimates of the attributable fraction in 1990. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 6 (6), 387–400.
30. Baillet. *Cours : Cancérologie. Chapitre 3* (2015). Université Pierre et Marie Curie. Faculté de médecine. Service de radiothérapie. Niveau DCEM3. In French.
31. Belhaddad E.H. (2019). *La prise en charge du cancer de l'endomètre au CHU Med VI de Marrakech entre 2009 et 2017*. Thèse N° 027. Faculté de médecine. Univ. Marrakech. In French.
32. Goodman A. (2018). Endometrial cancer: screening, diagnosis, and surgical staging. In F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment* (pp. 13–24). Springer.
33. *Anatomie-pathologique. Polycopie* (2012). Collège Français des Pathologistes. Ch. 1, 7–11.
34. Pautier P., Haie-Meder C. (2013). *Les Cancers de l'endomètre. Fondation ARC. Pour la Recherche. Sur le Cancer*. 29 p.
35. Merritt M.A., Cramer D.W. (2010). Molecular pathogenesis of endometrial and ovarian cancer. *Cancer. Biomark.*, 9 (1–6), 287–305.
36. Soslow R.A., Oliva E. (2009). Uterine cancer: pathology. In F. Muggia, E. Oliva (eds.). *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment*. Humana Press, Springer Science + Business Media. New York.
37. Allen D.C. (2006). *Histopathology Reporting. Guidelines for Surgical Cancer*. 2nd ed. Springer, 239–293.
38. Ellenson L.H. (2007). Endometrial carcinoma — molecular genetic aspects / In A. Giordana, A. Bovicelli, R.J. Kurman (eds.) *Molecular Pathology of Gynecologic Cancer* (pp. 99–108). Humana Press, New Jersey.

- Cancer / ed. by A. Giordana, A. Bovicelli, R.J. Kurman. Humana Press, New Jersey, 2007. P. 99–108.
39. Buza N. HER2 testing in endometrial serous carcinoma: time for standardized pathology practice to meet the clinical demand // *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2021. Vol. 145 (6). P. 687–691. doi: 10.5858/arpa.2020-0207-ra.
40. Sutton C. Hysterectomy: a historical perspective // *Baill. Clin. Obstet. Gynaecol.* 1997. Vol. 11 (1). P. 1–22.
41. Deffieux X., de Rochambeau B., Ghène G. et al. Hysterectomy for benign pathology: Guidelines for clinical practice // *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)*. 2015. Vol. 44 (10). P. 1219–1227.
42. Van der Meij E., Emanuel M.H. Hystérectomie pour saignement menstruel abondant. 2016. Vol. 12 (1). P. 63–69.
43. Agostini A., Bretelle F., Cravello L. et al. Vaginal hysterectomy in nulliparous women without prolapse: a prospective comparative study // *BJOG*. 2003. Vol. 110 (5). P. 515–518.
44. Balogun O., Lymberis S., Schiff P.B. Early-stage endometrial cancer: radiation — less may be more // F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment*. Springer, 2018. P. 183–200.
45. Duska L.R. Primary hormonal therapy of endometrial cancer // F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment*. Springer, 2018. P. 151–169.
46. Musa F. Treatment of advanced and recurrent carcinoma: chemotherapy // F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment*. Springer, 2018. P. 223–234.
47. Shen L., Hong L., Zhou S., Zhang G., Mai R. Mutational landscape implicates epithelial-mesenchymal transition gene TGF- β 2 mutations for uterine carcinosarcoma after adjuvant tamoxifen therapy for breast carcinoma // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2019. Vol. 12 (3). P. 996–1002.
48. Pant A., Lee I.I., Lu Z. et al. Inhibition of AKT with the orally active allosteric AKT inhibitor, MK-2206, sensitizes endometrial cancer cells to progesterin // *PLoS One*. 2012. Vol. 7 (7): e41593.
49. Konecny G.E., Santos L., Winterhoff B. et al. HER2 gene amplification and EGFR expression in a large cohort of surgically staged patients with nonendometrioid (type II) endometrial cancer // *Br. J. Cancer*. 2008. Vol. 100. P. 89–95.
50. Luz R., Ferreira J., Rocha M., Félix A. Uterine carcinosarcoma: clinicopathological features and prognostic factors // *Acta Médica Portuguesa*. 2016. Vol. 29 (10). P. 621. In Portuguese.
51. Black J.D., Roque D.M., Gold L.I., Santin A.D. Future directions and new targets in endometrial cancer // F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment*. Springer, 2018. P. 259–271.
52. Duska L.R., Garrett A., Rueda B.R. et al. Endometrial cancer in women 40 years old or younger // *Gynecol. Oncol.* 2001. Vol. 83 (2). P. 388–393.
53. Park J.Y., Seong S.J., Kim T.J. et al. Pregnancy outcomes after fertility-sparing management in young women with early endometrial cancer // *Obstet. Gynecol.* 2013. Vol. 121 (1). P. 136–142.
39. Buza N. (2021). HER2 testing in endometrial serous carcinoma: time for standardized pathology practice to meet the clinical demand. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 145 (6), 687–691. doi: 10.5858/arpa.2020-0207-ra.
40. Sutton C. (1997). Hysterectomy: a historical perspective. *Baill. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 11 (1), 1–22.
41. Deffieux X., de Rochambeau B., Ghène G. et al. (2015). Hysterectomy for benign pathology: Guidelines for clinical practice. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)*, 44 (10), 1219–1227.
42. Van der Meij E., Emanuel M.H. (2016). Hystérectomie pour saignement menstruel abondant. 12 (1), 63–69.
43. Agostini A., Bretelle F., Cravello L. et al. (2003). Vaginal hysterectomy in nulliparous women without prolapse: a prospective comparative study. *BJOG*, 110 (5), 515–518.
44. Balogun O., Lymberis S., Schiff P.B. (2018). Early-stage endometrial cancer: radiation — less may be more. In F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment* (pp. 183–200). Springer.
45. Duska L.R. (2018). Primary hormonal therapy of endometrial cancer. In F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment* (pp. 151–169). Springer.
46. Musa F. (2018). Treatment of advanced and recurrent carcinoma: chemotherapy. In F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva (eds.) *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment* (pp. 223–234). Springer.
47. Shen L., Hong L., Zhou S., Zhang G., Mai R. (2019). Mutational landscape implicates epithelial-mesenchymal transition gene TGF- β 2 mutations for uterine carcinosarcoma after adjuvant tamoxifen therapy for breast carcinoma. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 12 (3), 996–1002.
48. Pant A., Lee I.I., Lu Z. et al. (2012). Inhibition of AKT with the orally active allosteric AKT inhibitor, MK-2206, sensitizes endometrial cancer cells to progesterin. *PLoS One*, 7 (7), e41593.
49. Konecny G.E., Santos L., Winterhoff B. et al. (2008). HER2 gene amplification and EGFR expression in a large cohort of surgically staged patients with nonendometrioid (type II) endometrial cancer. *Br. J. Cancer*, 100, 89–95.
50. Luz R., Ferreira J., Rocha M., Félix A. (2016). Uterine carcinosarcoma: clinicopathological features and prognostic factors. *Acta Médica Portuguesa*, 29 (10), 621. In Portuguese.
51. Black J.D., Roque D.M., Gold L.I., Santin A.D. (2018). Future directions and new targets in endometrial cancer. In F. Muggia, A.D. Santin, E. Oliva. *Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment* (pp. 259–271). Springer.
52. Duska L.R., Garrett A., Rueda B.R. et al. (2001). Endometrial cancer in women 40 years old or younger. *Gynecol. Oncol.*, 83 (2), 388–393.
53. Park J.Y., Seong S.J., Kim T.J. et al. (2013). Pregnancy outcomes after fertility-sparing management in young women with early endometrial cancer. *Obstet. Gynecol.*, 121 (1), 136–142.
54. Fleming C.A., Heneghan H.M., O'Brien D. et al. (2018). Meta-analysis of the cumulative risk of endometrial malignancy and systematic review of endometrial surveillance in extended tamoxifen therapy. *Br. J. Surg.*, 105 (9), 1098–1106.

54. Fleming C.A., Heneghan H.M., O'Brien D. et al. Meta-analysis of the cumulative risk of endometrial malignancy and systematic review of endometrial surveillance in extended tamoxifen therapy // Br. J. Surg. 2018. Vol. 105 (9). P. 1098–1106.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мимун Нура — Ph.D., H.D.R., доцент, старший преподаватель Национальной высшей школы ветеринарии (г. Алжир, Алжир); научный сотрудник лаборатории биотехнологий репродукции животных Института ветеринарии (Университет Блidy 1) (Алжир).

Аззуз Мохаммед Яссин — д-р ветеринарии, магистр, факультет естественных наук, Университет Блidy 1 (Алжир).

Бенаджель Умайма — д-р ветеринарии, магистр, Национальная высшая школа ветеринарии (г. Алжир, Баб-Эззуар, Алжир).

Келеф Джамель — Ph.D., H.D.R., профессор Национальной высшей школы ветеринарии (г. Алжир, Баб-Эззуар, Алжир).

Каиди Рашид — Ph.D., H.D.R., профессор Института ветеринарии, лаборатория биотехнологий репродукции животных, Университет Блidy 1 (Алжир).

Образец цитирования: Мимун Н., Аззуз М.Я., Бенаджель У., Келеф Д., Каиди Р. Рак эндометрия (краткий обзор) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2021. № 3. С. 116–136.

ABOUT THE AUTHORS

Mimoune Nora — Ph.D., H.D.R., Senior Lecturer, Associate Professor, National High School of Veterinary Medicine (Algiers, Bab-Ezzouar, Algeria); Permanent Researcher, Laboratory of Biotechnologies related to Animal Reproduction, Institute of Veterinary Sciences, University of Blida 1 (Algeria).

Azzouz Mohamed Yassine — D.V.M., M.S., Faculty of Nature and Life Sciences, University of Blida 1 (Blida, Algeria).

Benadjel Oumayma — D.V.M., M.S., National High School of Veterinary Medicine (Algiers, Bab-Ezzouar, Algeria).

Khelef Djamel — Ph.D., H.D.R., Full Professor, National High School of Veterinary Medicine (Algiers, Bab-Ezzouar, Algeria).

Kaidi Rachid — Ph.D., H.D.R., Full Professor, Institute of Veterinary Sciences, University of Blida 1 (Algeria).

Citation example: Mimoune N., Azzouz M.Y., Benadjel O., Khelef D., Kaidi R. (2021). Uterine cancer at a glance. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 3, 116–136.

ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЕНИЮ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В JOURNAL OF SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

В Journal of Siberian Medical Sciences (далее — JSMS) публикуются научные обзоры и статьи по медицинским наукам, подготовленные по материалам оригинальных научных исследований. JSMS выходит 4 раза в год.

Требования, предъявляемые к публикациям в JSMS, сформулированы с учетом требований, предъявляемых к рецензируемым научным изданиям, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Статьи, отправленные авторами в другие издания и/или напечатанные ранее в них, к опубликованию не принимаются.

При описании научно-исследовательских клинических работ с привлечением человека в качестве объекта исследования авторы должны указать, соответствовали ли они международным и российским законодательным актам о юридических и этических принципах медико-биологических исследований такого рода. Не допускается использование фамилий, инициалов больных и номеров историй болезни. При описании экспериментов на животных необходимо указать, соответствовало ли содержание и использование лабораторных животных правилам, принятым в учреждении, рекомендациям национального совета по исследованиям, национальным законам.

Авторские права соблюдаются в соответствии с Гражданским кодексом Российской Федерации (ч. 4) и другими действующими нормативными документами. Авторы несут полную ответственность за содержание статей.

В редакцию JSMS авторы должны предоставить:

1) *электронную версию статьи*, подготовленную в соответствии с требованиями к оформлению статей, изложенными ниже;

2) *оригинал статьи* в печатном виде с указанием города, даты, фамилии с подписью каждого автора (на последней странице), визой «В печать» и подписью (на первой странице) заведующего кафедрой или иного должностного лица организации, на базе которой выполнено исследование.

Авторы предоставляют статьи в редакцию лично или по почте;

3) *согласие* на публикацию статьи в JSMS и обработку персональных данных авторов (заполняется каждым автором) (см. на сайте НГМУ: www.ngmu.ru/cozo/mos);

4) для сотрудников ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (далее — НГМУ) — *экспертное заключение* отдела координации федеральных программ, конкурсных проектов и инновационного развития управления по науке, инновациям и информатизации НГМУ (см. www.ngmu.ru); для сторонних авторов — *направление на опубликование* на фирменном бланке организации, на базе которой выполнено оригинальное научное исследование, за подписью ответственного должностного лица.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

1. Текст статьи набирается в текстовом редакторе Microsoft Word, Open Office и др., все поля 2 см, шрифт Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5. Текст статьи необходимо направить в редакцию JSMS в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. текст.doc. Допускается отправка файлов в форматах doc, docx.

2. ФИО авторов набирается строчными буквами курсивом на русском языке. Инициалы помещаются перед фамилией автора. Порядок, в котором будут указаны авторы, определяется их совместным решением.

3. Город и название мест работы авторов оформляются строчными буквами курсивом на русском языке.

4. Статья должна содержать аннотацию на русском языке. В аннотации должны быть изложены цели исследования, основные процедуры, результаты оригинальных исследований и выводы. Под аннотацией помещается подзаголовок «Ключевые слова», после него до 10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному индексированию статьи в поисковых системах и системах цитирования. Аннотацию необходимо направить в редакцию JSMS вместе с текстом статьи в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. аннотация.doc. Также предоставляются сведения о каждом из авторов: фами-

лия, имя, отчество (полностью на русском языке и в транслитерации), ученые звания и ученая степень, должность, место работы, рабочий телефон и адрес электронной почты (e-mail). Сведения необходимы для обработки публикаций в базе данных Российского индекса научного цитирования и других системах цитирования. Аннотация, ключевые слова, информация об авторах и название учреждений должны быть также предоставлены на английском языке.

5. Таблицы помещаются в текст статьи. Таблицы должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они упоминаются в тексте (например, табл. 1, табл. 2 и т. д.).

6. Рисунки вставляются в текст статьи, а также предоставляются в виде отдельных пронумерованных файлов формата .jpg или .gif с разрешением не менее 300 dpi. Рисунки должны быть контрастными и четкими, буквы, цифры и символы на них должны быть различимы. Рисунками считаются графики, рентгенограммы, фотографии или любые другие графические объекты. Фотографии людей не должны быть узнаваемыми, либо к ним должно быть приложено письменное разрешение на их публикацию. Рисунки должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они впервые упоминаются в тексте — рис. 1, рис. 2 и т. д. Подписи размещаются в тексте под рисунками. В подписях к микрофотографиям указывается степень увеличения и способ окраски.

7. В тексте статьи используются следующие заголовки: введение, цель исследования, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, список литературы.

8. Используются только стандартные общепринятые сокращения (аббревиатуры). Не применяются сокращения в названии статьи. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, должен предшествовать первому использованию этого сокращения в тексте.

9. Обязательно наличие списка литературы. Библиографические ссылки в тексте статьи даются арабскими цифрами в квадратных скобках, в полном соответствии с нумерацией списка литературы. Ссылки в тексте статьи должны даваться последовательно по возрастанию: [1]...[2]...[3]... и т. д. Развернутое описание источника в списке литературы предоставляются по ГОСТ 7.0.5-2008. Список литературы должен содержать публикации за последние 5 лет. В списке литературы все информационные источники перечисляются в порядке их цитирования.

10. Редакция JSMS берет на себя присвоение каждой публикуемой статье номера УДК и осуществление полного перевода статьи на английский язык.

11. Статьи, не соответствующие указанным редакцией требованиям, к опубликованию не принимаются.

ПОРЯДОК РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ РУКОПИСЕЙ, ПРИНИМАЕМЫХ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ

1. Рукописи статей, поступивших в редакцию, направляются для рецензирования членам редакционного совета с целью их экспертной оценки на предмет соответствия требованиям JSMS и Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки РФ.

Рецензенты уведомляются о том, что в целях обеспечения авторских и других неимущественных прав присланные рукописи не подлежат разглашению, копированию, распространению. Рецензирование проводится анонимно.

При отказе в направлении на рецензирование представленной автором рукописи редакция направляет автору мотивированный ответ в электронном виде.

Редакция журнала по письменному запросу направляет авторам рецензии на поступившие материалы в электронном виде. Авторы обязаны учесть замечания рецензентов и внести в статью соответствующие исправления или предоставить мотивированный ответ о несогласии с замечаниями рецензента.

Редакционная коллегия принимает решение о возможности публикации статьи или отклоняет ее по результатам рецензирования.

Рецензии хранятся в редакции журнала в течение 5 лет с момента публикации.

2. Редакцией не допускаются к публикации:

— статьи, тематика которых не соответствует научному направлению журнала;

— статьи, авторы которых отказываются от технической доработки статей;

— статьи, авторы которых не внесли конструктивные замечания рецензента в текст статьи и не предоставили мотивированный ответ о несогласии с замечаниями рецензента.

В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ. Редакция JSMS не хранит рукописи, не принятые к печати. Рукописи, принятые к публикации, не возвращаются.

ISSN 2542-1174



9 772542 117003