

# ADVANCES OF SCIENCE

PROCEEDINGS OF ARTICLES II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE  
CZECH REPUBLIC, KARLOVY VARY - RUSSIA, MOSCOW, MARCH 29-30, 2017



# **Advances of science**

Proceedings of articles II International scientific conference

Czech Republic, Karlovy Vary - Russia, Moscow, March 29-30, 2017

Czech Republic, Karlovy Vary - Russia, Kirov, 2017

UDC 001  
BBK 72  
D706

**Scientific editors:**

Vojnov Kirill Nikolaevich, Doctor of Technical Sciences, Professor, St. Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics

Vagner Irina Vladimirovna, Doctor of Pedagogical Sciences, Professor, Institute for the Study of Childhood, Family and Upbringing of the Russian Academy of Education

Tihon Aljona Sergeevna, Doctor of medical science, assistant professor, State University of Medicine and Pharmacy named Nikolae Testemicanu

**D706** Advances of science: Proceedings of articles II International scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary - Russia, Moscow, March 29-30, 2017 [Electronic resource] / Editors prof. K.N.Vojnov, I.V.Vagner, A.S.Tihon. – Electron. txt. d. (1 файл 8,4 MB). – Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Russia, Kirov: MCNIP, 2017. – ISBN 978-80-7534-144-0 + ISBN 978-5-00090-119-9.

Proceedings includes materials of the international scientific conference « Advances of science», held in Czech Republic, Karlovy Vary-Russia, Moscow, March 29-30, 2017. The main objective of the conference - the development community of scholars and practitioners in various fields of science. Conference was attended by scientists and experts from Bulgaria, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Moldova, Russia, Tajikistan. International scientific conference was supported by the publishing house of the International Centre of research projects.

ISBN 978-80-7534-144-0 (Skleněný Můstek, Karlovy Vary, Czech Republic)

ISBN 978-5-00090-119-9 (MCNIP LLC, Kirov, Russian Federation)

Articles are published in author's edition. Editorial opinion may not coincide with the views of the authors

Reproduction of any materials collection is carried out to resolve the editorial board

© Skleněný Můstek, 2017

© MCNIP LLC, 2017

# Table of Contents

<b>Section 1. Biology</b> .....	<b>10</b>
Василенко В.Г., Арушанян Ж.А., Тютюнникова Е.Б. История возникновения и развития малярии на Кубани на рубеже XIX в.-XX в. ....	11
Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Перенос лимфоцитами характера повреждения и его локализации.....	16
Козлова Н.И., Морозевич Г.Е., Берман А.Е. Синергизм между интегрином $\alpha 5\beta 1$ и EGFR в механизмах пролиферции и апоптоза клеток эпидермоидной карциномы A431.....	25
<b>Section 2. Medicine</b> .....	<b>40</b>
Азовцева О.В., Иванова Н.В. Многообразие клинических форм токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных.....	41
Бахлыкова Е.А., Филимонкова Н.Н., Матусевич С.Л. Роль антимикробного пептида кателицидина LL-37 при пустулезном и бляшечном псориазе	48
Бреусенко В.Г., Шевченко Н.А., Есипова И.А., Плахова Т.А., Ковалева О.С. Аномальные маточные кровотечения у пациенток в пременопаузе. Эффективность микроволновой аблации эндометрия .....	51
Бурдаков И.Ю., Ковалев С.А., Ромодан Н.А. Применение склеротерапии в сочетании с ультразвуковой кавитацией геморроидальных узлов и проведением дооперационной подготовки препаратом детралекс .....	72
Васильева Ю.В., Заболотная П.Г., Козлова Ж.М. Современные подходы к созданию жевательных таблеток .....	77
Garbuz A., Cerempei D. Evaluation of biological age in comparison with chronological age of employees in the sphere of Chişinău public transport	80
Гюльбякова Х.Н. Фармакологическое исследование экстракта цветков бузины черной жидкого.....	85

Dimitrova S., Dimitrov D., Denkova Z. In vitro study of antimicrobial effect of preparations containing propolis and basil, eucalyptus and yarrow essential oils on cariogenic microorganisms .....	91
Жубыркэ С.В., Гараева С.Н., Леорда А.И., Постолати Г.В. Соотношение медиаторных аминокислот в сыворотке крови у взрослых и несовершеннолетних беременных .....	100
Иванов С.В., Островская Р.У., Байбуртский Ф.С. Антидиабетическая активность солей лития.....	105
Кисляков В.Н. Возможности эндоскопических технологий при лечении острой спаечной кишечной непроходимости.....	116
Лебедева Ю.Е., Тенякова А.А., Валеева Э.Р., Козлова Ж.М. Выбор оптимального состава таблеток с модифицированным высвобождением, обладающих анксиолитическим действием.....	123
Литвинова А.А., Григоричева Л.Г., Платунов В.В. Нейростимуляция спинного мозга (SCS) в лечении хронического невропатического болевого синдрома (первый опыт работы).....	128
Межунц А.В. Лечение острой кишечной непроходимости с использованием эндоскопических технологий.....	133
Нилова О.В., Колбасников С.В. Стратификация общего сердечно-сосудистого риска у больных артериальной гипертензией с дислипидемией.....	139
Правдин Е.В. Особенности лейкоцитарного состава периферической крови и нейтрофильной инфильтрации эндометрия у больных с обострением хронического эндометрита, сальпингоофорита при сопутствующей депрессии.....	154
Правдин Е.В. Особенности тревожно-депрессивных расстройств у больных с обострением хронических воспалительных заболеваний матки и придатков.....	158
Садыков М.И., Нестеров А.М., Сагиров М.Р., Нестеров Г.М. Способ подготовки протезного ложа перед протезированием .....	161

Сапего Е.А., Григоричева Л.Г. Эффективность применения глубокой осцилляции после эндопротезирования тазобедренного сустава.....	167
Tihon A. Telemedicine, e-health and telecommunications.....	175
<b>Section 3. Pedagogy .....</b>	<b>182</b>
Амбарцумова Э.М., Дюкова С.Е. Метапредметные и межпредметные понятия в школьном курсе географии: сопряженность с предметами социально-гуманитарного цикла.....	183
Брайнес А.А. Теоретические подходы к формированию системно-информационной картины мира у старшеклассников в процессе обучения .....	194
Wagner I.V., Panfilova O.I. The results of the study of the professional competence of primary school teachers .....	208
Вершинина Г.Б. Сказочный музыкальный пейзаж как источник детской речи .....	213
Воскобойникова Г.А. Дополнительное образование – уникальный институт детства .....	238
Golub V.V., Golub L.V. Formation of professional legal culture in the system of continuous professional education .....	247
Грохольская О.Г. Личность в условиях нового информационно-технологического уклада общества.....	252
Данилова Ю.С. Подготовка бакалавров по направлению «Педагогическое образование» (профиль «Начальное образование и Иностранный язык (английский)»): значимость коммуникативного взаимодействия .....	256
Досбенбетова А.Ш., Абрамова Г.И., Сейдаева А.Н. Подготовка будущих учителей к использованию технологии коллективного творческого дела .....	262
Дырдин С.Н. Роль преподавателя в интерактивном обучении .....	270
Тамабаева Б.С., Таштобаева Б.Э. Эффективность учебно-исследовательской работы студентов вузов .....	273
Фалалеева О.Н. Формирование понятия «задание в тестовой форме»	278



Хаджиев С.М. Специфика развития поликультурного воспитания в многонациональном регионе.....	301
<b>Section 4. Psychology .....</b>	<b>306</b>
Ivanov A.E. Psychological peculiarities of motivation of young people to the choice of especially dangerous professiij.....	307
Ларина А.В., Григоричева Л.Г. Задачи клинико-психологического сопровождения в стационаре травматолого-ортопедического профиля .....	312
Чернова Е.О. Социально-психологические факторы включенности подростков в уличные криминальные группировки .....	317
<b>Section 5. Sociology.....</b>	<b>323</b>
Власова О.В., Питинова Д.А. Особенности организации деятельности детских общественных объединений в современном обществе .....	324
Капустина М.Г. Характеристики современного казачества – базис социального управления процессами возрождения .....	333
Клинецкая Н.В., Петрушенко Т.К., Федорова Т.Н. Молодежь в информационном обществе.....	340
<b>Section 6. Technology.....</b>	<b>345</b>
Биштаков Р.Б., Ломакин С.П., Гиндуллина Л.Р., Белоногова А.С. Проблема достоверности математических моделей для прогнозирования солеотложений при добыче и переработке нефти .....	346
Борисов А.Е. Анализ существующих технологических решений при ремонте дорожных покрытий .....	351
Буравчук Н.И., Гурьянова О.В. Перспективное техногенное минеральное сырье для строительных материалов.....	357
Войнов К.Н., Хилдаяти А. О решаемой проблеме комплексной защиты воздушной среды от газов промышленных предприятий .....	368
Кирсанова А.А, Крамар Л.Я., Иванов И.М. Высокофункциональные тяжелые бетоны на модифицированных шлакопортландцементях....	372

Паренюк М.А., Спиридонов К.А. Исследования на статическую и усталостную прочность модели кузова полувагона из полиамидных сотовых панелей со стальным каркасом.....	377
Селиванов С.Г., Поезжалова С.Н., Шайхулова А.Ф., Насибуллин Д.Р., Токарева Д.И. Методы модернизации производства на основе его технического перевооружения.....	397
Сенченко К.А. Определение параметров оценки и территорий, в которых тенденция их развития в будущем может привести к социально–градостроительной сегрегации .....	430
Ткаченко С.С., Емельянов В.О., Мартынов К.В. Особенности строения поверхности художественных отливок .....	434
Чихачева О.А., Дмитриева Л.А., Кузнецов Д.А., Фомин Д.Ю. Шариковинтовая передача в механизмах промышленных роботов.....	437
<b>Section 7. Philology .....</b>	<b>454</b>
Erofeeva A.P., Cherkashina E.I. Major grammatical deviations in the structure of spoken British English .....	455
Чернышенко О.В. Инновационное образовательное пространство вуза в контексте компетентностного подхода.....	460
<b>Section 8. Philosophy .....</b>	<b>463</b>
Мартынович С.Ф. Наука как рационально-эмпирическое исследование мира человеком в социальном, культурно-историческом контексте ..	464
Синюкова Н.А. Представления о здоровье и болезни в философии Древней Греции.....	485
<b>Section 9. Economics .....</b>	<b>489</b>
Быкасова Е.В. Комплексный подход к повышению эффективности внешнеторговой деятельности предприятий швейной промышленности в Российской Федерации .....	490
Eremina A.A., Agarkova L.V. Methodological approaches to assessing the financial condition of the organization .....	501



Ivanova E.V. On prerequisites for developing import substitution in metallurgy in Russia .....	506
Маркин М.И., Попов В.Д. Конкурентоспособность строительного комплекса в условиях кризиса.....	515
Савичева А.Н. Развитие правового регулирования организации труда в России .....	518
Середкина И.М. Формирование организационной схемы управления вузом на основе процессного подхода, ориентированной на качество подготовки специалистов с высшим образованием .....	521
Угрюмова М.А. Контроллинг качества как система управления потерями в организации.....	530
Хлусова И.А., Хлусов В.Н. Современное социально-экономическое значение кооперации на селе .....	533
Шарифов Т.А., Хасанов Р.Х. Банкротство - как способ структурного преобразования экономики .....	548
<b>Section 10. Legal Studies .....</b>	<b>558</b>
Ерохина М.Г. Некоторые вопросы сотрудничества банков с коллекторскими агентствами: проблемы и перспективы .....	559

## SECTION 1.

## BIOLOGY

# ИСТОРИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ МАЛЯРИИ НА КУБАНИ НА РУБЕЖЕ XIX В.-XX В.

ВАСИЛЕНКО В.Г., АРУШАНЯН Ж.А., ТЮТЮННИКОВА Е.Б.

Россия, Армавирский государственный педагогический университет

**Аннотация.** В статье рассмотрены основные причины, вызывающие малярию в разные исторические периоды развития Кубани. Проведена оценка особенностей течения болезни, ее возбудителя и его развития с учетом природных условий в регионе. Дан сравнительный анализ заболеваемости малярией на территории России.

**Ключевые слова:** малярия, болезнь, эпидемия, смертность, больница; здоровье населения; врач; инфекционные заболевания; экзогенные причины.

**Abstract.** The article considers the main reasons that cause malaria in different historical periods of the Kuban's development. Was carried out the features of the course of the disease, its pathogen and its development, taking into account the natural conditions in the region. A comparative analysis of the morbidity in Russia is given.

**Key words:** malaria, a disease epidemic, mortality, hospital; public health; medical care; infectious diseases; exogenous reasons.

Для России до первых десятилетий XX в. была характерна смертность традиционного типа, обусловленная преимущественно экзогенными факторами. В XX столетии Россия по уровню заболеваемости и смертности лидировала среди европейских стран, на что в первую очередь повлияло широкое распространение инфекционных болезней. Только малярией ежегодно регистрировалось около 5 млн. заболевших. С 1891 по 1914 гг. в 50 губерниях России от различных заразных болезней умерло 2,35 млн. человек [1].

Неблагоприятны климатические условия и неудовлетворительное санитарное состояние приводили к тому, что подобные инфекции имели значительное распространение среди населения региона. Иногда в течение одного года в России наблюдались эпидемии нескольких инфекционных заболеваний. Подобная ситуация наблюдалась и на Кубани. Известный историк и общественный деятель Кубани Ф. Щербина писал, что санитарные условия в Черномории и Екатеринодаре способствовали распространению болезней. Люди повально болели катаром, нервными и гнилыми горячками с сыпью, рожей, цингой, лихорадками, большую смертность давали натуральная оспа и корь [2].

В рапорте генералу Рашпилю, присланной из Войсковой Врачебной управы говорилось, что «по враждебному для здоровья климату Черномории чаще встречаются между служащими на кордонной линии простуда, горячки, лихорадки, рожа, ломота, цинга и другие» [3]. А так как врачей не хватало и лазареты располагались не всегда удобно и близко от расположения войск, то наблюдалась высокая смертность населения.

П.П. Короленко так писал о состоянии здоровья населения в 1818 г.: «В Черномории были тяжкие болезни и произвели смертность, что из 10 заболевших 5 умерло. Вследствие действия зловредных испарений, скопившихся в атмосфере из гнилых болот, привело к болезням. Атаман Матвеев совместно с главным войсковым медиком надворным советником Прохоровичем приняли меры. Для улучшения помощи заболевшим открылись лазареты в Щербиновке и Брюховецком. Через три месяца болезни и смертность прекратились» [4].

Издавна на Кубани была известна малярия, которая особенно в весеннее и осеннее время уносила тысячи жизней. Мужчины чаще подвергались малярии, чем женщины, так как они больше времени находились близ заболоченных мест (косили траву, ловили рыбу). От малярии вымирали целые казачьи семейства. Особенно страдали первые поселенцы: их смертность была настолько высокой, что правительство в середине XIX в. вынуждено было расселить жителей 14 станиц нагорной полосы по другим селениям Закубанского края [5].

Размещение станиц, постов и укреплений в неблагоприятных местах, отсутствие необходимых средств гигиены способствовали распространению малярии. В начале 40-х гг. XIX в. Преображенском укреплении каждый месяц умирало от лихорадки (малярии) и других болезней не менее 75% всего гарнизона. В рапорте Николаю I сообщалось: «В некоторых местах, как, например, Редут–Кале, на постах Рионском, а наиболее на Челодидском, умирает почти всегда половина, а на других – третья часть людей в год» [6]. Малярийные лихорадки сильно ослабляли организм и даже после «формального» выздоровления человек долго не был способен совершать тяжелые марши, вести строительные работы и т.д.

Ситуация не изменилась и во второй половине XIX в. Так, в станице Ханской с июня 1862 г. по январь 1863 г. умерло 69 взрослых и 81 ребенок, аналогичной была ситуация и в других станицах Кубани, где при средней численности жителей в 1100–1200 человек в первые 6 месяцев умерла 1/10 часть жителей. В начале XX в. смертность уменьшается до минимума: в 1906 г. в Кубанской области заболело малярией 224 536, из них умерло 1 901 (0,08%), в 1914 г.–из 307 126 умерло 3 115 (1,0%) [7].

Термин «малярия» был введен в 1717 г. итальянцем Ланцизи, он связывал болезнь с ядовитыми испарениями воздуха, поэтому малярия переводится с итальянского как «плохой воздух», так же ранее она была известна как «болотная лихорадка». В 1880 г. французский врач Лаверан в Алжире открыл возбудителя малярии человека. В 1897 г. Р.Россе доказал, что переносчиками малярии являются комары рода *Anopheles* (опасный, вредный). Даже в настоящее время малярия вызывает около 350–500 миллионов инфицированных и около 1–3 млн. смертей на земном шаре. 90% случаев приходится на районы Африки. Есть предположение, что малярией болеют почти 50 000 лет. Родиной ее считается Западная и Центральная Африка. Первые летописные свидетельства лихорадки, вызванной малярией, обнаружены в Китае. Они датируются примерно 2700 г. до н.э.

В России в конце XIX– начале XX в. малярия занимала первое место по числу зарегистрированных больных среди всех инфекционных болезней. В. Фавр, автор классического труда, посвященного распространению малярии в



России, подсчитал, что малярия ежегодно обходилась в 5 500 000 руб., но при этом оговаривалось, что эта цифра значительно меньше действительной, так как нет возможности учесть все данные. Наиболее пораженными малярией считались Астраханская, Воронежская, Харьковская, Саратовская и другие губернии. Однако интенсивность заболеваемости в них значительно уступала таковой на Кавказе и в Средней Азии. Если в наиболее пораженных малярией губерниях заболеваемость составляла от 300–500 на 10 000 населения, то на Кавказе и в Средней Азии этот показатель доходил до 784–2126. Максимум заболевания в европейской части России приходился на весну, а в азиатской России – на лето и раннюю осень. Никаких особых мер по борьбе с малярией в дореволюционной России не предпринималось. В лучшем случае дело ограничивалось лечением больных. В конце столетия заболеваемость этой инфекцией снизилась. Причину этих явлений нужно искать не в целенаправленных оздоровительных мероприятиях, а в хозяйственном освоении необжитых территорий, в расширении площади обрабатываемой земли и осушении болот. Некоторую положительную роль сыграли распространение хинина и рациональное лечение болезни [8].

Малярия – острая протозойная болезнь, характеризуется лихорадочными приступами, анемией, увеличением печени и селезенки. Источником инфекции является больной человек, а возбудителем плазмодии 4 видов. Заболевание переносят различные виды (свыше 50) комаров. Заражение происходит при укусе его инфицированным комаром, возможно заражение при переливании крови больного малярией, внутриутробное инфицирование. Заболевание имеет сезонность, связанную с активностью комаров в различных климатических зонах: в умеренно теплых зонах летом 1,5–2 месяца. Для малярии характерны приступы лихорадки, стадийное развитие – смена стадий озноба, жара и пота. Больной не может согреться, конечности синюшные, пульс учащен, дыхание поверхностное, температура повышается до  $41^{\circ}$ , наступает период жара, больной возбужден, беспокоен, наблюдается бред, спутанность сознания, судороги. В конце этого периода температура падает, больной засыпает. Затем эти периоды повторяются с определенной цикличностью, зависящей от вида



возбудителя. Для лечения необходимы современные противомаларийные синтетические препараты.

Таким образом, на Кубани малярия была известна давно и имела значительное распространение среди населения региона. Одной из причин появления значительного количества больных являлось отсутствие эффективных профилактических и противоэпидемических мероприятий в рассматриваемый период.

### Список литературы:

1. Токарева Н.А. История глазами доктора. Хроника российского здоровья за 100 лет // Экология и жизнь. 2004. № 6 (41). С.72.
2. Щербина Ф. История Кубанского казачьего войска. В 2-х т. Т.2. –Екатеринодар, 1913. С.738.
3. Государственный архив Краснодарского края (ГАКК) Ф.249. Оп.1. Д.1770. Лл.1–2.
4. Короленко П.П. Материалы по истории Кубанского казачьего войска / Кубанский сборник. Т.13. – Екатеринодар, 1908. С.72.
5. Семенцов М.В. Некоторые аспекты народной медицины (в контексте биологической и культурной адаптации переселенцев к природно–географическим условиям Кубани) // Освоение Кубани казачеством: вопросы истории и культуры. – Краснодар, 2002. С.240.
6. Пылков О.С. Российская армия в трансформационных процессах на Северном Кавказе (конец XVIII–первая половина XIX вв.). – Армавир, 2001. С.124–125.
7. Кубанский календарь на 1908 г. – Екатеринодар, 1908. С.87; Кубанский сборник. Т.21. – Екатеринодар, 1916. С. 130.
8. Васильев К.Г. История эпидемий и борьба с ними в России в XX столетии. – М., 2001. С.23.

# ПЕРЕНОС ЛИМФОЦИТАМИ ХАРАКТЕРА ПОВРЕЖДЕНИЯ И ЕГО ЛОКАЛИЗАЦИИ

ГЕВОРКЯН Н.М., КОЗЛОВА Н.И.

РОССИЯ, НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ БИОМЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ ИМ.  
В.Н. ОРЕХОВИЧА РАН

**Аннотация.** Обсуждается свойство лимфоидных клеток переносить реципиенту информацию о характере повреждения того или иного органа, вызванного в организме донора, с воспроизведением картины восстановления.

**Ключевые слова:** Т-лимфоциты, регенерация.

**Abstract.** The property of lymphoid cells to transfer to a recipient the information on the mode of organ damage caused in the donor's organism, with the reproduction of the restoration pattern, is discussed.

**Key words:** T lymphocytes, regeneration.

Способность лимфоцитов при их адоптивном переносе воспроизводить у реципиента характер повреждения того или иного органа, в точности соответствующий таковому у донора, остается одним из загадочных явлений в проблеме лимфоидной регуляции.

Впервые перенос лимфоцитов селезенки из организма донора с частичной гепатэктомией в организм сингенного реципиента был осуществлен в 1968 году А.Г.Бабаевой при изучении восстановительных процессов [2]. Вскоре после этого была обнаружена преимущественная органоспецифичность переносимой лимфоидными клетками регенерационной информации, которая в дальнейшем была подтверждена на многочисленных экспериментальных моделях, и было установлено, что переносчиками регенерационного сигнала являются именно популяции Т-лимфоцитов [3]. То есть было показано, например, что при переносе лимфоцитов от доноров с поврежденной почкой здоровому реципиенту у последнего

происходит достоверный запуск пролиферации клеток канальцевого эпителия почек; перенос лимфоцитов от доноров с анемией, вызванной 2%-й кровопотерей, приводит к достоверной стимуляции эритропоэза у здоровых реципиентов; в результате переноса лимфоцитов после повреждения печени здоровым реципиентам у них происходит запуск процессов деления клеток печени; и т.д.

В обобщающих монографиях было описано свойство лимфоцитов [3,4], а также полученной из них РНК [5] индуцировать у здоровых животных специфические особенности морфогенеза той ткани, которая претерпевает те или иные изменения у доноров лимфоцитов. Это свойство лимфоидных клеток неоднократно воспроизводилось как *in vivo*, так и *in vitro* [5,10]. При этом – что особенно важно в данном контексте, поскольку это явление казалось необъяснимым, и именно с ним связана «загадочность», – это не только перенос сигнала, например, о повреждении того или иного органа, с последующей активацией сигналов к его восстановлению, но и поэтапное воспроизведение у реципиента лимфоцитов такой же в точности картины восстановления органа, какая имеет место у донора.

Так, на крысах, при воздействии разных факторов, вызывающих анемию (6-часовая гипоксия на высоте 7000 м, введение кобальта, воздействие фенилгидразином), была показана идентичность воспроизведения в организме реципиентов качественно разных в каждом из этих случаев морфологических изменений, которые вызывали морфогенетически активные лимфоциты доноров [9]. В другой работе было показано, что лимфоидные клетки доноров после кровопотери, при их однократном введении нормальным реципиентам, передают им все морфологические признаки, отличающие репаративный эритропоэз от физиологического [6]. В культуре эритробластических островков костного мозга выявлена различная реакция островков разных типов, а также участвующих в процессе кроветворения лимфоцитов, на эритропоэтин и макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ) [11]. Показано также [7], что лимфоидные клетки переносят особенности токсической анемии, вызванной у мышей введением арсенита натрия. В отличие от анемии,

вызываемой кровопотерей и сопровождающейся развитием репаративного и резервного эритропоэза, в случае токсической анемии под действием мышьяка изменения пролиферативной активности всех типов эритробластов (базофильных, полихроматофильных и оксифильных), типичные для обоих воздействий, не приводили к изменению численности указанных типов эритробластов и эритроцитарно-лейкоцитарного индекса в костном мозге.

На сегодняшний день остается невыясненной причина переноса Т-лимфоцитами характера повреждения, то есть способность этих клеток не только переносить регенерационный сигнал, но и воспроизводить у реципиента особенности, то есть все нюансы, протекающего у донора регенерационного или патологического процесса. Соответственно, речь пойдет о выяснении возможных причин такого воспроизведения.

Объяснением этого загадочного свойства могут служить, с нашей точки зрения, два взаимосвязанных фактора, каждый из которых вносит свой вклад в явление переноса лимфоцитами характера повреждения.

Вряд ли сегодня можно усомниться в том, что основой сетевых отношений Т-лимфоцитов с тканями организма является распознавание ими уникального антигенного профиля каждого типа ткани. Так или иначе, этот принцип, по-видимому, лежит в основе способности Т-лимфоцитов переносить **органоспецифический** сигнал пролиферации в процессе восстановления органа [3,4].

Помимо этого, приведенные выше примеры с кроветворной тканью, когда анемия, вызываемая воздействием разных факторов, в каждом случае имеет вполне определенные особенности, наводят на мысль, что в сетевых отношениях Т-лимфоцитов с той или иной тканью может иметь значение не только гистотип, но еще и стадия дифференцировки ткани, то есть опять же особенности ее антигенного профиля, поскольку известно, что клетки на разных стадиях дифференцировки – в данном случае это относится ко всем известным типам эритробластов – в антигенном отношении не идентичны. Такое предположение согласуется с воззрениями Е.П.Харченко [12],

который, со ссылкой на публикацию Sercarz E.H., Maverakis E. [21], полагает, что в составе иммунной системы в любой момент присутствуют лимфоидные клетки, находящиеся на разных стадиях дифференцировки и, соответственно, имеющие «уникальный набор характеристик, реализуемых их геномом». В свете этих представлений, не исключено, что в процессе регенерации ткани соответствующие лимфоциты, находящиеся на той или иной стадии дифференцировки, по очереди связываются с клетками своей ткани-мишени по ходу их дифференцировки, передавая их по эстафете «из рук в руки» и сопровождая на всем протяжении процесса созревания.

Несколько сложнее, чем с клетками, дело обстоит с рассмотрением этих вопросов на органном уровне. На сегодняшний день известно, например, что гепатоциты разной локализации в пределах печеночной доли отличаются по своим морфогенетическим свойствам. Однако связано ли это с разной степенью их дифференцировки, никто не проверял. Тем не менее, имеющиеся в этой связи данные заслуживают особого внимания.

Как обнаружил Stewart Sell, в 1973 году адаптировавший высокочувствительный метод радиоиммуноанализа для определения альфа-фетопротейна ( $\alpha$ -ФП) [17], индукция пролиферации клеток печени при ее регенерации ассоциирована с возобновлением (рекапитуляцией) синтеза  $\alpha$ -ФП [18]. В дальнейшем это было подтверждено Н.В.Энгельгардтом с соавт. [14]. То есть, являясь безусловным маркером печеночных клеток-предшественников в желточном мешке и эмбриональной печени,  $\alpha$ -ФП начинает вновь экспрессироваться у взрослых особей; при этом, как показано в исчерпывающем обзоре S. Sell [18], он продуцируется гепатоцитами при их пролиферации и может служить маркером делящихся клеток печени. В указанном обзоре описаны результаты изучения природы клеток, продуцирующих  $\alpha$ -ФП в ответ на повреждение печени токсическими веществами или частичной гепатэктомией.

Таким образом, если проследить за тем, клетки какого именно гистотипа, пролиферируя в ответ на повреждение органа или утрату печеночной ткани,



экспрессируют  $\alpha$ -ФП, можно выяснить природу клеток, отвечающих на то или иное воздействие.

Таким путем было показано [19], что воздействие на печень токсических химических веществ приводит к неодинаковому повреждению печеночной долики. Например,  $\text{CCl}_4$  вызывает центрлобулярное повреждение, галактозамин и нитрат свинца действуют на гепатоциты средней зоны долики, аллиловый спирт повреждает перипортальные гепатоциты. Это предполагает наличие разнородности, присущей клеткам, относящимся к одному и тому же гистотипу. Действительно, S. Sell [18] отмечает, что гепатоциты в печени находятся на разных стадиях дифференцировки, и их ответ на повреждение неодинаков. Так, показано, что зрелые гепатоциты пролиферируют в ответ на частичную гепатэктомию и на индуцированное  $\text{CCl}_4$  центрлобулярное повреждение; гепатоциты средней зоны долики отвечают на повреждение, вызываемое галактозамином и нитратом свинца [18, 22]. Помимо этого, такие химические соединения как  $\alpha$ -нафтил-изоцианат, 4,4'-диаминофенилметан, фуран являются токсичными для клеток желчных протоков [18]. Как было показано в более ранних ауторадиографических исследованиях, предшественники клеток желчных протоков и гепатоциты относятся к разным популяциям клеток, каждая из которых воспроизводит только свою собственную разновидность клеток [16].

Далее, было обнаружено [23], что протоковые клетки, являясь «бипотентными», реагируют тогда, когда повреждение гепатоцитов сопровождается воздействиями, которые ингибируют пролиферацию гепатоцитов; а также то, что стволовые клетки протоков отвечают на повреждение протока, вызываемое химическими веществами или наложением лигатуры на желчный проток [20].

Следует упомянуть еще об одном типе клеток, происхождение которых пока обсуждается и которые называют малыми перидуктальными гепатоцитоподобными клетками. Повреждение печени ретрорзином восстанавливается за счет популяции этих клеток даже после разрушения желчных протоков 4,4'-диаминодифенилметаном (DAPM) [13].



Таким образом, в настоящее время выделяют три типа клеток печеночного происхождения, которые отвечают на повреждение: зрелые гепатоциты, «бипотентные» клетки протоков (дуктулярные клетки) и предполагаемые стволовые перидуктулярные гепатоцитоподобные клетки. Гепатоциты многочисленны и быстро отвечают на утрату печеночной ткани одним или двумя циклами деления, однако они дают начало только гепатоцитам. Предшественники протоковых клеток не так многочисленны, они могут пролиферировать, отвечая бóльшим количеством делений, нежели гепатоциты, и считаются «бипотентными», то есть могут давать начало как билиарным клеткам, так и гепатоцитам. Перидуктулярные гепатоцитоподобные стволовые клетки встречаются в печени редко, имеют очень высокий пролиферативный потенциал, и им приписывают мультипотентность. Хотя и имеются данные, подтверждающие внепеченочную (костномозговую) природу перидуктулярных стволовых клеток (показано, что после трансплантации костного мозга гепатоциты могут экспрессировать генетические маркеры донорских гематопоэтических клеток), однако существуют и противники такого взгляда.

Таким образом, от того, какие именно типы клеток внутри органа (отличающиеся гистотипом, пролиферативным потенциалом и дифференцировочным статусом) страдают при повреждениях того или иного характера, зависит то, какие конкретно субпопуляции лимфоцитов будут преимущественно отвечать на это повреждение и осуществлять присущую им морфогенетическую функцию, вызывая у интактного реципиента, при их адоптивном переносе, изменения на уровне того же самого тканевого компонента органа, который был поврежден у донора.

Мы полагаем, что приведенные здесь данные позволяют объяснить явление переноса лимфоцитами не только сигнала о повреждении, но и информации о характере повреждения, и связано это с тем, что в случае каждого конкретного воздействия на организм ответ на уровне лимфоидных клеток обеспечивается конкретной субпопуляцией (субпопуляциями) Т-лимфоцитов, ответственной за поддержание

численности именно данной разновидности ткани (тканей), входящей в состав органа.

Более того, обсуждаемые выше данные позволяют объяснить не только механизм передачи лимфоцитами сигналов о характере повреждения, со всеми особенностями протекающего у доноров регенерационного (или патологического) процесса, но и являются еще одним наглядным свидетельством наличия в циркуляции представителей всевозможных тканеспецифических лимфоцитов, то есть подтверждают концепцию существования в высокоорганизованном многоклеточном организме субпопуляций клеток-регуляторов пролиферации (КРП) всех разновидностей существующих в организме тканей [8].

В этой связи небезынтересно отметить, что гистологи различают у позвоночных в общей сложности около двухсот различных типов клеток. Однако если учесть, что «даже после дифференцировки клетки могут сохранять свое позиционное значение», можно утверждать, что одинаково дифференцированные клетки одного типа в разных частях организма «могут быть неэквивалентными» (пример – хрящевые клетки, которые образуют зачатки различных костей, растут с разной скоростью, сохраняя эти особенности даже в условиях культуры тканей в изоляции друг от друга и от остальных частей зародыша, показано на зачатках большеберцовой и малоберцовой костей куриного эмбриона: эти зачатки вначале одинаковы по величине, но из них развиваются кости, очень сильно различающиеся по размерам) [1]. «Такая неэквивалентность обнаружена также у клеток кожи и нервной системы. Это означает, что клетки организма значительно более разнообразны, чем обычно считают гистологи» (там же). В то же время это предполагает возможность наличия еще бóльшего числа (нежели число существующих разновидностей тканей) различных субпопуляций циркулирующих тканеспецифических Т-клеток-регуляторов пролиферации, осуществляющих в организме специальную морфогенетическую функцию.

**Список литературы:**

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. М., «Мир». 1987. Т.4. 197 с.
2. Бабаева А.Г. Иммунологические реакции в процессах нормального и восстановительного роста. В сб.: Регенерация и клеточное деление. М.: Медицина. 1968. С. 11-16.
3. Бабаева А.Г. Регенерация и система иммуногенеза. – М., «Медицина». 1985.
4. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Зотиков Е.А. Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей. – М., Издательство РАМН. 2009. 108 с.
5. Бабаева А.Г., Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах. – М.: Группа МДВ, 2016. 371 с.
6. Белан Е.И. Способность клеток перитонеального экссудата запускать различные механизмы эритроидной дифференцировки на различных сроках после массивной кровопотери у мышей // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2000. Т. 129, № 5. с. 521-524.
7. Белан Е.И., Скальная М.Г. Изменение эритропоза у нормальных мышей под воздействием перитонеальных клеток, трансплантированных от сингенных доноров с длительной интоксикацией арсенитом натрия // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1999. Т. 128, № 12. с. 646-649.
8. Донцов В.И. Применение теории гиперцикла для анализа процессов межклеточной регуляции пролиферации тканей: доказательства существования специализированной клеточной системы регуляции пролиферации тканей // Успехи соврем. биол. 1986. Т. 101. Вып. 1. С. 18.
9. Попугайло М.В. Изучение роли лимфоидных клеток в регуляции гемопоэза при экстремальных воздействиях на организм: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Челябинск, 1979. 26 с.
10. Тишевская Н.В. Культивирование эритробластических островков костного мозга. Челябинск, 2016. 144 с.
11. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние эритропоэтина и макрофагального колониестимулирующего фактора на пролиферативную активность эритроидных клеток в культурах эритробластических островков // Медицинский академический журнал. 2003. Т. 3. № 3. С. 67-72.
12. Харченко Е.П. Иммунное узнавание и иммунная привилегия // Иммунология. 2008. № 2. С. 118-124.
13. Best D.H., Coleman W.B. Bile duct destruction by 4,4'-diaminodiphenylmethane does not block the small hepatocyte-like progenitor cell response in retrorsine-exposed rats // Hepatology. 2007. v. 46. P. 1611–1619.
14. Engelhardt N.V., Lazareva M.N., Abelev G.I. et al. Detection of  $\alpha$ -fetoprotein in mouse liver differentiated hepatocytes before their progression through S phase // Nature. 1976. 263. P. 146–148.
15. Petersen B.E., Zajec A.F., Michalopoulos G.K. Hepatic oval cell activation in response to injury following chemically induced periportal or pericentral damage in rats // Hepatology. 1998. v. 27. P. 1030–1038.

16. Ruben E. The origin and fate of proliferated bile ductular cells // *Exp Mole Pathol.* 1964. v. 3. P. 279–286.
17. Sell S, Gord D. Refinement of radioimmunoassay for detection of 1 ng rat alpha-1 fetoprotein. *Immunochemistry.* 1973;10:439–442.
18. Sell S. Alpha-Fetoprotein (AFP), Stem Cells, and Cancer: How Study of the Production of AFP During Chemical Hepatocarcinogenesis Led to Reaffirmation of the Stem Cell Theory of Cancer // *Tumor Biol.* 2008. 29(3). P. 161-180.
19. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells // *Hepatol.* 2001. v. 33. P. 738–750.
20. Sell S. Comparison of oval cells induced in rat liver by feeding N-2-fluorenylacetamide in a choline devoid diet and bile ducts induced by feeding 4,4-diaminodiphenylmethane // *Cancer Res.* 1983. v. 43. P. 1761–1767.
21. Sercarz E.H., Maverakis E. // *Mol. Immunol.* 2004. Vol. 40. P. 1003-1008.
22. Tournier I., Legres L., Schoevaert D., et al. Cellular analysis of  $\alpha$ -fetoprotein gene activation during carbon tetrachloride and D-galactosamine-induced acute liver injury in rats // *Lab Invest.* 1998. v. 59. P. 657–665.
23. Yin L., Lynch D., Ilic Z., et al. Proliferation and differentiation of ductular liver precursor cells and non-parenchymal cells during the restitutive response of the rat liver to carbon tetrachloride injury after inhibition of hepatocyte proliferation by n-2-acetylaminofluorine // *Histol. Histopathol.* 2002. v. 17. P. 65–81.

# СИНЕРГИЗМ МЕЖДУ ИНТЕГРИНОМ $\alpha 5\beta 1$ И EGFR В МЕХАНИЗМАХ ПРОЛИФЕРЦИИ И АПОПТОЗА КЛЕТОК ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ A431

Козлова Н.И., Морозевич Г.Е., Берман А.Е.

Россия, НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича

**Аннотация.** Блокирование экспрессии интегрин  $\alpha 5\beta 1$  и торможение активности рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) в линии A431 эпидермоидной карциномы человека приводит к существенному торможению пролиферации клеток. Анализ митотического цикла показал, что снижение экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  сопровождается задержкой цикла в G1/G0 фазе с последующим значительным увеличением популяции апоптотических клеток (фракции суб-G1). Ингибирование активности EGFR сопровождалось задержкой цикла в G1/G0, но не вызывало существенных изменений популяции суб-G1 клеток. Торможение экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  приводило к резкому снижению содержания в клеточном лизате активных (фосфорилированных) форм киназы фокального контакта FAK, киназ Akt и Erk и увеличению содержания активных форм каспаз 3 и 9. Ингибирование активности EGFR сопровождалось снижением активных форм FAK и Erk, но не влияло на активность каспаз 3 и 9. Блокирование  $\alpha 5\beta 1$ , как и обработка клеток ингибитором EGFR, резко снижало содержание в лизате фосфорилированных форм этого рецептора. В опытах IP-Western blotting обнаружена копреципитация  $\alpha 5\beta 1$  и EGFR. В работе впервые обнаружено, что интегрин  $\alpha 5\beta 1$  участвует в регулировании роста путем активации EGFR и ингибирования апоптоза.

**Ключевые слова:** опухолевые клетки, интегрины, факторы роста, пролиферация, апоптоз.

**Abstract.** Down-regulation of  $\alpha 5\beta 1$  integrin expression and attenuation of activity of epidermal growth factor receptor (EGFR) significantly slowed down the growth rate of A431 human epidermoid carcinoma cells. The analysis of cell cycle distribution showed



that lowered expression of  $\alpha 5\beta 1$  led to arrest in G1/G0 followed by sizeable increase of sub-G1 (apoptotic) nuclei. Inhibition of tyrosine kinase activity of EGFR also led to G1/G0 arrest but no substantial increase in sub-G1 was observed. In the lysates of cells with down-regulated  $\alpha 5\beta 1$  expression the amounts of active (phosphorylated) forms of focal adhesion kinase (FAK), protein kinases Akt and Erk decreased whereas the active forms of caspases 3 and 9 were elevated. Inhibition of EGFR activity also led to a decrease of the levels of active FAK and Erk; however, the activities of caspases 3 and 9 remained unchanged. Down-regulation of  $\alpha 5\beta 1$  and inhibition of EGFR dramatically dropped The amount of phospho- EGFR. Finally, we observed that  $\alpha 5\beta 1$  and EGFR can co-precipitate, suggesting physical interaction of these receptors in A431 cells. This study is the first to demonstrate that, in a particular cell type,  $\alpha 5\beta 1$  integrin can positively regulate cell proliferation via attenuation of apoptosis and EGFR activation.

**Key words:** tumor cells, integrins, growth factors, proliferation, apoptosis.

## Введение

Известно, что в многоклеточных организмах деление клеток находится под контролем клеточного окружения – растворимых молекул (в основном факторов роста, но также гормонов, фосфолипидов и др.) и молекул, входящих в состав “твердого” субстрата - внеклеточного матрикса.

Большинство рецепторов ростовых факторов являются тирозиновыми протеинфосфокиназами. Рецепторы белков матрикса представлены интегринами, которые каталитической активностью не обладают [1,2]. Ростовые рецепторы и интегрин участвуют в проведении сигналов (сигналинге), нарушение которых может приводить к неконтролируемой клеточной пролиферации и опухолевому росту [2 -5]

Интегрин обладает множественной лигандной специфичностью, результатом которой является способность разных рецепторов взаимодействовать с одним белком матрикса и продуцировать одинаковые сигналы [1,6]. Единственным рецептором, обладающим уникальной специфичностью, является фибронектин-связывающий интегрин  $\alpha 5\beta 1$ .

Сведения о влиянии этого рецептора на пролиферацию неоднозначны. Наряду с ингибирующим действием  $\alpha 5\beta 1$  на рост клеток, в ряде



исследований продемонстрирована его способность стимулировать их митогенную активность. [6- 10].

Механизмы, с помощью которых интегрины контролируют клеточный рост, исследованы мало. Одним из них является взаимодействие с рецепторами факторов роста и модификация их активности [3,11-13]. Другой механизм может быть основан на участии интегринов в контроле апоптотической гибели клеток, в частности аноикиса - апоптоза, индуцированного нарушением связи клеток с матриксом. Так, в линии MCF-10 карциномы молочной железы повышение экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  оказалось необходимым для выживания клеток, потерявших связь с матриксом [14]. Напротив, резистентность к аноикису клеток карциномы желудка, индуцированная фактором HIF, оказалась полностью зависимой от супрессии интегрин  $\alpha 5\beta 1$  [8]. Сведения о роли  $\alpha 5$ -контролируемого апоптоза в пролиферации практически отсутствуют.

В настоящей работе продемонстрировано, что пролиферативная активность клеток эпидермоидной карциномы A431 находится под контролем общих для рецептора  $\alpha 5\beta 1$  и рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) сигнальных путей, начиная от ранней стадии проведения сигналов – киназы фокального контакта (FAK) и последующих стадий - протеинкиназ Akt и Erk. Впервые обнаружено, что в одних и тех же клетках интегрин  $\alpha 5\beta 1$  участвует в регулировании роста путем активации EGFR и ингибирования апоптоза.

### **Методы исследования**

**Клетки и реагенты.** Линия A431 клеток эпидермоидной карциномы человека получена в банке ATCC (США) Клетки культивировали в среде DMEM, содержащей 10% сыворотки эмбрионов коров, 2 mM L-глутамин, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, при 37° в атмосфере, содержащей 5% CO<sub>2</sub>. Во всех экспериментах использовали клетки в логарифмической фазе роста. В работе использовали также реагенты фирмы «Sigma» (США), за исключением специально оговоренных случаев, поликлональные антитела к  $\alpha 5$  интегриновой субъединице (“Chemicon”,

США), к протеинкиназам FAK, Akt, Erk (Cell Signaling Tech, США), ингибитор рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) –соединение PD168393 и ингибитор MAP киназы –соединение PD98059 (Calbiochem, США), ингибитор Akt киназы – соединение LY294002 (Sigma)

### **Лентивирусные shRNA конструкции и инфицирование клеток.**

Бактериальные глицериновые клоны NM\_002205.1-2595s1c1 (#53) и NM\_002205.1-1178s1c1 (#49), содержащие лентивирусный плазмидный вектор pLKO.1-puro с shRNA для  $\alpha 5$ -интегриновой субъединицы, были куплены у фирмы Sigma. Векторы содержали следующие  $\alpha 5$ -специфические последовательности:

CCGGCTCCTATATGTGACCAGAGTTCTCGAGAАCTCTGGTCACATATAGGAGTTTTT  
(#53);

CCGGCCATGATGAGTTTGGCCGATTCTCGAGAATCGGCCAAACTCATCATGGTTTTT  
(#49);

pLKO.1-puro лентивирусный вектор без shRNA был использован в качестве контроля. Лентивирусные частицы продуцировали в клетках HEK293T после котрансфекции лентивирусного плазмидного вектора, содержащего shRNA, или контрольного вектора, с пакующими плазмидами с использованием ExGen 500 Transfection Reagent (Fermentas). Через 72 часа среду, содержащую вирусные частицы, центрифугировали при 2000 g и фильтровали через фильтр с диаметром пор 0.45  $\mu$ M. Клетки инфицировали лентивирусом в присутствии 8 мг/мл полибрена и проводили селекцию пурамицином (1- 2 мг/мл) в течение 4 – 6 дней. Уровень снижения экспрессии  $\alpha 5$ -интегрина составлял 70- 80% и был примерно одинаковым для трех использованных клонов (рис. 1)

**Пролиферация клеток.** Клетки инкубировали в среде, содержащей 0.5% сыворотки, в течение 24 часов, после чего пассировали в 48-луночные планшеты (10 -20  $\cdot 10^3$  клеток в лунку) и выращивали в полной среде течение 24 или 48 часов. Затем клетки собирали с планшет обработкой триписин-ЭДТА и определяли их количество с помощью МТТ-теста. Для определения действия ингибиторов к клеткам в среде, содержащей 10% сыворотки, добавляли растворы LY294002 или PD98059 в ДМСО (конечные

концентрации 50 мкМ) или PD1683931 в ДМСО (1 - 5 мкМ); конечная концентрация ДМСО не превышала 0,5%. Контрольные пробы содержали 0,5% ДМСО. Клетки инкубировали в течение 10 мин. при комнатной т-ре, после чего инкубировали в полной среде при 37°C в течение 24 или 48 часов и обрабатывали, как описано выше.

**Цитофлуориметрия.** 3-5 x 10<sup>5</sup> клеток фиксировали в 70% этаноле, промывали фосфатно-солевым буфером, добавляли 1 мл раствора иодида пропидия (50 мкг/мл) в цитратном буфере и 50 мкл раствора РНКазы А (10 мкг/мл) и инкубировали 3 часа при 4°C. Анализ проводили на приборе Calibur (Becton Dickinson, США).

**Электрофорез в ПААГ и иммуноблотинг.** Клетки экстрагировали 50 мМ Трис-НСl буфером, рН 7,5, содержащим 1% Тритон X-100, 150 мМ NaCl, 0,5% дезоксихолат натрия, 0,1% DS-Na, а также смесь протеазных и фосфатазных ингибиторов (Santa Cruz Biotech, США) из расчета 1 мкл каждой на 10<sup>6</sup> клеток и центрифугировали 10 мин при 13000 g. 30 мкг белков клеточного лизата разделяли с помощью электрофореза в Ds-Na-ПААГи подвергали электропереносу на мембрану из поливинилиденфторида. После инкубации с первыми антителами мембрану обрабатывали вторыми антителами, конъюгированными с пероксидазой, проявляли в системе ECL (Amersham, Англия), экспонировали с рентгеновской пленкой и сканировали.

**Статистический анализ.** Различия между группами оценивали с помощью *t*-теста Стьюдента. Различия считались достоверными при *p* < 0,05.

### **Результаты исследования**

Блокирование экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  и ингибирование активности EGFR оказывают схожий эффект на пролиферацию клеток A431 и различаются по действию на апоптоз.

Синергизм между рецепторами факторов роста, в частности EGFR – рецептора эпидермального фактора роста - и интегринами в регулировании митотической активности клеток описан в ряде работ [3, 6, 11]. Для анализа

возможных механизмов взаимовлияния этих рецепторов в настоящей работе проведено сравнительное исследование влияния блокировки сигнальной активности  $\alpha 5\beta 1$  и EGFR на пролиферацию клеток A431. Для ингибирования киназной активности EGFR клетки инкубировали со специфическим ингибитором указанного рецептора – соединением PD168393. Сигналинг  $\alpha 5\beta 1$  блокировали путем подавления экспрессии интегрин  $\alpha 5$ -специфической shRNA. Эффективность блокировки экспрессии указанного интегрин оценивали с помощью иммуноблотинга по изменению уровня  $\alpha 5\beta 1$  в лизатах клеток и по изменению уровня  $\alpha 5\beta 1$  на клеточной поверхности с помощью цитофлуориметрического анализа. Оказалось, что трансдукция клеток двумя плазмидными клонами, экспрессирующими  $\alpha 5$ -shRNA, приводила к резкому снижению уровня  $\alpha 5$ -интегрин в клеточном лизате и экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  на поверхности клеток A431 (данные не приведены).

Данные, представленные на рис.1., показывают, что блокирование сигнальной активности рецептора  $\alpha 5\beta 1$  (рис. 1А) и рецептора эпидермального фактора роста (рис. 1Б) оказывают близкие по степени ингибирующие действия на пролиферацию клеток A431. Достоверные различия между опытными и контрольными клетками в скорости пролиферации обнаруживаются через 48 часов роста клеток в культуре.

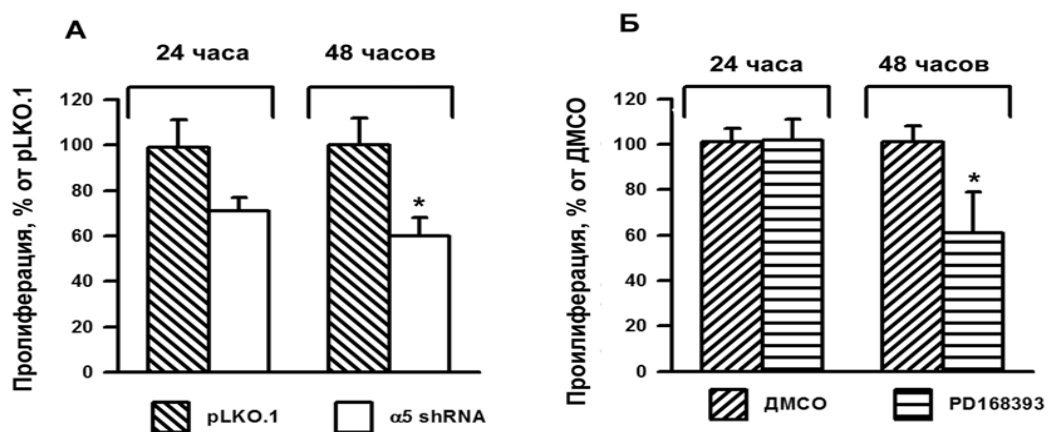


Рис. 1. Влияние блокирования экспрессии интегрин  $\alpha 5\beta 1$  или ингибирования EGFR в клетках A431 на их пролиферацию:



А, клетки инфицировали лентивирусом с  $\alpha 5$  shRNA- вектором (опытные пробы) или с "пустым" вектором (PLKO.1) - контрольные пробы - и обрабатывали, как описано в "Методах исследования". Б, в опытных пробах клетки инкубировали в полной среде, содержащей 5 мкМ PD168393 (ингибитор EGFR) при конечной концентрации ДМСО - 0,5%; контрольные пробы содержали 0,5% ДМСО. Количество клеток после инкубации определяли с помощью МТТ-теста. За 100% приняты значения пролиферации клеток в контрольных пробах. Представлены результаты трех независимых опытов ( $M \pm sem$ ).

\* $p < 0,05$  относительно контрольных проб

Для характеристики изменений митотического цикла клеток при торможения их пролиферативной активности был проведен цитофлуориметрический анализ распределения клеток по фазам цикла.

Таблица 1 – Влияние блокирования экспрессии интегрин  $\alpha 5\beta 1$  или ингибирования EGFR в клетках A431 на митотический цикл

Обработка клеток	Фазы цикла, время					
	48 ч			72 ч		
	Суб-G1 (Ап)	G1	S+G2/M	Суб-G1 (Ап)	G1	S+G2/M
ДМСО	11,8 ± 0,8	51,0 ± 2,1	25,4 ± 1,8	9,7 ± 1,0	59,4 ± 2,0	25,1 ± 1,1
PD168393	9,6 ± 1,2	69,9 ± 2,3	16,1 ± 1,1	7,3 ± 0,8	64,4 ± 2,1	21,1 ± 1,5
PLKO.1	9,0 ± 1,5	54,9 ± 1,8	28,9 ± 1,9	9,7 ± 0,9	60,2 ± 2,2	23,2 ± 1,4
$\alpha 5$ shRNA	6,8 ± 0,5	54,6 ± 1,7	26,6 ± 2,1	25,4 ± 1,8	43,4 ± 2,1	19,3 ± 1,0

Подавление экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  или ингибирование EGFR проводили, как описано в "Методах исследования" и в подписи к рис. 1. После культивирования в течение 48 ч и 72 ч клетки фиксировали в этаноле, окрашивали йодидом пропидия и анализировали в цитофлуориметре, как описано в "Методах исследования". Ап - апоптотические (суб-G1) клетки. Данные представляют относительное содержание (%) каждой популяции. Представлены средние из 3 опытов ( $M \pm sem$ )

Данные, представленные в табл. 1, показывают, что 48-часовая инкубация клеток с ингибитором EGFR приводит к значительному увеличению пика G1 и снижению фракции S+G2/M. Этот эффект менее выражен после 72-часовой инкубации с ингибитором, что, возможно, связано с его разрушением. Важно отметить, что торможение активности EGFR не приводит к существенным изменениям популяции суб-G1 клеток, т.е. клеток, находящихся в состоянии апоптоза. Таким образом, ингибирование



EGFR приводит к задержке цикла в фазе G1/G0, но не сопровождается гибелью клеток.

В клетках со сниженной экспрессией интегрин  $\alpha 5\beta 1$  через 48 часов роста в культуре не наблюдали существенных изменений в распределении клеток по фазам. Однако через 72 часа содержание популяции G1 существенно уменьшается, резко увеличивается содержание апоптотических (суб-G1) клеток и заметно снижается содержание фракции S+G2/M популяции. Таким образом, ингибирование сигналинга обоих рецепторов приводит к задержке цикла в фазе G0/G1, но только случае  $\alpha 5\beta 1$  имеет место усиление апоптоза.

### **Сигнальные пути, опосредующие эффекты блокирования интегрин $\alpha 5\beta 1$ и EGFR**

Выявленное сходство в эффектах, оказываемых торможением сигналинга исследуемых рецепторов, свидетельствует об общности отдельных этапов проведения опосредуемых ими сигналов. Для подтверждения этого предположения исследовали, как влияет блокировка сигнальной активности  $\alpha 5\beta 1$  и EGFR на экспрессию сигнальных молекул, контролирующей митогенную активность клеток.

Из рис. 2 видно, что блокирование экспрессии интегрин  $\alpha 5\beta 1$  и активности EGFR не оказывают заметного влияния на экспрессию киназы фокального контакта FAK, но практически полностью ингибируют экспрессию ее активной (фосфорилированной) формы. Киназа FAK является одним из самых ранних этапов в инициированных интегринными сигнальными путях. Она локализована с интегринными в активных участках (фокальных контактах) клеточной мембраны и, по косвенным данным, образует ассоциаты с этими рецепторами.

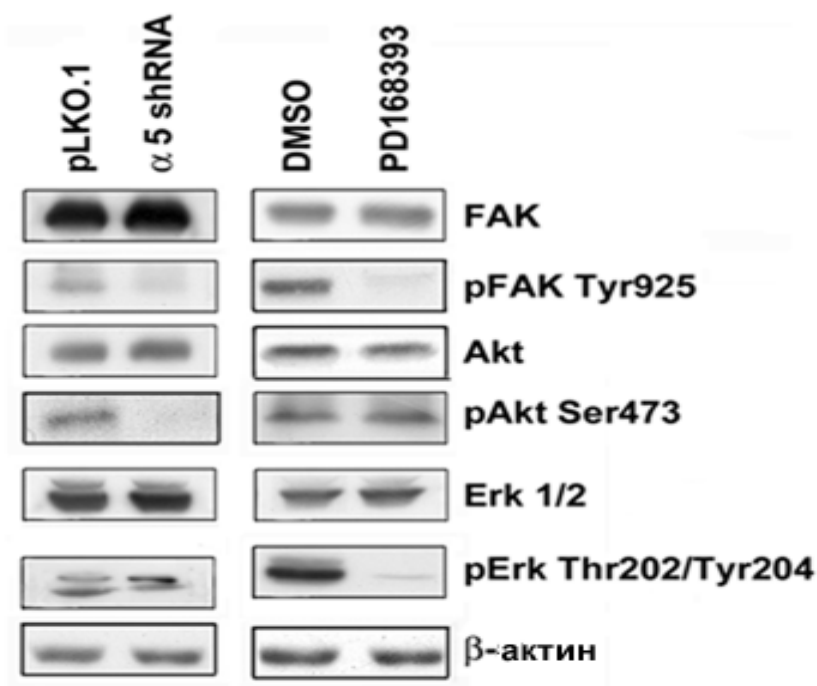


Рис.2. Влияние блокирования экспрессии интегрина  $\alpha 5\beta 1$  и ингибирования EGFR на экспрессию сигнальных белков в клетках A431:

Клетки обрабатывали, как описано в "Методах исследования" и в подписи к рис. 1, и 30 мкг белка клеточного лизата разделяли электрофорезом в 7,5% DS-Na-ПААГ с последующим иммуноблотингом. Мембрану инкубировали с антителами к указанным белкам в разведении 1:1000

Тот факт, что ингибирование обоих рецепторов сопровождается резким снижением активной формы FAK, свидетельствует о ранних стадиях взаимного влияния интегрина  $\alpha 5\beta 1$  и EGFR на внутриклеточные процессы.

В цепи клеточных сигналов, инициируемых интегринами, важную роль играют протеинкиназы PI-3K/Akt и митогенактивируемые киназы семейства MAP, в частности Erk. Ранее нами было показано, что ингибирование экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  в клетках карциномы молочной железы сопровождается существенным снижением активности Akt и киназы Erk2, но не влияет на их содержание в лизате [15]. Этот результат подтвердился в клетках A431 (рис. 2). В то же время выяснилось, что торможение активности EGFR не влияет на содержание в клеточном лизате активной формы Akt, однако резко снижает содержание активных форм киназ Erk1 и Erk2.

Чтобы установить, отражают ли эти изменения участие указанных киназ в митогенной активности интегрин  $\alpha 5\beta 1$  и EGFR, исследовали влияние ингибитора киназы Akt - соединения LY294002 и ингибитора MAP киназ – соединения PD98059 - на пролиферацию исследуемых клеток. Данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют, что ингибирование обоих фосфокиназ весьма активно тормозит пролиферацию исследуемых клеток.

Таблица 2 – Влияние ингибиторов протеинкиназ Akt и Erk на пролиферацию клеток A431

Обработка клеток	Ингибирование пролиферации, %
DMCO	100,0 ± 5,0
LY294002	18,0 ± 1,0*
PD98059	20,0 ± 1,0*

Клетки обрабатывали, как указано в “Методах исследования”, и инкубировали 48 ч в 48-луночных планшетах в полной среде, содержащей 25 мкМ ингибитора Erk (соединение LY294002) или ингибитора Erk (соединение PD98059). Контрольные пробы содержали 0,5% DMCO. После инкубации клетки собирали и определяли их количество с помощью МТТ-теста. Пролиферация контрольных клеток принята за 100%. Представлены результаты трех независимых опытов ( $M \pm sem$ ). \* $p < 0,01$  относительно контроля.

Наряду с влиянием на пролиферативную активность был проведен анализ действия ингибиторов указанных фосфокиназ на распределение клеток по фазам митотического цикла. (табл. 3). Видно, что обработка

Таблица 3 – Влияние ингибиторов протеинкиназ Akt и Erk на митотический цикл клеток A431

Обработка клеток	Фазы цикла		
	Суб-G1 (Ap)	G1	S + G2/M
DMCO	2,9 ± 0,5	59,0 ± 2,1	31,0 ± 2,2
LY294002	12,0 ± 1,5	48,0 ± 1,8	28,0 ± 1,6
PD98059	17,0 ± 1,8	44,0 ± 2,1	32,0 ± 1,8

Клетки инкубировали 48 ч в полной среде, содержащей ингибиторы протеинкиназ или DMCO (см. табл 2). Цитофлуориметрию проводили, как указано в “Методах исследования”. Представлены результаты 3 опытов (средняя ± стандартное отклонение средней).

клеток A431 ингибитором Akt-фосфокиназы сопровождается значительным уменьшением популяции G1 и существенным увеличением содержания апоптотических (суб-G1) клеток – эффект, аналогичный тому, который

наблюдали при ингибировании экспрессии интегрина  $\alpha 5\beta 1$  (табл. 1). Этот результат соответствует данным о снижении активности Akt при торможении экспрессии  $\alpha 5\beta 1$ . Практически идентичное действие на распределение популяций клеток A431 по фазам оказывал ингибитор Erk-киназы (табл. 3). Это наблюдение не соответствует эффекту, обнаруженному при обработке клеток ингибитором EGFR, который тормозит рост A431 (рис. 1) и активность Erk (рис. 2), но не увеличивает содержание суб-G1 популяции (табл. 1). Это противоречие можно объяснить тем, что в конкретных условиях поставленных экспериментов (концентрация ингибиторов, время инкубации) тормозящий эффект Erk-ингибитора на пролиферацию исследуемых клеток оказался существенно сильнее, по сравнению с действием ингибитора EGFR (рис. 2, табл. 2). Последний, как видно из табл. 1, тормозит цикл в G1 фазе. Известно, что остановка цикла в G1 может быть обратимой с возобновлением деления или необратимой с “выходом” в апоптоз [16]. Сравнение табл. 1 и 3 показывает, что такая ситуация, по-видимому, имеет место при обработке клеток указанными ингибиторами.

### **Обсуждение результатов**

Данные о роли интегрин  $\alpha 5\beta 1$  в пролиферации нормальных и опухолевых клеток противоречивы. Результаты настоящей работы согласуются со сведениями, свидетельствующими о стимулировании интегрином  $\alpha 5\beta 1$  митогенной активности клеток. Показано, что пролиферирующие клетки сетчатки глаза существенно активнее в экспрессии  $\alpha 5\beta 1$ , чем их не пролиферирующие аналоги [9]. Стимуляция  $\alpha 5\beta 1$  субстратом (фибронектином) усиливает пролиферацию растущих в культуре клеток эндотелия лимфатических сосудов [10]. Пролиферативная активность преадипоцитов увеличивалась при усилении экспрессии (оверэкспрессии) этого рецептора [17]. Специфический ингибитор  $\alpha 5\beta 1$  ослаблял рост глиомных клеток [18] и клеток эндотелия [19].

Однако в ряде исследований, проведенных на клетках различных типов, было продемонстрировано ингибирующее действие интегрин  $\alpha 5\beta 1$  на их

митогенную активность. Так, реэкспрессия  $\alpha 5\beta 1$  в клетках рака кишечника с исходно низким уровнем его экспрессии приводит к резкому снижению их опухолевой активности [6]. Samandari и соавт. обнаружили, что ингибирующее действие токоферола на пролиферацию клеток глиомы обусловлено повышенной экспрессией интегрин  $\alpha 5\beta 1$  [7]. В клетках карциномы желудка транскрипционный фактор HIF-1 блокирует субстрат-зависимый апоптоз и усиливает рост клеток в полужидком агаре путем подавления экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  [8]

Причиной указанных противоречий являются, по-видимому, индивидуальные особенности  $\alpha 5\beta 1$ -зависимого сигналинга в конкретных клеточных линиях. Однако число работ, посвященных детальной характеристике сигнальных путей  $\alpha 5\beta 1$ , как и других интегринов, в клетках разных типов, не велико.

Важную роль в механизмах, контролирующей пролиферацию клеток с участием интегринов, играет их влияние на рецепторы факторов роста. Так, показано, что взаимодействие между интегринными, в том числе  $\alpha 5\beta 1$ , с указанными рецепторами и их активация может происходить как в присутствии, так и отсутствии факторов роста -лигандов и активаторов этих рецепторов [13]. В линии Caco-2 клеток кишечного эпителия, не экспрессирующих  $\alpha 5\beta 1$ , трансфекция альфа-5 кДНК инициировала пролиферацию, которая тормозилась антителами, блокирующими активность EGFR [20].

Эти результаты согласуются с нашими данными, которые показали, что торможение сигнальной активности интегрин  $\alpha 5\beta 1$  и EGFR приводят к четкому уменьшению активных форм фосфокиназ FAK и Erk, играющих ключевую роль в механизмах пролиферации. Более прямым свидетельством участия  $\alpha 5\beta 1$  в контроле пролиферации, опосредованном через EGFR, являются результаты, демонстрирующие резкое снижение содержания двух активных форм EGFR при блокировании экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  (рис.6), а также образование ассоциатов между обоими рецепторами.



Другой механизм участия  $\alpha 5\beta 1$  в клеточном росте вытекает из данных об усилении апоптотической гибели клеток в ответ на блокирование экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  (табл. 1). Они свидетельствуют, что сигнальные пути этого рецептора (по крайней мере, в исследуемой линии) могут контролировать рост клеточной популяции путем торможения апоптотической гибели клеток, в то время как EGFR-инициируемый сигналинг в указанной линии в регулировании апоптоза не участвует.

Возможное объяснение этих различий, состоит в разном влиянии, которое  $\alpha 5\beta 1$  и EGFR оказывают на активность фосфокиназы Akt - ключевого посредника в проведении сигналов, контролирующей гибель клеток [21, 22]. Данные, представленные на рис. 2, показывают, что ответом клеток на снижение экспрессии  $\alpha 5\beta 1$  является практически полное подавление экспрессии активной формы этой киназы, в то время как обработка клеток ингибитором EGFR не влияла на ее содержание. В пользу высказанного предположения свидетельствует наблюдение, что ингибирование Akt в эндотелиальных клетках блокирует защитный эффект  $\alpha 5\beta 1$  от апоптоза, индуцированного отсутствием сыворотки в культуральной среде, в то время как ингибирование MAPK киназы не влияло на действие интегрин [10].

В заключение, представленные в настоящей работе результаты свидетельствуют, с нашей точки зрения, что влияние интегрин  $\alpha 5\beta 1$  на пролиферацию обусловлено двумя сигнальными механизмами, инициируемыми этим рецептором. Один из них контролирует апоптотическую гибель клеток, а другой – через взаимодействие и активацию факторов роста – участвует в механизмах митогенеза.

*Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы по теме «Создание клеточных моделей молекулярных процессов в органах и тканях» (НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича) и поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (проекты 15-04-05511, 17-04-00716).*

**Список литературы:**

1. Hynes R.O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. (2002) *Cell*, 110, 673-687.
2. Hehlhans S., Haase M., Cordes N. Signalling via integrins: implications for cell survival and anticancer strategies. (2007), *Biochem. Biophys. Acta*, 1775, 163-180.
3. Brakebusch C., Bouvard D., Stanchi F., Sakai T., Fassler R. Integrins in invasive growth. (2002) *J. Clin. Invest.*, 109, 999-1006.
4. Ranganathan A.C., Adam A.P., Aguirre-Ghiso J.A. Opposing roles of mitogenic and stress signaling pathways in the induction of cancer dormancy. (2006), *Cell Cycle*, 5, 1799-1807
5. Di Nicolantonio F.D, Bardelli A. Kinase mutations in cancer: chinks in the enemy's armour? (2006), *Curr. Opin. Oncol.*, 18, 69-76.
6. Kuwada S.K., Kuang J., Li X.J. Integrin alpha5/beta1 expression mediates HER-2 down-regulation in colon cancer cells. (2005), *Biol. Chem.*, 280, 19027-19035.
7. Samandari E., Visarius T., Zingg J.M., Azzi A. The effect of gamma-tocopherol on proliferation, integrin expression, adhesion, and migration of human glioma cells. (2006), *Biochem. Biophys. Res. Comun.*, 342, 1329-1333.
8. Rohwer N., Welzel W., Daskalow K., Pfander D., Wiedenmann B., Detjen., et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha mediates anoikis resistance via suppression of alpha5 integrin. (2008), 68, *Cancer Res.*, 10113-10120.
9. Proulx S., Guérin S.L., Saless C. Effect of quiescence on integrin alpha5beta1 expression in human retinal pigment epithelium. (2003), *Mol. Vis.*, 9, 473-481.
10. Zhang X., Groopman J.E., Wang J.F. Extracellular matrix regulates endothelial functions through interaction of VEGFR-3 and integrin alpha5beta1. (2005), *J. Cell. Physiol.*, 202, 205-214.
11. Roovers K., Assoian R.K. Integrating the MAP kinase signal into the G1 phase cell cycle machinery. (2000), *Bioessay*, 22, 818-826.
12. Wang Z., Wang M., Brian I.C. Integrin a5-induced EGFR activation by prothrombin triggers hepatocyte apoptosis via the JNK signaling pathway. (2008), *J Cell Physiol.* 216, 551-557.
13. Yamada K.M., Even-Ram S. Integrin regulation of growth factor receptors. (2002) *Nat. Cell Biol*, 4, E75-76.
14. Haenssen K.K., Caldwell S.A., Shahriari K.S., Jackson S.R., Whelan K.A., Klein-Szanto A.J., Reginato M.J. ErbB2 requires integrin alpha5 for anoikis resistance via Src regulation of receptor activity in human mammary epithelial cells. (2010), *J. Cell Sci.*, 123, 1373-1382.
15. Morozovich G.E, Kozlova N.I. Cheglakov I.B., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., Berman A.E. Implication of  $\alpha 5 \beta 1$  Integrin in Invasion of Drug\_Resistant MCF-7/ADR Breast Carcinoma Cells: a Role for MMP-2 Collagenase. (2008), *Biochemistry (Moscow)*, 73, 791-796
16. Bill H.M., Knudsen. B., Moores S.L., Muthuswamy S.K., Rao V.R., Brugge J.S., et al. Epidermal growth factor receptor-dependent regulation of integrin-mediated signaling and cell cycle entry in epithelial cells. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, 19, 8586-8599.

17. Liu J, DeYoung S.M., Zhang Mi., Zhang, Me., Cheng A., Saltiel A.S. Changes in integrin expression during adipocyte differentiation. (2005), *Cell Metab.*, 2, 165-177.
18. Färber K., Synowitz M., Zahn G., Vossmeier D., Stragies R., van Rooijen N., Kettenmann H. An alpha5beta1 integrin inhibitor attenuates glioma growth. (2008), *Mol. Cell. Neurosci.* 39, 579-585
19. Okazaki T., Ni A., Ayeni O.A. Baluk P., Yao L.-C. Vossmeier D. Zischinsky G. Zahn G., Knolle J., Christner C., McDonald D.M. alpha5beta1 Integrin blockade inhibits lymphangiogenesis in airway inflammation. (2009), *Amer. J. Pathol.*, 174, 2378-2387
20. Kuwada S.K., Li X. Integrin alpha5/beta1 mediates fibronectin-dependent epithelial cell proliferation through epidermal growth factor receptor activation. (2000), *Mol. Biol. Cell*, 11, 2485-2496
21. Yoganathan N., Yee A., Zhang Z., Leung D., Yan J., Fazli L., Kojic D.L., Costello P.C., Jabali M., Dedhar S., Sanghera J. Integrin-linked kinase, a promising cancer therapeutic target: biochemical and biological properties. (2002), *Pharmacol. Ther.*, 93, 233-242.
22. Verma A., Mehta K. Tissue transglutaminase-mediated chemoresistance in cancer cells. (2007), *Drug Resist. Updat.*, 10, 144-151.

## SECTION 2.

## MEDICINE

# МНОГООБРАЗИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ ТОКСОПЛАЗМОЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ

АЗОВЦЕВА О.В., ИВАНОВА Н.В.

Россия, НОВГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ЯРОСЛАВА  
МУДРОГО

**Аннотация.** Токсоплазмоз является частым оппортунистическим заболеванием, который развивается при снижении количества CD4-лимфоцитов в крови менее 100 кл/мкл и является маркером «продвинутых» стадий ВИЧ-инфекции.

Самой распространенной клинической формой токсоплазмоза является токсоплазмоз головного мозга, который клинически имеет несколько вариантов развития. Токсоплазмоз трудно поддается лечению, у больных длительно сохраняются стойкие неврологические нарушения. На фоне выраженного иммунодефицита возможны рецидивы заболевания с вовлечением в патологический процесс других областей.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, токсоплазмоз, CD4-клетки.

**Abstract.** Toxoplasmosis is a frequent opportunistic disease that develops when the number of CD4-lymphocytes in the blood decreases below 100 cells / mm<sup>3</sup> and is a marker of "advanced" stages of HIV infection.

The most common clinical form of toxoplasmosis is toxoplasmosis of the brain, which clinically has several variants of development. Toxoplasmosis is difficult to treat, long-term neurologic disorders persist in patients. Against the background of severe immunodeficiency, recurrences of the disease are possible with the involvement of other areas in the pathological process.

**Key words:** HIV infection, toxoplasmosis, CD4 cells.

Токсоплазмоз остается одной из актуальных проблем современной инфекционной патологии и включен в программу ВОЗ по изучению зоонозов. Это вызвано широким повсеместным распространением заболевания и многообразием клинических форм его проявления.



Инфицированность токсоплазмозом регистрируется во всех странах независимо от климатических и географических условий и колеблется в пределах от 6 до 90%. На территории постсоветского пространства инфицировано около 30% населения, в Санкт-Петербурге – около 25%, а общее число инфицированных в мире составляет не менее 500 млн [1, 2].

Течение паразитарного процесса при токсоплазмозе может варьировать от бессимптомного паразитоносительства, не требующего медикаментозного вмешательства, до манифестных форм с поражением различных органов и систем, при этом клиническая картина многообразна и не всегда специфична, что нередко приводит к поздней диагностике заболевания.

Токсоплазмоз также является одним из часто встречающихся оппортунистических заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией. Самые частые клинические варианты токсоплазмоза у больных с глубоким иммунодефицитом - поражение головного мозга, глаз, легких. Реже наблюдаются поражения миокарда, лимфатических узлов, костного мозга, селезенки. Самой распространенной клинической формой является церебральный токсоплазмоз (ЦТ), который в структуре поражения ЦНС при ВИЧ-инфекции занимает первое место как за рубежом, так и в РФ [3].

ЦТ занимает 2–3 место среди оппортунистических инфекций и 5 место в структуре летальных исходов у больных СПИДом. По данным зарубежных исследователей ЦТ диагностируют у 3 - 10% больных ВИЧ-инфекцией, не получающих АРВТ, а при снижении количества CD4-лимфоцитов в крови менее 100 кл/мкл диагностируется в 35% [4].

В 95% случаев ЦТ обусловлен реактивацией латентной инфекции на фоне выраженного иммунодефицита [5].

Клинически ЦТ не имеет никаких патогномоничных черт, но имеет множество различных клинических вариантов. Чаще всего заболевание начинается постепенно с нарастанием интоксикации и очаговой симптоматики. Больных обычно госпитализируют в различные стационары с подозрением на сепсис, пневмонию, нарушение мозгового

кровообращения, опухоль мозга и даже шизофрению [3]. ЦТ является частой причиной очаговых поражений мозга у больных ВИЧ-инфекцией [6].

ЦТ трудно поддается лечению из-за тяжелого состояния пациентов. Летальные исходы связаны, прежде всего, с поздней диагностикой как ВИЧ-инфекции, так и самого токсоплазмоза [7].

Целью данной работы являлось изучение многообразия клинических форм токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных.

Исследование проводилось на базе кафедры микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней НовГУ им. Ярослава Мудрого и ГОБУЗ «Новгородской областной инфекционной больницы».

Из 167 случаев госпитализаций ВИЧ-инфицированных в специализированное отделение ГОБУЗ НОИБ в 2016 году, диагноз токсоплазмоз был поставлен 8 пациентам. Ретроспективно были проанализированы все случаи токсоплазмоза, ЦТ составил 100%.

Всем больным проведено комплексное обследование, включая рентгенологическое исследование органов грудной клетки, бактериологическое исследование мокроты, крови и мочи для определения микрофлоры, исследование количества CD4-лимфоцитов и вирусной нагрузки и другие дополнительные методы исследования.

Диагноз токсоплазмоз был поставлен на основании обнаружения IgM в ликворе и в крови методом ИФА, обнаружение геномного материала *Toxoplasma gondii* методом ПЦР диагностики в крови и в ликворе, а также данных МРТ головного мозга.

Диагноз ВИЧ-инфекции был поставлен больным на основании ИФА и подтвержден постановкой иммуноблота, выявляющего спектр антител к белкам ВИЧ.

## **Результаты исследования**

Средний возраст пациентов из числа лиц с диагностированным ЦТ составляет  $36,2 \pm 3,25$  лет. Среди больных преобладал мужской пол.

Средний уровень СД4-клеток у больных ЦТ на фоне ВИЧ-инфекции составил  $46 \pm 18$  кл/мкл, это доказывает, что ЦТ маркер «продвинутых» стадий ВИЧ-инфекции.

По данным большинства зарубежных исследователей, заболевание развивается постепенно с нарастанием симптоматики в течение нескольких дней или недель. В нашем исследовании острое начало болезни, буквально на фоне «полного здоровья» (по словам самих больных и их родственников), наблюдалось у 87,5% больных, что не соответствует данным зарубежных наблюдений [8].

При поступлении лихорадка и головная боль наблюдалась у 87,5%, тошнота и рвота у 62,5% больных, а у 1 пациента развивались психические нарушения. Неврологический статус в разгаре болезни был представлен гемипарезами с противоположной стороны от зоны поражения головного мозга (25%) со снижением мышечной силы, повышением сухожильных рефлексов, реже со снижением чувствительности (37,5%).

Постепенное начало болезни наблюдалось у 1 пациента и характеризовалось длительным продромальным периодом с постепенным нарастанием симптомов интоксикации, общей слабости. Больной в первые 3 недели отмечал небольшую слабость и легкое онемение в руке или ноге, периодические головокружение и умеренную головную боль. Данные симптомы не влияли на качество жизни пациента и не служили поводом обращения за медицинской помощью. В дальнейшем интенсивность неврологической симптоматики постепенно нарастала - присоединялась выраженная слабость в конечностях, развился гемипарез, появилась дизартрия, затем афазия. Больной был госпитализирован в связи с симптомами интоксикации и неврологической симптоматикой.

В спинномозговой жидкости у всех больных отмечается повышенное содержание белка, у некоторых – не резко выраженный смешанный цитоз. При МРТ черепа выявлялись специфические очаги.

Мы хотим представить разнообразные клинические варианты развития ЦТ у больных ВИЧ-инфекцией.

**Клинический случай 1**

Пациент Е. 44 г. На диспансерном учете по поводу ВИЧ-инфекции не состоял. В течение недели отмечал слабость, головокружение. Со слов больного было помрачение сознания, дезориентация во времени и пространстве. Повышения температуры тела не наблюдалось. Обратился с жалобами в ГОБУЗ НОИБ. Обследован – ЦСЖ бесцветная, прозрачная, вытекает редкими каплями, цитоз – 5 клеток. ПЦР ликвора на *Toxoplasma gondii* – отрицательная. В крови IgG к *Toxoplasma gondii* – положительный, IgM – отрицательный. МРТ ГМ - токсоплазменные изменения левой височной области головного мозга, единичные очаги глиоза правой теменной доли.

Пациент от лечения отказался. Поступил повторно через 2 месяца с жалобами на повышение температуры тела до 38-39°C, нарушение чувствительности в нижних конечностях, выраженную слабость в конечностях. В последующем развился гемипарез и афазия. На МРТ ГМ – увеличение зоны отека, появление дополнительной зоны отека в правой теменной и левой височной долях.

Следующий клинический пример показывает, как трудно ЦТ поддается лечению, у выживших больных могут сохраняться стойкие неврологические нарушения с тяжелой инвалидизацией. Возможны рецидивы заболевания даже через несколько лет.

**Клинический случай 2**

Пациентка А., 33 года. Поступила с жалобами на сильную слабость, периодическое повышение температуры в течение последних 3 недель до 38-40°C, боли в грудной клетке. Из анамнеза в 2015 году отмечалось онемение рук и ног. Обследована, выставлен диагноз «ВИЧ-инфекция, стадия 4Б-В, прогрессирование на фоне отсутствия АРВТ. Токсоплазмоз головного мозга». Получала курс соответствующей терапии с умеренной положительной динамикой. В течение года сохранялся левосторонний гемипарез. На фоне терапии токсоплазмоза начата АРВТ с незначительным положительным вирусологическим ответом.

На момент госпитализации: левосторонний гемипарез, температура тела 40,0С, выраженная слабость. Кожа и склеры физиологичной окраски, высыпания, отеки отсутствуют. Периферические лимфатические узлы не увеличены. В ротоглотке без воспалительных изменений, язык обложен творожистым налетом. Дыхание в легких жесткое, в нижних отделах ослаблено, хрипы единичные, влажные. ЧД – 20, Sat – 96%, кашель с трудно отделяемой мокротой, боль в грудной клетке слева. Тоны сердца ритмичные, шумов нет. ЧСС – 111 ударов в минуту. АД – 100/70 мм.рт.ст. Живот безболезненный во всех отделах, печень в пределах реберной дуги, селезенка не пальпируется.

На Rg ОГК – двусторонняя инфильтрация в нижних отделах легких, признаки экссудативного левостороннего плеврита.

На МРТ ГМ – картина соответствует токсоплазмозу, в сравнении с МРТ от 2015 г. наблюдается положительная динамика. Заместительная наружная гидроцефалия.

На КТ легких – картина диссеминированных мелкоочаговых изменений обоих легких (токсоплазмоз? туберкулез??), левосторонний гидроторакс. Медиастинальная лимфоаденопатия.

Консультация фтизиатра – лабораторных данных за туберкулез нет.

Лабораторно - СД4 – 61 кл/мкл, ВН ВИЧ 156000 коп/мкл, ДНК крови на *Toxoplasma gondii* – отрицательная, IgG тохо - положительные.

Таким образом, токсоплазмоз является частым оппортунистическим заболеванием, который развивается при снижении количества СД4-лимфоцитов в крови менее 100 кл/мкл и является маркером «продвинутых» стадий ВИЧ-инфекции.

Самой распространенной клинической формой является ЦТ, который клинически имеет несколько вариантов развития. В исследовании острое начало болезни наблюдалось у 87,5% больных, с лихорадкой и головной болью; тошнотой и рвотой у 62,5% больных; а у 1 пациента развивались



психические нарушения. Неврологический статус в разгаре болезни был представлен гемипарезами со снижением чувствительности в 37,5%.

Постепенное начало болезни наблюдалось у 1 пациента и характеризовалось длительным продромальным периодом с постепенным нарастанием симптомов интоксикации и неврологических изменений.

ЦТ трудно поддается лечению, у больных длительно сохраняются стойкие неврологические нарушения. На фоне выраженного иммунодефицита возможны рецидивы заболевания с вовлечением в патологический процесс других областей.

#### Список литературы:

1. Еремина Г.А., Городин В.Н., Авдеева М.Г., Зотов С.В., Ахметова О.А., Кондрашова О.В. и др. Современная серологическая диагностика токсоплазмоза. Юбилейная научно-практическая конференция «Инфекционные болезни: проблема здравоохранения». СПб., 2003; 104-5.
2. Nowakowska D., Stray-Pedersen B., Spiewak E., Sobala W., Malafiej E., Wilkzynski J. Prevalence and estimated incidence of Toxoplasma infection among pregnant women in Poland: a decreasing trend in the younger population. Clin. Microbiol Infect. 2006 Sep;12(9): 913-7.
3. Ермак Т.Н., Перегудова А.Б., Шахгильдян В.И., Гончаров Д.Б. Церебральный токсоплазмоз в структуре вторичных поражений ЦНС у больных ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации. Клинико-диагностические особенности. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2013;1:3-7.
4. Bartlett J.G. The Johns Hopkins Hospital 2005-6 Guide to Medical Care of Patients With HIV Infection//12 Ed., Philadelphia. - 2005. – 308 p.
5. Вирус иммунодефицита человека – медицина. Под редакцией Н.А.Белякова и А.Г.Рахмановой. – СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2010.- 752с., ил.
6. Valenta Z., Forstl M., Kapla J., Kohout A. Seroprevalence of acquired toxoplasmosis in HIV-infected and apparently healthy individuals in Jos, Nigeria. Parassitologia. 2005;47:233-6.
7. Ермак Т.Н., Перегудова А.Б. Многоликий портрет токсоплазмоза при ВИЧ-инфекции. Инфекционные болезни. 2014;1 (12):87-92.
8. Jayawardena S., Singh S., Burzyantseva O., Clark H. Cerebral toxoplasmosis in adult patients with HIV infection. Hospital Physician. 2008;44(7):17-24.

# **РОЛЬ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА КАТЕЛИЦИДИНА LL-37 ПРИ ПУСТУЛЕЗНОМ И БЛЯШЕЧНОМ ПСОРИАЗЕ**

Бахлыкова Е.А., Филимонкова Н.Н., Матусевич С.Л.

Россия, Тюменский государственный медицинский университет

Россия, Уральский научно - исследовательский институт  
дерматовенерологии и иммунопатологии

**Аннотация.** В статье представлены результаты исследования содержания в сыворотке крови антимикробного пептида кателицидина LL-37 у больных бляшечным и пустулезным ладонно-подошвенным псориазом в сравнении с группой здоровых лиц и нормативными показателями. Повышенное содержание LL-37 у пациентов с псориазом по сравнению с нормативными показателями показывает его значимость в патологическом процессе при псориазе.

**Ключевые слова:** бляшечный псориаз, ладонно-подошвенный пустулезный псориаз, антимикробный пептид, кателицидин LL-37.

Псориаз характеризуется развитием хронического кожного воспалительного процесса с гиперпролиферацией и нарушением дифференцировки кератиноцитов. Воспаление при псориазе опосредовано через иммунокомпетентные клетки врожденного и адаптивного иммунитета. Избыточный синтез провоспалительных цитокинов является ведущей причиной псориазического воспаления. Остается неясной причина повышенного синтеза провоспалительных цитокинов, не выявлен фактор, являющийся инициатором псориазического воспаления [1]. Существенную роль в развитии воспаления при псориазе в настоящее время отводится антимикробным пептидам (АМП) -  $\alpha$ -дефензинам и кателицидинам. Эндогенные АМП, образуются эпителием барьерных тканей и клетками

крови, в основном нейтрофилами, входят в систему врожденного иммунитета [2]. В настоящем исследовании было изучено количественное содержание АМП LL-37 в сыворотке крови больных пустулезным и бляшечным псориазом с помощью ИФА диагностики, в сравнении со здоровыми лицами.

**Материалы и методы.** Данное исследование проводилось в отделении дерматологии кожно-венерологического диспансера г.Тюмени. Исследование включало 3 группы пациентов: пациенты с распространенным бляшечным псориазом (БП), пациенты с ладонно-подошвенным пустулезным псориазом (ЛППП), здоровые лица (ЗЛ). Диагноз устанавливался на основании клинического обследования. Тяжесть заболевания оценивалась с помощью индекса тяжести PASI. Группа с БП включала 62 пациента: 46 мужчин (74%) и 16 женщин (26%). Возраст пациентов составлял от 19 до 78 лет, в среднем  $44,5 \pm 14,22$ . Давность заболевания от 2 месяцев до 50 лет. Среднее значение индекса PASI –  $37,9 \pm 18,9$ . Пациенты с ЛППП составляли 18 человек: 10 женщин (55,6%), 8 мужчин (44,4%). Возраст пациентов составлял от 29 до 61 лет, в среднем  $45,38 \pm 10,1$ . Среднее значение индекса PASI –  $19,09 \pm 10,1$ . Группа здоровых лиц (ЗЛ) составляла 20 человек, 4 мужчины (20%) и 16 женщин (80%), средний возраст  $26,9 \pm 6,62$ .

Проводилось исследование на содержание кателицидин LL-37 с помощью набора для иммуноферментного анализа Human LL-37 ELISA TEST KIT (Hycult biotech) в сыворотке крови больных. Интервал нормативных значений (N) содержания LL-37 в плазме составляет 1,2-1,8 нг/мл, диапазон измеряемых концентраций составляет от 0,14 до 100 нг/мл.

### **Результаты и обсуждение**

Таблица 1 – Содержание LL-37 в сыворотке крови в различных группах

	БП (n=62)	ЛППП (n=18)	ЗЛ (n=20)	
LL-37	$2,56 \pm 0,15^*$	$2,87 \pm 0,4^*$	$1,84 \pm 0,7$	$1,5 \pm 0,42$

При исследовании содержания LL-37 в группах пациентов с БП, ЛППП, ЗЛ достоверно значимых различий между группами получено не было. Однако

в сравнении с нормативными показателями различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ), как в группе БП, так и ЛППП. Отсутствие достоверных различий между группами бляшечного и пустулезного псориаза, можно объяснить ограниченной формой последнего, то есть только ладонно-подошвенной локализацией. При псориазе, как известно, нет выраженных гнойных осложнений, несмотря на повреждение барьерных функций, что можно объяснить напряженностью врожденного иммунитета и присутствием АМП. Также не получено достоверных различий между контрольной группой и пациентами с псориазом, возможно, это связано с напряженностью противоинфекционного иммунитета в зимнее время года, когда проводились исследования в контрольной группе. Современные исследования показывают, что активацией воспаления при псориазе считают комплекс из собственных нуклеиновых кислот и АМП кателицидина LL-37(LL-37) [3,4]. LL-37 выполняет роль переносчика нуклеиновых кислот, а активаторами синтеза провоспалительных цитокинов являются сами РНК и ДНК, активирующие TLR7, TLR8 и TLR9[5,6]. Повреждения типа травмы или инфекции активируют резидентные дендритные клетки (ДК) в генетически предрасположенном организме. Стресс кератиноцитов приводит к выходу их ДНК, формирующей комплексы с LL-37. Эти комплексы активируют плазматоидные ДК, продуцирующие IFN- $\alpha$ , синтезируются также провоспалительные цитокины IL – 1 $\beta$ , IL-12, IL-23, IL-6 и TNF- $\alpha$ . Активированные ДК мигрируют в лимфатические узлы для презентации антигена наивным Т – лимфоцитам и их дифференциации в T<sub>h</sub>1 и/или T<sub>h</sub>17 [7]. Цитокины содействуют эпидермальной гиперплазии в псориазической бляшке.

Выводы: Повышенное содержание кателицидина LL37 у пациентов с БП и ЛППП свидетельствует о напряженности противоинфекционного иммунитета у больных псориазом. Обнаружение LL37 подтверждает его значение в развитии, поддержании и формировании воспалительного процесса при псориазе, а также позволяет расширить представление о природе и возможностях поиска механизмов контроля над псориазическим процессом.

**Список литературы:**

1. Gudjonsson J.E., Johnston A., Sigmundspottir H. et al. Immunopathogenetic mechanisms in psoriasis. *Clinical Experimental Immunology* 2004; 135: 1–8.
2. Караулов А.В., Быков С.А., Быков А.С. Иммунология, микробиология и иммунопатология кожи. Москва, БИНОМ, 2012, с.247-251
3. Lande R, Gregorio J, Facchinetti V et al. Plasmacytoid dendritic cells sense self\_DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature* 2007; 449: 564\_569.
4. D. Ganguly, G. Chamilos, R. Lande et al. Self-RNA–antimicrobial peptide complexes activate human dendritic cells through TLR7 and TLR8. *The Journal of Experimental Medicine*/ Published August 24, 2009
5. R. Lande, E. Botti, C. Jandus, D. Dojcinovic et al. The antimicrobial peptide LL37 is a T-cell autoantigen in psoriasis. *Nature communications* | Published 3 Dec 2014 DOI: 10.1038/ncomms6621
6. Morizane S, Yamasaki K, Muhleisen B et al. Cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 in psoriasis enables keratinocyte reactivity against TRR9 ligands. *J. Invest. Dermatol.* 2012; 132: 13-143.
7. Acosta - Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukin 1beta and 6 but not transforming growth factor beta are essential for the differentiation of interleukin 17 producing human T helper cells. *Nat. Immunol.* 2007; 8: 942 - 948.

## **АНОМАЛЬНЫЕ МАТОЧНЫЕ КРОВОТЕЧЕНИЯ У ПАЦИЕНТОК В ПРЕМЕНОПАУЗЕ. ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОВОЛНОЙ АБЛАЦИИ ЭНДОМЕТРИЯ**

БРЕУСЕНКО В.Г., ШЕВЧЕНКО Н.А., ЕСИПОВА И.А., ПЛАХОВА Т.А., КОВАЛЕВА О.С.

Россия, Российский научный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова

Россия, Городская клиническая больница № 31 Департамента  
здравоохранения города Москвы



**Аннотация. Цель исследования.** Разработать и оценить критерии эффективности микроволновой абляции эндометрия у пациенток в пременопаузе с аномальными маточными кровотечениями, используя современные методы диагностики.

**Материалы и методы** Обследованы 62 пациентки периода пременопаузы с аномальными маточными кровотечениями (АМК) в возрасте 46-55 лет. У всех больных перед и после микроволновой абляции эндометрия (МАЭ) в различные сроки при поступлении в стационар и в анамнезе (от 14 дней до 3 лет) по поводу АМК проводилось раздельное диагностическое выскабливание слизистой стенок полости матки под контролем гистероскопии. Причиной АМК у 59 обследованных были полипы или гиперплазия эндометрия, у 3- атипическая гиперплазия эндометрия. У 42 пациенток при контрольной гистероскопии выявлена полноценная обработка стенки матки, у 20 произведена дополнительная локальная экспозиция аппликатора на участках необработанного эндометрия. Всем больным с диагностической целью до МАЭ и в процессе наблюдения через 1,3, 6, 12, 15 месяцев проводилось ультразвуковое исследование в режимах двухмерной и трехмерной эхографии (2ДУЗИ и 3ДУЗИ). 3ДУЗИ позволило проследить изменения в полости матки, а также стадии формирования синдрома Ашермана.

**Результаты.** Полный клинический эффект после МАЭ отмечен у 50 пациенток; неполный у 8; отсутствие эффекта имело место у 4 больных. Отсутствие или неполный эффект выявлен у больных с АМК в сочетании с имеющимся аденомиозом.

**Заключение.** МАЭ является безопасным и легко выполнимым методом лечения АМК у пациенток в пременопаузе, может быть рекомендована для лечения гиперпластических процессов эндометрия у пациенток с раком молочной железы и получающих длительно терапию Тамоксифеном. Целесообразно перед проведением МАЭ проводить контрольную гистероскопию, РДВ слизистой стенок полости матки с гистологическим исследованием соскобов при наличии патологических изменений эндометрия. Критериями эффективности МАЭ является: отсутствие кровяных выделений из половых путей; тонкое М-эхо (до 4 мм) или регистрация формирования синдрома Ашермана; отсутствие кровотока в радиальных и базальных артериях матки при ЦДК.

**Ключевые слова:** микроволновая абляция эндометрия, гиперпластический процесс эндометрия, аномальные маточные кровотечения.

**Abstract. The goal of the study:** To develop and to evaluate criteria of efficiency of microwave endometrial ablation in premenopausal women with abnormal uterine bleeding, using current diagnostic methods.

**Materials and methods:** 62 premenopausal patients with abnormal uterine bleeding (AUB) aged 46-55 were examined. All patients, before and after microwave endometrial ablation (MEA), in different periods - while admission to hospital and with the past medical history (from 14 days to 3 years) - for the reason of AUB were underwent a separate diagnostic curettage of uterine cavity under the control of hysteroscopy. The causes of AUB of 59 examined patients were polyps and endometrial hyperplasia, 3 patients had atypical endometrial hyperplasia. Controlled hysteroscopy of 42 patients showed successful uterus tissue removal, 20 patients underwent additional applicator exposition on the areas of untreated endometrium. All patients for diagnostic purpose were performed diagnostic 2D and 3D gynecological ultrasonography before MEA and during observership after 1, 3, 6, 12, 15 months. 3D ultrasonography allowed to trace the changes in the uterine cavity and the stages of Asherman syndrome formation.

**Results:** 50 patients were marked with complete clinical effect; 8 patients were marked with incomplete effect; 4 patients had no effect at all. Patients with incomplete or no effect happened to have AUB combined with adenomyosis.

**Conclusion:** MEA is a safe and easily performed AUB method of treatment in premenopausal women, it can be recommended for hyperplastic endometrial processes treatment in patients with breast cancer who are taking Tamoxifen. It is reasonable to perform a control hysteroscopy before MEA, D&C of uterine cavity followed by a histological study in cases of pathological endometrium changes. MEA efficiency criteria are: absence of uterine bleeding, endometrial thickness less than 4mm or Asherman syndrome formation; absence of flow of blood in radial and basal arteries during color Doppler sonography.

**Key words:** microwave endometrial ablation, hyperplastic endometrial process, abnormal uterine bleeding.

Аномальные маточные кровотечения (АМК) занимают первое место в структуре гинекологической заболеваемости по данным ВОЗ и составляют 19% [Т.Ф Татарчук, О.А Ефименко 2013г]. В 25-30% наблюдений АМК обусловлены органическими причинами, которые часто рецидивируют: гиперпластическими процессами эндометрия (ГПЭ), миомой матки, аденомиозом, раком эндометрия (РЭ). Пациентки с АМК подвергаются

неоднократным выскабливаниям слизистой стенок полости матки и неоправданным радикальным оперативным вмешательствам, таким как гистерэктомии. [Bharat Talukdar, Sangita Mahela 2016].

Для лечения АМК наиболее распространенными, доступными и общепринятыми методами являются: отдельное диагностическое выскабливание (РДВ) слизистой стенок полости матки под контролем гистероскопии (на первом этапе) с последующей гормональной терапией [В.Г. Бреусенко, О. И. Мишиева, 2013г]. Однако, выраженные сопутствующие заболевания (сердечно-сосудистые, нарушение жирового обмена, сахарный диабет, варикозное расширение вен нижних конечностей) у больных этой возрастной группы, ограничивают применение гормонотерапии [Л.В. Ткаченко, М.Ю. Гущина, 2011г].

На протяжении последних двадцати лет, в клиническую практику стали активно внедряться различные методики абляции эндометрия: лазерная, термальная, микроволновая, электрохирургическая монополярная и биполярная [M. G. Munro, H.O Critchley 2013г].

Абляция эндометрия (АЭ), независимо от методики её выполнения, обладает целым рядом неоспоримых преимуществ, по сравнению как с гистерэктомией, так и гормонотерапией: миниинвазивность, низкая частота интра - и послеоперационных осложнений, хорошая переносимость пациентками, снижение продолжительности пребывания в стационаре, ускоренная реабилитация [K Cooper, AJ Lee 2011г].

В 2000-2010 гг. более половины всех процедур абляции эндометрия в Великобритании были выполнены системами микроволновой абляции эндометрия (МАЭ). Ряд контролируемых рандомизированных клинических исследований Y.Kanaoka 2016г, A.M. Sambrook 2015г, подтвердил, что по эффективности МАЭ эквивалентна трансцервикальной резекции эндометрия и лазерной абляции, являющихся «золотым стандартом» гистероскопической абляции эндометрия. Микроволновая абляция эндометрия (МАЭ) является новым методом абляции в России и до сих пор мало изученным.

Целью работы явилась разработка и оценка критериев эффективности МАЭ у пациенток в пременопаузе с АМК, используя современные методы диагностики.

### **Методология и методы исследования**

Было обследовано 62 пациентки в периоде пременопаузы с АМК в возрасте 46-55 лет. Критериями включения пациенток в исследование явились: наличие рецидивирующего ГПЭ, подтвержденного данными гистологического исследования, неэффективность предшествующей гормональной терапии, использование Тамоксифена у пациенток с раком молочных желез в анамнезе. Критериями исключения послужили: длина полости матки по зонду менее 6 см и более 12 см, аденокарцинома эндометрия или атипическая гиперплазия эндометрия по данным гистологического исследования, несостоятельный рубец на матке после операции кесарева сечения (по данным эхографии), острые воспалительные заболевания гениталий, опухоли яичников.

Все пациентки были разделены на 2 группы: в I группу вошли 50 больных с АМК в анамнезе, у которых ранее в различные сроки (от 14 дней до 3-х лет) проводились РДВ слизистой стенок полости матки в количестве от 1 до 6 раз, под контролем гистероскопии. Последнее оперативное вмешательство до включения в исследование у этих больных проводилось в сроки до 14 дней у 5; 15-29 дней у 15; 30-44 дня у 5; 45- 58 дней у 5; 59- 73 дней у 6; 74 – 88 дней у 14. Полученные результаты гистологических исследований у всех пациенток свидетельствовали о доброкачественном характере изменений в эндометрии: полипы эндометрия (ПЭ) у 24; железисто-кистозная гиперплазия (ЖКГ) у 26.

По поводу ГПЭ гормонотерапию (Норколут, Ригевидон, Бусерилин) получали 30 пациенток, не получали - 20.

Вторую группу составили 12 пациенток, которые поступили в экстренном порядке с АМК в стационар впервые. Все пациентки были соматически отягощены, и мы сочли возможным, после получения документального согласия пациенток, произвести им МАЭ сразу же после гистероскопии, РДВ



слизистой матки, на основании визуальных данных, свидетельствующих о доброкачественном характере изменений в эндометрии.

Из 62 пациенток у каждой третьей обследованной в анамнезе имелись заболевания молочных желез (фиброзно-кистозная мастопатия, фибroadенома, рак молочной железы), в 10 % наблюдений ранее проводились оперативные вмешательства (у 3 - секторальная резекция по поводу фибroadеномы; у 3 односторонняя радикальная мастэктомия по поводу рака молочной железы). Все прооперированные пациентки по поводу рака молочной железы в послеоперационном периоде получали стандартный курс лучевой терапии и курс антиэстрогенов (Тамоксифен).

Всем пациенткам перед МАЭ проводились общепринятые обследования, а также ультразвуковое исследование органов малого таза на аппарате Toshiba Arlio 500 в режиме двухмерной эхографии (2ДУЗИ). Эхографическое состояние эндометрия в предоперационном периоде оценивалось по наиболее значимым стандартным параметрам М-эхо - толщине и структуре.

Для получения дополнительной необходимой информации у всех обследованных проводили трехмерное ультразвуковое исследование (ЗДУЗИ) с использованием различных режимов, таких как режим мультиплоскостной реконструкции (МПР) с получением максимально информативного фронтального среза (ФС) матки, томографического ультразвукового исследования (ТУИ) с шагом заданного сканирования в 0,5 мм, а также режим Glass body, который помогал воссоздать сосудистый рисунок «зоны интереса».

Нами разработано схематическое изображение необходимых начальных измерений перед МАЭ, проводимых во ФС при ЗДУЗИ (схема 1).