

Горошинская И.А., Шевченко А.Н., Филатова Е.В., Качесова П.С., Немашкалова Л.А., Чудилова А.В.

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИПУЗЫРНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ, МОДИФИЦИРОВАННОЙ СКАНИРУЮЩИМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ПОЛЕМ, НА УРОВЕНЬ ЭНДОТОКСИКОЗА И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344037, г. Ростов-на-Дону, Россия

Мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря (МНРМП) составляет 70% от злокачественных поражений данной локализации и отличается высокой частотой рецидивирования и осложнений после проведения лечения, что требует совершенствования методов лечения. Разработанная модификация адъювантной внутрипузырной химиотерапии (ВПХТ) обуславливает необходимость оценки эндотоксикоза и адекватности антиоксидантной защиты больных.

Цель исследования: оценка показателей, отражающих функциональное состояние альбумина, выраженность эндогенной интоксикации и состояние процессов свободнорадикального окисления в крови больных МНРМП при адъювантной ВПХТ, модифицированной воздействием сканирующего электромагнитного поля (МП).

Материал и методы. В крови 30 больных МНРМП исследованы показатели эндогенной интоксикации (ЭИ), светосумма перекись-индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ), содержание малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионовой системы.

Результаты. До начала лечения для больных МНРМП было характерно увеличение содержания молекул средней массы (МСМ) на 34–80% и снижение связывающей способности альбумина на 20%, приводившие к увеличению коэффициента ЭИ на 81%, что свидетельствовало о наличии эндотоксикоза. Наблюдавшееся при этом увеличение интенсивности ХЛ, накопление молекулярных продуктов ПОЛ и низкий уровень активности основных антиоксидантных ферментов указывает на вклад свободнорадикальных процессов в состояние метаболизма данной категории больных. После завершения адъювантной ВПХТ с одновременным локальным воздействием сканирующим МП выявлено снижение основных маркеров ЭИ – МСМ₂₅₄ и МСМ₂₈₀. Восстановление детоксикационного потенциала крови за счет увеличения связывающей способности альбумина и улучшение ряда показателей антиоксидантной системы отмечались в процессе динамического наблюдения больных, начиная с 3-месячного периода с полной нормализацией через 9 мес после операции.

Заключение. Биохимические данные согласуются с клинической эффективностью применения адъювантной ВПХТ гем-цитобином, модифицированной сканирующим МП, позволяющей улучшить показатели 2-летней безрецидивной выживаемости до 94% и увеличить в два раза латентный период развития рецидива заболевания.

Ключевые слова: мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря; эндогенная интоксикация; свободнорадикальное окисление; антиоксидантные ферменты; внутрипузырная химиотерапия; сканирующее электромагнитное поле.

Для цитирования: Горошинская И.А., Шевченко А.Н., Филатова Е.В., Качесова П.С., Немашкалова Л.А., Чудилова А.В. Влияние внутрипузырной химиотерапии, модифицированной сканирующим электромагнитным полем, на уровень эндотоксикоза и окислительные процессы в крови больных раком мочевого пузыря. *Российский онкологический журнал*. 2017; 22 (3): 142–148. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-3-142-148>

Для корреспонденции: Горошинская Ирина Александровна, д-р биол. наук, проф., главный научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей; 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, д. 63. E-mail: iagor17@mail.ru.

Goroshinskaya I.A., Shevchenko A.N., Filatova E.V., Kachesova P.S., Nemashkalova L.A., Chudilova A.V.

EFFECT OF INTRAVESICAL CHEMOTHERAPY, MODIFIED BY ELECTROMAGNETIC FIELD IN THE SCANNING MODE, ON THE LEVEL OF ENDOTOXEMIA AND OXIDATIVE PROCESSES IN THE BLOOD IN PATIENTS WITH BLADDER CANCER

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

Muscle-non-invasive bladder cancer (MNIBC) accounts of 70% of malignant lesions of this localization and has a high rate of recurrence and complications after treatment that requires improvement of the management of such patients. The developed modification of adjuvant intravesical chemotherapy (IVCT) necessitates the evaluation of endotoxemia and the adequacy of antioxidant protection of patients.

The purpose of the study is the assessment of indices that reflect the functional state of albumin, the severity of endogenous intoxication (EI) and the state of free radical oxidation in the blood of MNIBC patients receiving adjuvant IVCT modified by the influence of scanning electromagnetic field.

Material and methods. Endogenous intoxication indices, the light sum of peroxide induced luminol dependent chemiluminescence, malondialdehyde (MDA) content, activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione system were investigated in the blood of MNIBC 30 patients receiving chemotherapy under the impact of electromagnetic field during the process of dynamic monitoring of patients in comparison with a group of healthy persons.

Results. Before treatment, MNIBC patients were characterized by the increased content of medium mass molecules (MMM) by 34–80% and decreased albumin binding capacity by 20%, that leading to an increase of EI coefficient by 81%, indicating to

the presence of EI. The observed increase in the intensity, accumulation of molecular products of lipid peroxidation and the low level of activity of the main antioxidant enzymes indicated to the contribution of free radical processes in the metabolic state of these patients. After completion of adjuvant IVCT under simultaneous exposure to the local scanning electromagnetic field the decrease of main markers of endotoxemia - MMM_{254} and MMM_{280} was revealed. Full restoration of the albumin binding capacity and balanced operation of the antioxidant system was observed 9 months after the surgery.

Conclusion. Biochemical data are consistent with the clinical efficacy of adjuvant IVCT combined with the scanning magnetic field, which allows to improve indices of 2-year disease-free survival to 94% and to double the latency period of relapse.

Key words: muscle-non-invasive bladder cancer; endogenous intoxication; free radical oxidation; antioxidant enzymes; intravesical chemotherapy; scanning electromagnetic field.

For citation: Goroshinskaya I.A., Shevchenko A.N., Filatova E.V., Kachesova P.S., Nemashkalova L.A., Chudilova A.V. Effect of intravesical chemotherapy, modified by electromagnetic field in the scanning mode, on the level of endotoxemia and oxidative processes in the blood in patients with bladder cancer. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. (Russian Journal of Oncology)*. 2017; 22 (3): 142–148. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-3-142-148>

For correspondence: Irina A. Goroshinskaja, MD, PhD, DSc, Prof., Chief Researcher of the Laboratory of Studies of the Pathogenesis of Malignant Tumors, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation. E-mail: iagor17@mail.ru.

Information about authors:

Goroshinskaya I.A., <http://orcid.org/0000-0001-6265-8500>

Shevchenko A.N., <http://orcid.org/0000-0002-9468-134X>

Filatova E.V., <http://orcid.org/0000-0002-7904-4414>

Kachesova P.S., <http://orcid.org/0000-0001-6928-5014>

Nemashkalova L.A., <http://orcid.org/0000-0003-2713-8598>

Chudilova A.V., <http://orcid.org/0000-0002-8057-6928>

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 23 December 2016

Accepted 16 February 2017

Рак мочевого пузыря (РМП) остается серьезной проблемой в онкологии. В 2014 г. в России выявлено 14 908 (11 505 мужчин и 3403 женщин) заболевших данной патологией. В Южном федеральном округе заболеваемость РМП за 2014 г. составила 1484 человека (1197 мужчин и 287 женщин) [1]. В Ростовской области удельный вес РМП на 0,8% выше, чем данный показатель по стране, и составляет 5,3% [2]. Мужчины болеют в 3,4–4,5 раза чаще, чем женщины. Средний возраст заболевших 67 лет [3]. Несмотря на наличие систем активного выявления, заболеваемость данной патологией возрастает с каждым годом.

По данным статистики, в 70% случаев выявления РМП диагностируют I стадию заболевания, т. е. мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря (МНРМП). Основным методом лечения данной патологии является хирургический – трансуретральная резекция мочевого пузыря [4]. Однако при только хирургическом лечении частота рецидивирования заболевания составляет около 65%. С целью профилактики развития рецидива МНРМП в послеоперационном периоде применяют внутрипузырную иммунотерапию и химиотерапию; несмотря на это, возникновение рецидивов наблюдается в 45% случаев. Кроме того, при проведении внутрипузырных инстилляций у некоторых больных возникают общие и локальные осложнения, такие как циститы различной степени тяжести, аллергические реакции и прочие изменения, не проходящие к моменту следующей инстилляции. Это приводит либо к отмене проводимого лечения, либо к увеличению сроков лечения, а значит, снижает эффективность проводимой терапии. Нами была разработана модификация метода адьювантной внутрипузырной химиотерапии (ВПХТ) при помощи сканирующих электромагнитных полей (МП) [5].

При модификации адьювантной ВПХТ сканирующим МП увеличивается проницаемость мембран для проникновения цитостатика внутрь клеток [6], в этой

связи важным является определение уровня эндогенной интоксикации и состояния основного белка плазмы крови альбумина, осуществляющего связывание и транспортировку биологически активных веществ и токсических соединений, попадающих в кровь. Интерес представляет также исследование интенсивности свободнорадикальных процессов и состояния антиоксидантной системы у больных МНРМП до и после проведения им ВПХТ, модифицированной сканирующим МП.

Целью данной работы явилась оценка в сравнительном аспекте показателей, отражающих функциональное состояние альбумина, выраженность эндогенной интоксикации и состояние процессов свободнорадикального окисления в крови больных при адьювантной ВПХТ, модифицированной воздействием сканирующего МП.

Материал и методы

Исследованы 30 больных МНРМП, получивших комплексное лечение: трансуретральная резекция + адьювантная ВПХТ гемцитабином, модифицированная воздействием сканирующим МП. В качестве группы сравнения использованы результаты исследования биохимических показателей в крови 25 условно здоровых доноров без диагностированного опухолевого процесса и выраженной соматической патологии, сравнимых по возрасту с обследованными больными.

Для оценки уровня эндогенной интоксикации у всех больных до начала и после завершения комплексного лечения, а также у части больных в процессе динамического наблюдения были изучены уровень молекул средней массы ($МСМ_{254}$ и $МСМ_{280}$), отражающий накопление токсических лигандов, и для суждения о детоксикационном потенциале крови – уровень общей и эффективной концентрации альбумина (соответственно ОКА и ЭКА). Степень сорбции токсических лигандов (резервную связывающую спо-

способность альбумина) оценивали по отношению ЭКА/ОКА $\cdot 100\%$, что соответствует отношению свободных связей пула молекул альбумина к общему количеству его связей [7]. Рассчитывали также коэффициент интоксикации, отражающий баланс между накоплением и связыванием токсических лигандов, по формуле $KI = (MCM_{254}/ЭКА) \cdot 1000$ и индекс токсичности ИТ = ОКА/ЭКА – 1, характеризующий функциональное состояние альбумина (сорбционную способность), зависящее от конформационных изменений молекулы, и в значительной степени отражающий вклад недостаточности функций печени в развитие эндогенной интоксикации. Для суждения о состоянии окислительного метаболизма был исследован ряд показателей, характеризующих интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и функционирование антиоксидантной системы крови. Изучены светосумма быстрой вспышки перекись-индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ), отражающей интенсивность образования свободных радикалов [8], и накопление в эритроцитах и плазме крови продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой в пересчете на концентрацию малонового диальдегида (МДА) как наиболее изученного продукта ПОЛ [9]. Состояние антиоксидантной системы оценивали с использованием общепринятых спектрометрических методов по активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (СОД) [10] и каталазы [11], содержанию восстановленного глутатиона, активности глутатионзависимых ферментов (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы) [10] и оксидантной активности церулоплазмينا [12] – основного белкового антиоксиданта плазмы крови.

Перечисленные показатели определялись у больных до начала лечения (фон), после проведения химиотерапии (6 внутривенных введений химиопрепаратов, по 1 в неделю), через 3 и 6 мес после операции, а также у нескольких больных через 9 и 12 мес после операции.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistika 6.0. Для проверки гипотезы о соответствии распределению полученных вариант нормальному распределению использовали критерий Колмогорова–Смирнова. Для оценки уровня значимости различий использовали *t*-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ – $p < 0,000001$, а при $0,1 > p > 0,05$ – на уровне тенденции к статистической значимости.

Результаты

Результаты исследования показателей эндогенной интоксикации представлены в табл. 1. Уровень МСМ, являющийся общепринятым универсальным биохимическим маркером эндотоксикоза, оказался повышенным у обследованных нами больных. При этом содержание МСМ₂₅₄, представленных в основном веществами небелкового происхождения, увеличилось на 34%, а прирост содержания МСМ₂₈₀ (среднемолекулярные пептиды) составил 79,6%. Более значительное увеличение пептидной компоненты пула МСМ привело к повышению коэффициента соотношения МСМ₂₈₀ и МСМ₂₅₄ более чем на 40%. Наряду с увеличением в крови эндотоксинов происходило и нарушение систем детоксикации, на что

указывало нарушение структурно-функциональных свойств основного белка плазмы крови – альбумина. Эффективная концентрация альбумина и его связывающая способность у больных МНРМП до начала лечения были снижены относительно группы сравнения на 20,4 и 20,5% соответственно. КИ был увеличен на 81%, а ИТ – на 186,9% (т. е. почти в 3 раза).

Сразу после окончания ВПХТ уровень МСМ снизился, оставаясь выше значений в группе без онкопатологии на 19,2 и 36,6% соответственно для МСМ₂₅₄ и МСМ₂₈₀. В то же время нарушение детоксикационных свойств альбумина оказалось еще более значительным: снижение ЭКА и ССА составило 31%, ИТ был увеличен в 3,5 раза, а КИ – на 70,9%.

Динамика изученных показателей у больных в послеоперационный период свидетельствовала об их постепенной нормализации. Содержание МСМ₂₅₄ в период 3–9 мес после операции превышало уровень, характерный для лиц без онкопатологии, на 17–19%, а через год статистически значимо не отличалось от него. Содержание МСМ₂₈₀ было увеличено через 3 мес после операции на 61,3%, через 6 мес – на 37,9%, через 9–12 мес – на 34–36%. Коэффициент соотношения МСМ₂₈₀ и МСМ₂₅₄ был выше 1 во все сроки наблюдения, наибольшее его увеличение отмечено через 3 мес после операции (выше уровня без онкопатологии на 47,2%), наименьшее (на 20,2%) – через 9 мес после операции. Статистически значимых изменений общей концентрации альбумина выявлено не было. Уровень эффективной концентрации альбумина плавно увеличивался с 3-месячного периода и через 9–12 мес достоверно не отличался от уровня в группе без онкопатологии. Сходная динамика изменения была характерна и для ССА. Во все изученные сроки послеоперационного периода уровни КИ и ИТ изменялись в сторону нормализации и были статистически значимо ниже, чем сразу после завершения комплексного лечения. Через 3 мес после операции превышение значений относительно группы без онкопатологии составило для КИ 36,6%, для ИТ – 83,4%, через 6 мес – 32,9 и 50,7% соответственно. Через 9–12 мес величина ИТ была в пределах нормы, а КИ был выше нормы лишь на 28,3 и 16,5% (см. табл. 1).

В крови больных МНРМП до начала лечения было выявлено усиление свободнорадикальных процессов и повышение концентрации молекулярных продуктов ПОЛ. Об этом свидетельствовало увеличение светосуммы ХЛ плазмы крови на 49,1% и содержания МДА в эритроцитах на 35,8%. Это сопровождалось снижением в эритроцитах активности СОД на 33,6%, каталазы на 16,6%, глутатионредуктазы на 43,5%, глутатионтрансферазы на 19,4% (табл. 2 и 3).

После окончания лечения светосумма ХЛ снизилась на 44,9% и статистически значимо не отличалась от значений в группе без онкопатологии, а содержание МДА в эритроцитах снизилось на 63,8% и стало ниже нормы на 50,9%. Снижение активности СОД было еще более выраженным, имело место снижение коэффициента соотношения СОД и каталазы на 30,9%. Это сопровождалось увеличением содержания, восстановленного глутатиона на 27,4% относительно фоновых значений (статистически значимо выше нормы на 16,8%), по-видимому, за счет почти двукратного увеличения активности глутатионредуктазы, участвующей в биорегенерации

Таблица 1

Показатели эндогенной интоксикации в крови больных раком мочевого пузыря в процессе лечения

Группы больных	MCM ₂₅₄ У.Е. экстинкции	MCM ₂₈₀ У.Е. экстинкции	MCM _{280/254}	ОКА г/л	ЭКА г/л	ССА (ЭКА/ ОКА•100%)	КИ (MCM ₂₅₄ / ЭКА•1000)	ИТ (ОКА/ЭКА – 1)
До лечения n = 30	0,335 ± 0,029 p < 0,01	0,422 ± 0,044 p < 0,001	1,263 ± 0,061 p < 0,001	44,52 ± 2,36 p > 0,1	29,06 ± 2,78 p < 0,02	65,11 ± 5,14 p < 0,01	12,36 ± 1,55 p < 0,001	0,657 ± 0,179 p < 0,02
После химио- терапии n = 30	0,298 ± 0,017 p < 0,02	0,321 ± 0,019 p < 0,001 0,1 > p _ф > 0,05	1,088 ± 0,054 p < 0,02 p _ф < 0,05	44,6 ± 1,1 p > 0,1	25,19 ± 1,03 p = 0,000001	56,9 ± 3,03 p = 0,000001	11,67 ± 0,44 p = 0,000000	0,803 ± 0,096 p < 0,000001
Через 3 мес после операции n = 28	0,293 ± 0,011 p < 0,01	0,379 ± 0,025 p < 0,00001 0,1 > p ₁ > 0,05	1,298 ± 0,074 p < 0,001 p _ф > 0,1	44,6 ± 1,04 p > 0,1	31,57 ± 1,23 p < 0,02 p ₁ < 0,001	70,59 ± 1,21 p < 0,001 p ₁ < 0,001	9,33 ± 0,33 p = 0,000001 0,1 > p _ф > 0,05 p ₁ < 0,001	0,420 ± 0,024 p < 0,001 p ₁ < 0,01
Через 6 мес после операции n = 26	0,299 ± 0,012 p < 0,01	0,324 ± 0,005 p = 0,000001	1,090 ± 0,043 p < 0,05 0,1 > p _ф > 0,05	44,1 ± 1,05 p > 0,1	32,87 ± 1,02 0,1 > p > 0,05 p ₁ < 0,001	74,47 ± 0,53 p < 0,02 p ₁ < 0,001	9,08 ± 0,17 p = 0,000000 p _ф > 0,1 p ₁ < 0,001	0,345 ± 0,029 p < 0,05 p ₁ < 0,01
Через 9 мес после операции n = 10	0,298 ± 0,010 p < 0,01	0,315 ± 0,004 p < 0,0001	1,058 ± 0,022 0,1 > p > 0,05 0,1 > p _ф > 0,05	41,9 ± 0,63 p > 0,1	34,00 ± 0,92 p > 0,1 p ₁ < 0,001	81,11 ± 1,02 p > 0,1 0,1 > p _ф > 0,05 p ₁ < 0,001	8,76 ± 0,08 p < 0,0001 p _ф > 0,1 p ₁ < 0,01	0,234 ± 0,023 p > 0,1 p ₁ < 0,01
Через 12 мес после операции n = 10	0,272 ± 0,006 0,1 > p > 0,05	0,319 ± 0,01 p < 0,0001	1,175 ± 0,035 p < 0,02 p _ф > 0,1	41,5 ± 0,74 p > 0,1	34,08 ± 0,74 p > 0,1 p ₁ < 0,001	82,1 ± 0,79 p > 0,1 0,1 > p _ф > 0,05 p ₁ < 0,001	7,96 ± 0,04 p < 0,01 p _ф > 0,1 p ₁ < 0,001	0,219 ± 0,012 p > 0,1 p ₁ < 0,01
Доноры (без онко- патологии)	0,250 ± 0,007	0,235 ± 0,008	0,882 ± 0,056	44,67 ± 1,16	36,49 ± 1,26	81,92 ± 1,95	6,83 ± 0,18	0,229 ± 0,032

Пр и м е ч а н и е: здесь и в табл. 2 и 3: p – достоверность относительно группы доноров; p_ф – достоверность относительно значений до лечения; p₁ – достоверность относительно значений сразу после окончания ХТ.

Таблица 2

Показатели свободнорадикальных процессов в крови больных раком мочевого пузыря в процессе лечения

Группы больных	Светосумма гемоглобина плазмы крови, имп./6 с	МДА, нМ/мл плазмы	МДА в эритроцит., нМ/мл 1% гемолизата	СОД, ед. актив./мг Hb	Каталаза в эритроцит., мкМ H ₂ O ₂ / мин. × мг Hb	СОД/ Каталаза эритр.	Каталаза в плазме, мкМ H ₂ O ₂ /мин	Активность церулоплаз- мина мкМ/л плазмы
До лечения n = 30	4633,3 ± 622,5 p < 0,02	2,775 ± 0,477 p > 0,1	2,196 ± 0,247 p < 0,02	330,3 ± 29,5 p < 0,0001	112,4 ± 8,6 p < 0,02	3,232 ± 0,465 p > 0,1	31,01 ± 4,75 p > 0,1	1,479 ± 0,126 p < 0,05
После химио- терапии n = 30	2553,5 ± 306,1 p > 0,1 p _ф < 0,01	1,966 ± 0,286 p > 0,1 p _ф > 0,1	0,795 ± 0,102 p < 0,0001 p _ф < 0,0001	313,4 ± 21,2 p = 0,000001	123,6 ± 9,4 p > 0,1	2,586 ± 0,146 p < 0,00001	39,01 ± 3,67 p > 0,1 p _ф > 0,1	1,963 ± 0,090 p = 0,000000 p _ф < 0,01
Через 3 мес после операции n = 28	2248,6 ± 170,9 p < 0,01 p _ф < 0,01	5,043 ± 0,767 p < 0,01 p _ф < 0,02 p ₁ < 0,01	0,718 ± 0,098 p < 0,0001 p _ф < 0,0001 p ₁ > 0,1	363,7 ± 15,2 p < 0,001 0,1 > p ₁ > 0,05	105,7 ± 10,8 p < 0,01	3,642 ± 0,256 p > 0,1 p ₁ < 0,01	29,85 ± 3,93 p > 0,1 p _ф > 0,1 p ₁ > 0,1	–
Через 6 мес после операции n = 26	–	5,961 ± 0,257 p < 0,0001 p _ф < 0,001 p ₁ = 0,000000	2,654 ± 0,039 p < 0,0001 p _ф > 0,1 p ₁ = 0,000000	421,0 ± 10,6 p < 0,05 p _ф < 0,05 p ₁ < 0,01	126,6 ± 9,5 p > 0,1	3,395 ± 0,191 p > 0,1 p ₁ < 0,01	42,43 ± 2,25 0,1 > p > 0,05 0,1 > p _ф > 0,05 p ₁ > 0,1	–
Через 9 мес после операции n = 10	–	1,603 ± 0,053 p > 0,1 p _ф > 0,1	2,462 ± 0,091 p < 0,01 p _ф > 0,1 p ₁ = 0,000001	396,9 ± 18,0 p < 0,05 p ₁ < 0,05	128,1 ± 14,4 p > 0,1	3,163 ± 0,193 0,1 > p > 0,05 p ₁ < 0,05	53,51 ± 3,37 p < 0,001 p _ф < 0,05 p ₁ < 0,05	1,937 ± 0,118 p < 0,0001 p _ф < 0,02
Через 12 мес после операции n = 10	–	1,474 ± 0,013 p > 0,1 p _ф > 0,1	1,058 ± 0,044 p < 0,05 p _ф < 0,02 p ₁ > 0,1	385,6 ± 17,9 p < 0,05 0,1 > p ₁ > 0,05	112,3 ± 14,4 0,1 > p > 0,05	3,535 ± 0,276 p > 0,1 p ₁ < 0,01	37,57 ± 2,96 p > 0,1 p _ф > 0,1 p ₁ > 0,1	2,053 ± 0,149 p < 0,01 p _ф < 0,01
Доноры (без онкопа- тологии)	3107,1 ± 196,3	2,724 ± 0,319	1,617 ± 0,111	497,5 ± 16,2	134,7 ± 4,1	3,743 ± 0,116	34,53 ± 1,76	1,214 ± 0,056

Показатели глутатионовой системы в эритроцитах крови больных раком мочевого пузыря в процессе лечения

Группы больных	Глутатион, мкМ/мг Нб	ГР, МЕ/мг Нб	ГТ, МЕ/мг Нб	ГПО, МЕ/мг Нб	СОД/ГПО	Каталаза/ГПО	ГР/ГПО
До лечения $n = 30$	$28,87 \pm 2,35$ $p > 0,1$	$4,32 \pm 0,64$ $p = 0,00001$	$49,90 \pm 1,66$ $p < 0,001$	$270,1 \pm 45,4$ $p > 0,1$	$1,389 \pm 0,004$ $p < 0,01$	$0,515 \pm 0,072$ $p > 0,1$	$0,0195 \pm 0,0038$ $p < 0,01$
После химиотерапии $n = 30$	$36,79 \pm 2,67$ $p < 0,05$ $p_{\phi} < 0,05$	$8,31 \pm 0,61$ $p > 0,1$ $p_{\phi} < 0,001$	$49,46 \pm 3,68$ $p < 0,01$	$191,1 \pm 22,3$ $p > 0,1$	$1,813 \pm 0,07$ $0,1 > p > 0,05$ $0,1 > p_{\phi} > 0,05$	$0,730 \pm 0,093$ $p > 0,1$ $0,1 > p_{\phi} > 0,05$	$0,049 \pm 0,0063$ $p > 0,1$ $p_{\phi} < 0,001$
Через 3 мес после операции $n = 28$	$27,53 \pm 3,14$ $p > 0,1$ $p_1 < 0,05$	$4,83 \pm 0,67$ $p < 0,001$ $p_{\phi} > 0,1$ $p_1 < 0,01$	$53,01 \pm 2,60$ $p < 0,02$	$353,0 \pm 21,5$ $p < 0,02$ $p_1 < 0,0001$	$1,045 \pm 0,040$ $p < 0,001$ $p_{\phi} < 0,05$ $p_1 < 0,01$	$0,2985 \pm 0,024$ $p < 0,001$ $p_{\phi} < 0,02$ $p_1 < 0,001$	$0,0134 \pm 0,0016$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,0001$
Через 6 мес после операции $n = 26$	$24,15 \pm 2,80$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$ $p_{3м} > 0,1$	$7,72 \pm 0,64$ $p > 0,1$ $p_{\phi} < 0,01$ $p_{3м} < 0,02$	$44,75 \pm 2,11$ $p < 0,001$ $p_{3м} < 0,05$	$380,4 \pm 18,8$ $p < 0,01$ $0,1 > p_{\phi} > 0,05$ $p_1 < 0,0001$	$1,115 \pm 0,036$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,02$	$0,333 \pm 0,018$ $p < 0,01$ $0,1 > p_{\phi} > 0,05$ $p_1 < 0,01$	$0,0202 \pm 0,0011$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$ $p_{3м} < 0,01$
Через 9 мес после операции $n = 10$	$27,76 \pm 2,76$ $0,1 > p_1 > 0,05$ $p_{3м} > 0,1$	$5,27 \pm 0,69$ $p < 0,02$ $p_{\phi} > 0,1$ $p_1 < 0,02$	$45,94 \pm 2,21$ $p < 0,01$	$393,5 \pm 17,6$ $p < 0,02$ $p_1 < 0,001$	$1,009 \pm 0,010$ $p < 0,02$ $p_1 < 0,05$	$0,323 \pm 0,022$ $p < 0,02$ $p_1 < 0,02$	$0,0136 \pm 0,002$ $p < 0,02$ $p_1 < 0,01$
Через 12 мес после операции $n = 10$	$21,12 \pm 2,76$ $p < 0,01$ $0,1 > p_{\phi} > 0,05$ $p_1 < 0,01$ $p_{3м} > 0,1$	$5,89 \pm 0,69$ $0,1 > p > 0,05$ $p_{\phi} > 0,1$ $p_1 < 0,05$ $p_{3м} > 0,1$	$47,92 \pm 2,21$ $p < 0,01$	$232,4 \pm 17,6$ $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$ $p_{3м} < 0,01$ $p_{6м,9м} < 0,001$	$1,669 \pm 0,045$ $p > 0,1$ $p_{3м} < 0,00001$	$0,478 \pm 0,027$ $p > 0,1$ $p_{3м} < 0,001$	$0,026 \pm 0,0041$ $p > 0,1$ $p_1 < 0,05$ $p_{3м} < 0,01$
Доноры (без онкопатологии)	$31,49 \pm 1,06$	$7,65 \pm 0,31$	$61,92 \pm 1,75$	$246,7 \pm 22,2$	$2,517 \pm 0,224$	$0,642 \pm 0,047$	$0,0395 \pm 0,0041$

Примечание: $p_{3м}$ – достоверность относительно срока 3 мес после операции.

окисленного глутатиона, при сниженной активности глутатионтрансферазы – фермента, способствующего использованию восстановленного глутатиона для конъюгации с гидрофобными соединениями и восстановления органических пероксидов.

Через 3 мес после операции уровень свободно-радикальных продуктов в плазме крови больных и МДА в эритроцитах был статистически значимо ниже как исходных значений (на 51,5 и 67,3% соответственно), так и значений в группе без онкопатологии (на 27,6 и 55,6%). Активность СОД проявила тенденцию к повышению относительно предыдущего срока наблюдения, что сопровождалось нормализацией коэффициента соотношения СОД и каталазы. Изменения в сторону нормализации были характерны для СОД и в следующие сроки наблюдения. Нормализация активности каталазы наблюдалась через 6 и 9 мес после операции (см. табл. 2).

Существенные изменения, начиная с 3-месячного срока после операции, были отмечены и для компонентов системы глутатиона. Содержание восстановленного глутатиона после подъема, наблюдавшегося сразу после окончания химиотерапии, снизилось и оставалось на статистически значимо более низком уровне во все последующие сроки наблюдения, через 6 и 12 мес этот показатель был ниже и значений в группе без онкопатологии. В 3-месячный срок имело место резкое снижение глутатионредуктазы с последующими колебаниями в сторону нормализации. Активность ГПО, напротив, выросла и в сроки 3–9 мес

превышала норму на 43–59,5%, а через 12 мес вернулась к уровню, характерному для группы без онкопатологии. Активность глутатионтрансферазы была ниже нормы во все сроки наблюдения (см. табл. 3).

Сопоставляя изменения, выявленные для разных компонентов антиоксидантной системы, можно прийти к заключению, что определенный компенсаторный вклад в сдерживание интенсификации ПОЛ может вносить установленное нами увеличение антиоксидантной активности церулоплазмينا (см. табл. 2), обладающего выраженной супероксидустраняющей активностью, а также отсутствие снижения активности ГПО, об усилении роли которой в антиоксидантной защите свидетельствует снижение коэффициентов СОД/ГПО и Каталаза/ГПО (см. табл. 3). Это было характерно для больных МНРМП как до начала лечения, так и в динамике послеоперационного наблюдения.

Обсуждение

Таким образом, у больных, в комплексное лечение которых была включена ВПХТ гемцитабином, модифицированная сканирующим МП, в процессе послеоперационного одногодичного наблюдения имела место постепенная нормализация показателей эндогенной интоксикации, значительное увеличение которой было характерно для больных МНРМП до начала лечения и сразу после завершения комплексного лечения.

Значение свободнорадикальных процессов в воз-

никновении и развитии в организме злокачественного процесса не вызывает сомнения. Согласно многочисленным данным литературы, наиболее характерными для онкопатологии являются интенсификация реакций свободнорадикального окисления и истощение антиоксидантных резервов организма [13, 14], что вносит существенный вклад в развитие синдрома эндогенной интоксикации [15, 16].

Известно, что метаболиты свободнорадикального окисления липидов и белков являются эндотоксинами и ингибируют синтетические процессы, активность многих ферментов, способствуют повышению свертываемости крови, дальнейшей окислительной деструкции белков и нуклеиновых кислот [17]. Окисление белков повышает чувствительность белковых молекул к протеолизу, что приводит к их деградации и образованию токсических фрагментов, в том числе молекул средней массы.

Гомеостаз больных с опухолевым заболеванием еще до начала специфического лечения характеризуется дисбалансом окислительно-антиокислительных процессов, углубляющимся по мере прогрессирования заболевания и под влиянием специфического противоопухолевого лечения [18].

Согласно полученным данным, после проведения больным МНРМП адьювантной ВПХТ, модифицированной МП, имеет место снижение в крови интенсивности ХЛ и уровня МДА (молекулярных продуктов ПОЛ), изначальное повышение которых свидетельствует об усилении у больных РМП до начала лечения свободнорадикальных процессов ПОЛ. Усилению окислительных процессов способствовало характерное для больных РМП изначальное статистически значимое снижение ферментов первой линии антиоксидантной защиты (СОД и каталазы), а также двух ферментов глутатионовой системы. В послеоперационном периоде наблюдалось постепенное восстановление сбалансированной работы основных компонентов антиоксидантной системы. Анализ рассчитанных коэффициентов соотношения между активностью антиоксидантных ферментов (СОД/Каталаза эритроцитов, СОД/ГПО, Каталаза/ГПО, ГР/ГПО) позволяет прийти к заключению о том, что к 12-месячному сроку после операции все они статистически значимо не отличаются от значений в группе лиц без онкопатологии. Повышение активности СОД и восстановление сбалансированной работы СОД и каталазы свидетельствуют об эффективной антиоксидантной защите организма, что, возможно, способствовало удлинению безрецидивного периода у больных, которым была проведена адьювантная ВПХТ, модифицированная МП.

Поскольку повышенный уровень глутатиона и активацию глутатионтрансферазы рассматривают в качестве одного из компонентов формирования множественной лекарственной устойчивости [19–22], выявленное нами снижение содержания восстановленного глутатиона, зафиксированное уже через 3 мес после операции и сохраняющееся на протяжении всего года наблюдения, и статистически значимо сниженная активность глутатионтрансферазы на всех этапах лечения свидетельствуют о том, что использованный метод химиотерапии не способствует развитию химиорезистентности.

Повышенное содержание МДА через 6 и 9 мес после операции, возможно, связано с отдаленными

последствиями действия химиопрепарата, а также сканирующего магнитного поля как индукторов активных форм кислорода. Это вызывает компенсаторное усиление антиоксидантной защиты, проявившееся наиболее выражено в активации глутатионпероксидазы в те же сроки послеоперационного периода, а также в повышении активности СОД, восстановлении активности каталазы в эритроцитах и значительном увеличении активности каталазы в плазме крови.

Для понимания возможного значения повышения оксидантной активности церулоплазмينا у обследованных нами больных РМП представляют интерес данные литературы, свидетельствующие не только о специфичном возрастании уровня этого белка при ряде опухолевых заболеваний (в частности при меланоме и миеломах), возможности умеренного повышения уровня церулоплазмينا при опухолях различной локализации как проявлении острофазного ответа на рост опухоли и деструкцию тканей, но и о том, что снижение уровня церулоплазмينا является неблагоприятным прогностическим признаком, в частности у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и у кардиохирургических больных [23].

Заключение

Таким образом, проведенные биохимические исследования свидетельствуют о том, что для больных МНРМ до начала лечения характерно наличие эндогенной интоксикации, обусловленной как увеличением содержания МСМ, так и снижением детоксикационных возможностей альбумина. При этом увеличение интенсивности ХЛ, накопление молекулярных продуктов ПОЛ и низкий уровень активности основных антиоксидантных ферментов указывает на вклад свободнорадикальных процессов в состояние метаболизма данной категории больных. Сразу после окончания лечения многие из изученных показателей изменяются в сторону нормализации, исключением являются еще более низкая связывающая способность альбумина, обуславливающая рост индекса токсичности, и наиболее низкие значения активности СОД и ГПО, играющих ключевую роль в антиоксидантной защите. Нормализация параметров эндогенной интоксикации и восстановление сбалансированной работы антиоксидантной системы в процессе послеоперационного наблюдения больных свидетельствуют об адекватности проведенного лечения, а также исходя из соотношения компонентов глутатионовой системы об отсутствии биохимических предпосылок формирования множественной лекарственной устойчивости. Полученные нами данные о динамике изученных биохимических параметров в ходе проводимого противоопухолевого лечения согласуются с клинической эффективностью применения у больных МНРМП адьювантной ВПХТ гемцитабином в сочетании со сканирующим МП, позволяющей улучшить показатели 2-летней безрецидивной выживаемости до 94% и увеличить в два раза латентный период развития рецидива заболевания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. (ред.). *Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2016.
- Кит О.И., Дурицкий М.Н., Шелякина Т.В., Максимова Н.А., Легостаев В.М. Современные пути оптимизации организационных форм профилактики злокачественных новообразований. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; (4): Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20467> (10.07.2015).
- Матвеев В.Б., Фигурин К.М., Волкова М.И., Черняев В.А., Медведев С.В., Носов Д.А. Рак мочевого пузыря. В кн.: Давыдов М.И. (ред.). *Онкология. Клинические рекомендации*. М.: Издательская группа РОНЦ; 2015: 478–89.
- Лелявин К.Б., Дворниченко В.В. Мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря: клинические и морфологические особенности, результаты лечения, анализ выживаемости. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2013; [5(93)]: 53–9.
- Шевченко А.Н., Шихлярова А.И., Филатова Е.В., Тарнопольская О.В., Куркина Т.А., Селезнев С.Г. и др. Модифицированная внутрипузырная химиотерапия рака мочевого пузыря. *Урология*. 2015; (1): 54–7.
- Филатова Е.В., Шихлярова А.И., Шевченко А.Н., Куркина Т.А., Селезнев С.Г., Хомутенко И.А. и др. К решению задач трансляционной медицины в экспериментальной противоопухолевой терапии с применением магнитного поля. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; (3): Available at: <http://www.science-education.ru/123-20277> (02.07.2015).
- Матвеев С.Б., Спиридонова Т.Г., Клычкова Е.В., Николаева Н.Ю., Смирнов С.В., Голиков П.П. Критерии оценки эндогенной интоксикации при ожоговой травме. *Клин. лаб. диагн.* 2003; (10): 3–6.
- Шестаков В.А., Бойчевская Н.О., Шерстнев М.П. Хемилюминесценция плазмы крови в присутствии перекиси водорода. *Вопросы медицинской химии*. 1979; 25(2): 132–7.
- Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: Орехович В.Н. (ред.). *Современные методы в биохимии*. М.: Медицина; 1977: 66–8.
- Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. *Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации*. СПб.: ИКФ «Фолиант»; 2000.
- Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лаб. дело*. 1988; (1): 16–9.
- Камышников В.С. (ред.). *Методы клинических лабораторных исследований*. 6-е изд. М.: МЕДпресс-информ; 2013.
- Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. *Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты*. М.: Фирма «Слово»; 2006.
- Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях. *Клин. лаб. диагн.* 2010; (6): 28–44.
- Васильков В.Г., Шкунова Л.Г., Келина Н.Ю., Безручко Н.В. Роль нарушений антиоксидантного статуса организма в формировании синдрома эндогенной интоксикации у больных в токсической и термической стадиях перитонита. *Анестезиол. и реаниматол.* 2001; (6): 31–4.
- Наумов М.М., Чернецова Л.Ф., Зотов П.Б. Влияние гипохлорита натрия на некоторые показатели синдрома эндогенной интоксикации и иммунитета у больных распространенным раком легкого. *Онкология: теория и практика*. 2004; (1): 6–10.
- Ray G., Husain S.A. Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Indian J. Exp. Biol.* 2002; 40(11): 1213–32.
- Немцова Е.Р., Безбородова О.А., Золотавкина Ю.Б., Якубовская Р.И., Чайка А.В., Джубалиева С.К. и др. Состояние антиоксидантной и иммунной систем организма с токсикозом, индуцированным злокачественным процессом и противоопухолевым лечением. *Рос. онкол. журн.* 2006; (5): 27–33.
- Свириновский А.И., Пасюков В.В. Молекулярные основы феномена химио- и радиорезистентности при опухолевых процессах. *Медицинские новости*. 2007; (11): 7–19.
- Волкова Т.О., Багина У.С. Множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам. Экологические аспекты. *Принципы экологии*. 2012; 2(1): 4–20.
- McConkey D.J., Zhu K. Mechanisms of proteasome inhibitor action and resistance in cancer. *Drug Resistance Updat.* 2008; 11: 164–79.
- Aldalla M.Y. Glutathione as potential target for cancer therapy; more or less is good? (mini-review). *Jordan J. Biol. Sci.* 2011; 3(4): 119–24.

- Шевченко О.П., Орлова О.В. Клинико-диагностическое значение церулоплазмина (лекция). *Клин. лаб. диагн.* 2006; (7): 23–33.

REFERENCES

- Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. (Eds.). *Malignancies in Russia in 2014 (Morbidity and Mortality)*. Moscow; 2016. (in Russian)
- Kit O.I., Duritskiy M.N., Shelyakina T.V., Maksimova N.A., Legostaev V.M. Modern ways of optimization of the organizational forms of malignant neoplasms prevention. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; (4): Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20467> (10.07.2015). (in Russian)
- Matveev V.B., Figurin K.M., Volkova M.I., Chernyaev V.A., Medvedev S.V., Nosov D.A. Bladder cancer. In: Davydov M.I. (Ed.). *Oncology. Clinical guidelines*. Moscow; 2015: 478–89. (in Russian)
- Lelyavin K.B., Dvornichenko V.V. Muscle-non-invasive bladder cancer: clinical and morphological features, treatment outcome, survival analysis. *Byulleten' VSNTs SO RAMN*. 2013; [5(93)]: 53–9. (in Russian)
- Shevchenko A.N., Shikhlyarova A.I., Filatova E.V., Tarnopol'skaya O.V., Kurkina T.A., Seleznev S.G. et al. Modified intravesical chemotherapy of bladder cancer. *Urologiya*. 2015; (1): 54–7. (in Russian)
- Filatova E.V., Shikhlyarova A.I., Shevchenko A.N., Kurkina T.A., Seleznev S.G., Khomutenko I.A. et al. To solving problems of translational medicine in the experimental anti-tumor therapy using magnetic field. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; (3): Available at: <http://www.science-education.ru/123-20277> (02.07.2015). (in Russian)
- Matveev S.B., Spiridonova T.G., Klychnikova E.V., Nikolaeva N.Yu., Smirnov S.V., Golikov P.P. Criteria for evaluation of endogenous intoxication at burn injury. *Klin. lab. diagn.* 2003; (10): 3–6. (in Russian)
- Shestakov V.A., Boychevskaya N.O., Sherstnev M.P. Chemiluminescence of blood plasma in the presence of hydrogen peroxide. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1979; 25(2): 132–7. (in Russian)
- Stal'naya I.D., Garishvili T.G. Method of determining malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. In: Orekhovich V.N. (Ed.). *Modern Methods in Biochemistry*. Moscow: Meditsina; 1977: 66–8. (in Russian)
- Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybyina N.N. *Methods for Evaluation of Free Radical Oxidation and Antioxidant System: Methodical Recommendations*. St. Petersburg: IKF «Foliant»; 2000. (in Russian)
- Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. The method for determining the activity of catalase. *Lab. delo*. 1988; (1): 16–9. (in Russian)
- Kamyshnikov V.S. (Ed.). *Methods for Clinical Laboratory Tests*. 6-th Ed. Moscow: MEDpress-inform; 2013. (in Russian)
- Men'shchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K., Bondar' I.A., Krugovykh N.F., Trufakin V.A. *Oxidative Stress. Pro-oxidants and Antioxidants*. Moscow: Firma «Slovo»; 2006. (in Russian)
- Gorozhanskaya E.G. Free radical oxidation and antioxidant defense mechanisms in normal cell and at tumor diseases. *Klin. lab. diagn.* 2010; (6): 28–44. (in Russian)
- Vasil'kov V.G., Shkunova L.G., Kelina N.Yu., Bezruchko N.V. The role of the disturbances of the antioxidant status of the organism in the formation of endogenous intoxication in patients with toxic and thermal stages of peritonitis. *Anesteziol. i reanimatol.* 2001; (6): 31–4. (in Russian)
- Naumov M.M., Chernetsova L.F., Zotov P.B. Effect of sodium hypochlorite on some parameters of endogenous intoxication and immunity in patients with advanced lung cancer. *Onkologiya: teoriya i praktika*. 2004; (1): 6–10. (in Russian)
- Ray G., Husain S.A. Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Indian J. Exp. Biol.* 2002; 40(11): 1213–32.
- Nemetsova E.R., Bezborodova O.A., Zolotavkina Yu.B., Yakubovskaya R.I., Chayka A.V., Dzhubalieva S.K. et al. Status of antioxidant and immune systems of the organism with toxicosis induced by malignancies and cancer treatment. *Ros. onkol. zhurn.* 2006; (5): 27–33. (in Russian)
- Svirnovskiy A.I., Pasyukov V.V. Molecular basis of the phenomenon of chemo- and radio-resistance in tumors processes. *Meditsinskie novosti*. 2007; (11): 7–19. (in Russian)
- Volkova T.O., Bagina U.S. Multi-drug resistance of tumor cells to chemotherapeutic drugs. Environmental aspects. *Printsipy ekologii*. 2012; 2(1): 4–20. (in Russian)
- McConkey D.J., Zhu K. Mechanisms of proteasome inhibitor action and resistance in cancer. *Drug Resistance Updat.* 2008; 11: 164–79.
- Aldalla M.Y. Glutathione as potential target for cancer therapy; more or less is good? (mini-review). *Jordan J. Biol. Sci.* 2011; 3(4): 119–24.
- Shevchenko O.P., Orlova O.V. Clinical and diagnostic value of ceruloplasmin (lecture). *Klin. lab. diagn.* 2006; (7): 23–33. (in Russian)

Поступила 23.12.16

Принята к печати 16.02.17