

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

ISSN 1682-0363 (print)  
ISSN 1819-3684 (online)

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 20

№ 2. 2021

# НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ КОНФЕРЕНЦИИ СИБГМУ В 2021 г.

## Всероссийская научно-практическая конференция

### ТИПОВЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ: СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕНДЫ В НАУКЕ

Посвящена 130-летию старейшей в азиатской части России кафедры патофизиологии Императорского (государственного) Томского университета – Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета и 75-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, академика РАН Вячеслава Викторовича Новицкого.

#### МЕРОПРИЯТИЯ В РАМКАХ КОНФЕРЕНЦИИ

- выступления выдающихся российских ученых с академическими лекциями;
- пленарные и устные доклады ученых – ведущих специалистов в области патологии и патологической физиологии;
- обсуждение новых подходов в преподавании патофизиологии в российских вузах и инноваций в высшем образовании;
- музейный час об истории научно-медицинских школ СибГМУ.

**Время проведения: 7–8 сентября 2021 г.**

**Место проведения: СибГМУ, г. Томск, Московский тракт, 2..**

**[e-mail: kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru](mailto:kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru)**

Информация о доступе к онлайн-трансляции мероприятий конференции будет размещена 15 августа 2021 г. на сайте СибГМУ на странице кафедры патофизиологии по ссылке  
**<https://www.ssmu.ru/ru/obrazovanie/departments/patfiz/>**

Персональная информация о доступе на площадку проведения конференции для удаленных почетных гостей и участников с онлайн-докладами будет разослана дополнительно.



# БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал  
Выходит 4 раза в год

Том 20, № 2, 2021

ISSN 1682-0363 (print)  
ISSN 1819-3684 (online)

## УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ:

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный  
медицинский университет» Минздрава России

Журнал основан в 2001 году  
Зарегистрирован в Министерстве РФ  
по делам печати, телерадиовещания  
и средств массовых коммуникаций  
Свидетельство регистрации ПИ  
№ 77-7366 от 26.03.2001 г.

Журнал входит в Перечень ведущих  
рецензируемых научных журналов и изданий,  
выпускаемых в РФ, в которых должны быть  
опубликованы основные научные результаты  
диссертаций на соискание ученой степени  
доктора и кандидата наук

Индексация:

Scopus  
Web of Science (WoS (ESCI))  
РИНЦ (Science Index)  
RSCI  
Ulrich's International Periodicals Directory  
Cyberleninka  
DOAS

Редакция:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107.  
Тел.: (382-2)-51-41-53.  
<http://bulletin.tomsk.ru>  
E-mail: [bulletin@bulletin.tomsk.ru](mailto:bulletin@bulletin.tomsk.ru)

Оригинал-макет:

Издательство СибГМУ.  
634050, г. Томск, Московский тракт, 2.  
Редакторы: Е.Е. Степанова, Ю.П. Готфрид  
Перевод: М.Е. Орлова, Дж. Палацца  
Электронная верстка, дизайн обложки  
Л.Д. Кривцова

Отпечатано в ООО «Литбюро»,  
634055, г. Томск, ул. Королёва, 4.

Подписано в печать 28.06.2021 г.  
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.  
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».  
Печ. л. 30,75. Усл. печ. л. 30.  
Тираж 500 экз. Заказ 304.

Цена – свободная.

Дата выхода в свет 30.06.2021.

Подписной индекс 10650 в Объединенном каталоге  
«Пресса России» и интернет-каталоге  
агентства «Книга-Сервис».

При перепечатке ссылка на  
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна.

Ответственность за достоверность информации,  
содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели.

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

О.И. Уразова, *член-корреспондент РАН (Томск)*

## ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Л.М. Огородова, *член-корреспондент РАН (Томск)*

## НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Калюжин, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*

## РЕДКОЛЛЕГИЯ:

В.М. Алифирова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
Л.И. Афтанас, *академик РАН (Новосибирск)*  
А.А. Баранов, *академик РАН (Москва)*  
А.И. Венгеровский, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
Е.Г. Григорьев, *член-корреспондент РАН (Иркутск)*  
А.М. Дыгай, *академик РАН (Томск)*  
М.В. Завьялова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
Л.В. Капилевич, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
С.И. Карась, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
Р.С. Карпов, *академик РАН (Томск)*  
В.И. Киселев, *член-корреспондент РАН (Барнаул)*  
Н.А. Корнетов, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
С.В. Логвинов, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
А.Д. Макацария, *член-корреспондент РАН (Москва)*  
Л.С. Намазова-Баранова, *академик РАН (Москва)*  
С.А. Некрылов, *профессор, д-р ист. наук (Томск)*  
В.П. Пузырев, *академик РАН (Томск)*  
В.И. Стародубов, *академик РАН (Москва)*  
Е.А. Степоява, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
А.Т. Тепляков, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
В.А. Ткачук, *академик РАН (Москва)*  
В.А. Труфакин, *академик РАН (Новосибирск)*  
О.С. Федорова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
И.А. Хлусов, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*  
Е.Л. Чойнзонов, *академик РАН (Томск)*  
А.Г. Чучалин, *академик РАН (Москва)*  
А.В. Шабров, *академик РАН (Санкт-Петербург)*  
В.А. Шкурупий, *академик РАН (Новосибирск)*  
М.С. Юсубов, *профессор, д-р хим. наук (Томск)*  
A. Antsaklis, *профессор (Греция)*  
F. Chervenak, *профессор (США)*  
C. Dadak, *профессор (Австрия)*  
Y. Dekhtyar, *профессор (Латвия)*  
M. Eppele, *профессор (Германия)*  
D. Gailani, *профессор (США)*  
P. Odermatt, *(Швейцария)*  
J. Odland, *(Норвегия)*  
M. Poyurovsky, *профессор (Израиль)*  
V. Zhdankin, *профессор (США)*

# BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

Peer-reviewed scientific-practical journal  
Issued quarterly

**Volume 20, No. 2, 2021**

ISSN 1682-0363 (print)  
ISSN 1819-3684 (online)

## FOUNDER AND PUBLISHER:

Siberian State Medical University, the Ministry  
for Healthcare of the Russian Federation

Registered by the Ministry of the Russian Federation for  
Affairs of the Press, Television and Radio Broadcasting and  
Mass Communication Media

Certificate of registration PI No. 77-7366  
dated to 26.03.2001

Bulletin of Siberian Medicine is included:  
in the List of peer-reviewed scientific journals  
and publications issued in the Russian Federation,  
which should publish main scientific results  
of doctor's and candidate's theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed:

Scopus  
Web of Science (WoS (ESCI))  
Science Index  
RSCI

Ulrich's International Periodicals Directory  
Cyberleninka  
DOAS

Editorial Board Office:

107, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation  
Telephone: +7-(382-2)-51-41-53.  
<http://bulletin.tomsk.ru>  
E-mail: [bulletin@bulletin.tomsk.ru](mailto:bulletin@bulletin.tomsk.ru)

Publisher: the Siberian State Medical University.  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050,  
Russian Federation.

Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid  
Translate: M.E. Orlova, D. Palazza  
Electronic makeup, cover design  
L.D. Krivtsova

Printed in Litburo LLC,  
4, Korolev Str., Tomsk, 634055, Russian Federation

Signed to print 28.06.2021  
Format 60 × 84/8. Offset print.  
Coated paper. Times font.  
P.l. 30,75. C.p.l. 30.  
500 copies. Odder no 304.

The price – free.  
Date of publication 30.06.2021.

Pass-through copyright.  
Advertising providers are liable for the truthfulness  
of information in advertising materials.

## EDITOR-IN-CHIEF

O.I. Urazova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*

## DEPUTY-EDITORS-IN-CHIEF:

L.M. Ogorodova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*

## SCIENCE EDITOR

V.V. Kalyuzhin, *Professor (Tomsk)*

## EDITORIAL BOARD:

V.M. Alifirova, *Professor (Tomsk)*  
L.I. Aftanas, *Academician of RAS (Novosibirsk)*  
A.A. Baranov, *Academician of RAS (Moscow)*  
A.I. Vengerovsky, *Professor (Tomsk)*  
Ye.G. Grigoriyev, *Corresponding Member of RAS (Irkutsk)*  
A.M. Dygai, *Academician of RAS (Tomsk)*  
M.V. Zav'yalova, *Professor (Tomsk)*  
L.V. Kapilevich, *Professor (Tomsk)*  
S.I. Karas, *Professor (Tomsk)*  
R.S. Karpov, *Academician of RAS (Tomsk)*  
V.I. Kiselyov, *Corresponding Member of RAS (Barnaul)*  
A.N. Kornetov, *Professor (Tomsk)*  
S.V. Logvinov, *Professor (Tomsk)*  
A.D. Makatsaria, *Corresponding Member of RAS (Moscow)*  
L.S. Namazova-Baranova, *Academician of RAS (Moscow)*  
S.A. Nekrylov, *Professor (Tomsk)*  
V.P. Puzyryov, *Academician of RAS (Tomsk)*  
V.I. Starodubov, *Academician of RAS (Moscow)*  
Ye.A. Stepovaya, *Professor (Tomsk)*  
A.T. Teplyakov, *Professor (Tomsk)*  
V.A. Tkachuk, *Academician of RAS (Moscow)*  
V.A. Trufakin, *Academician of RAS (Novosibirsk)*  
O.S. Fedorova, *Professor (Tomsk)*  
I.A. Khlusov, *Professor (Tomsk)*  
Ye.L. Choinzonov, *Academician of RAS (Tomsk)*  
A.G. Chuchalin, *Academician of RAS (Moscow)*  
A.V. Shabrov, *Academician of RAS (St.-Petersburg)*  
V.A. Shkurupiy, *Academician of RAS (Novosibirsk)*  
M.S. Yusubov, *Professor (Tomsk)*  
A. Antsaklis, *Professor (Greece)*  
F. Chervenak, *Professor (USA)*  
C. Dadak, *Professor (Austria)*  
Y. Dekhtyar, *Professor (Latvia)*  
M. Epple, *Professor (Germany)*  
D. Gailani, *Professor (USA)*  
P. Odermatt (Switzerland)  
J. Odland (Norway)  
M. Poyurovsky, *Professor (Israel)*  
V. Zhdankin, *Professor (USA)*

| ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ                                                                                                                                                                                                                                                         | ORIGINAL ARTICLES                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Антосюк О.Н., Болотник Е.В., Постовалова А.С.<br>Протекторный эффект экстракта <i>Prunella grandiflora</i> L. относительно токсического воздействия этопозида на примере <i>Drosophila melanogaster</i>                                                                     | Antosyuk O.N., Bolotnik E.V., Postovalova A.S.<br>Protective effect of the <i>Prunella grandiflora</i> L. extract in relation to the toxic effect of etoposide through the example of <i>Drosophila melanogaster</i>                                                                      |
| Бойков В.А., Барановская С.В., Деев И.А., Тарануха Е.В., Шибалков И.П., Бабешина М.А.<br>Медицинский центр удаленного мониторинга пациентов с COVID-19: опыт организации и оценка эффективности                                                                             | Boykov V.A., Baranovskaya S.V., Deev I.A., Taranukha E.V., Shibalkov I.P., Babeshina M.A.<br>Medical Center for Remote Monitoring of COVID-19 patients: organization experience and efficiency assessment                                                                                 |
| Виноградова Е.В., Микашинович З.И., Белоусова Е.С.<br>Новые возможности диагностики статиновой миопатии в эксперименте                                                                                                                                                      | Vinogradova E.V., Mikashinovich Z.I., Belousova E.S.<br>New experimental possibilities for statin myopathy diagnosing                                                                                                                                                                     |
| Жариков А.Ю., Филинова С.О., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Брюханов В.М.<br>Роль свободнорадикального окисления в почках в нефропротекторном действии блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона при экспериментальном сахарном диабете                 | Zharikov A.Yu., Filinova S.O., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Bryukhanov V.M.<br>The role of free radical oxidation in the kidneys in the nephroprotective action of eplerenone, a mineralocorticoid receptor antagonist, in experimental diabetes mellitus                      |
| Жигальская Т.А., Дзюман А.Н., Крылова А.А., Кривошеина О.И., Хлусов И.А.<br>Закономерности регенерации конъюнктивы и склеры после интраоперационной аппликации раствора циклоспорина А у кроликов со стероидной моделью глаукомы                                            | Zhigalskiaya T.A., Dzyman A.N., Krylova A.A., Krivosheina O.I., Khlusov I.A.<br>Patterns of conjunctival and scleral regeneration after intraoperative application of cyclosporin A solution in rabbits with steroid-induced glaucoma                                                     |
| Кайгородова Е.В., Очиров М.О., Молчанов С.В., Рогачев Р.Р., Дьяков Д.Д., Чернышова А.Л., Шпилёва О.В., Ковалев О.В., Вторушин С.В.<br>Различные популяции EpCam-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза      | Kaigorodova E.V., Ochirov M.O., Molchanov S.V., Rogachev R.R., Dyakov D.A., Chernyshova A.L., Shpileva O.V., Kovalev O.I., Vtorushin S.V.<br>Dissimilar populations of EpCam-positive cells in ascitic fluid of ovarian cancer patients: a relationship with the degree of carcinomatosis |
| Кожевников А.Н., Поздеева Н.А., Никитин М.С., Маричева О.Н., Мурашко Т.В., Орлова Н.Ю., Богданова С.Л., Новик Г.А.<br>Оценка эффективности локальной стероидной терапии у детей с олигоартикулярным вариантом ювенильного артрита: результаты ретроспективного исследования | Kozhevnikov A.N., Pozdeeva N.A., Nikitin M.S., Maricheva O.N., Murashko T.V., Orlova N.Yu., Bogdanova S.L., Novik G.A.<br>Retrospective analysis of the effectiveness of local corticosteroid therapy in children with oligoarticular juvenile idiopathic arthritis                       |
| Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н.<br>Возможности выявления и коррекции сниженной вариабельности ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с депрессиями в условиях кардиологического отделения                                                     | Nonka T.G., Lebedeva E.V., Repin A.N.<br>Possibilities of detecting and correcting decreased heart rate variability in patients with coronary artery disease in combination with depressive disorders in a cardiology department                                                          |
| Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Афанасьева Е.Ю., Шелудько Е.Г., Горчакова Я.Г., Чжоу С., Ли Ц., Перельман Ю.М.<br>Обострение астмы и нейтрофильный сегмент воспаления бронхов у пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей                                    | Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Afanaseva E.Yu., Sheludko E.G., Gorchakova Ya.G., Zhou X., Li Q., Perelman Yu.M.<br>Exacerbation of asthma and neutrophil-dominated airway inflammation in patients with cold-induced airway hyperresponsiveness                                            |

Рощина О.В., Розин А.И., Счастный Е.Д., Бохан Н.А.  
Клиническая характеристика и эффективность анти-  
депрессивной терапии аффективных расстройств при  
коморбидности с алкогольной зависимостью

79

Сиденко Е.А., Какурина Г.В., Черемисина О.В.,  
Спирина Л.В., Шашова Е.Е., Коршунов Д.А.,  
Кондакова И.В.

Экспрессия мРНК кальпаинов и их активность в зло-  
качественном и диспластически измененном эпителии  
верхних дыхательных путей

88

Теймуразов М.Г., Петрова Н.В., Карелина Е.А.,  
Ганина К.К., Тарасов С.А., Эпштейн О.И.

Доклиническое изучение эффективности нового имму-  
нотропного препарата при лечении сальмонеллезной  
инфекции

95

Тепляков А.Т., Яковлев А.В., Шилов С.Н., Яковлева Н.Ф.,  
Березикова Е.Н., Гракова Е.В., Копьева К.В., Маянская С.Д.

Предикторы неблагоприятного течения сердечной  
недостаточности с сохраненной фракцией выброса  
левого желудочка у больных с синдромом обструктив-  
ного апноэ во сне

102

Трубачева О.А., Суслова Т.Е., Гусакова А.М.,  
Кологривова И.В., Шнайдер О.Л., Завадовский К.В.,  
Петрова И.В.

Высокая остаточная агрегационная активность тром-  
боцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца:  
новый методический подход к выявлению

113

Чанчикова Н.Г., Чернов В.И., Дудникова Е.А., Карлова Е.А.,  
Савельева А.С., Силкина О.А., Зельчан Р.В., Брагина О.Д.,  
Медведева А.А., Березнеева Е.В.

Роль позитронной эмиссионной и компьютерной томо-  
графии с  $^{18}\text{F}$ -флуоро-2-дезоксид-глюкозой в оценке  
эффективности терапии и прогнозе лимфом

120

## ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

Бикбавова Г.Р., Ливзан М.А., Лозинская М.Ю.

Факторы патогенеза язвенного колита:  
мейнстрим-2020

130

Зенкина В.Г., Солодкова О.А., Божко Г.Г., Агibalова А.А.,  
Зенкин И.С.

Молекулярные механизмы оогенеза

139

Куртуков Е.А., Рагино Ю.И.

Потенциальные биохимические маркеры хронического  
бронхита

148

Михалев Д.Е., Байдик О.Д., Кондакова И.В., Сиденко Е.А.,  
Мухамедов М.Р., Сысолятин П.Г.

Роль убиквитин-протеасомной системы в развитии  
плоскоклеточного рака полости рта

160

Roshchina O.V., Rozin A.I., Schastnyy E.D., Bokhan N.A.  
Clinical characteristics and efficiency of  
antidepressant therapy of mood disorders with  
comorbid alcohol use disorder

Sidenko E.A., Kakurina G.V., Cheremisina O.V.,  
Spirina L.V., Shashova E.E., Korshunov D.A.,  
Kondakova I.V.

The mRNA expression levels of calpains and their  
activity in malignant and dysplastic epithelium of  
the upper respiratory tract

Teymurazov M.G., Petrova N.V., Karelina E.A.,  
Ganina K.K., Tarasov S.A., Epstein O.I.

Nonclinical study of the new immunotropic drug  
effectiveness in salmonella infection treatment

Tepliyakov A.T., Yakovlev A.V., Shilov S.N.,  
Yakovleva N.F., Berезикова E.N., Grakova E.V.,  
Kopeva K.V., Mayanskaya S.D.

Predictors of an adverse course of heart failure  
with preserved left ventricular ejection fraction in  
patients with obstructive sleep apnea syndrome

Trubacheva O.A., Suslova T.E., Gusakova A.M.,  
Kologrivova I.V., Schneider O.L., Zavadovsky K.V.,  
Petrova I.V.

High residual platelet aggregation in patients with  
coronary artery disease: a new methodological  
approach to detection

Chanchikova N.G., Chernov V.I., Dudnikova E.A.,  
Karlova E.A., Savelyeva A.S., Silkina O.A., Zelchan R.V.,  
Bragina O.D., Medvedeva A.A., Berезneeва E.V.

The role of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT in evaluation of  
therapy effectiveness and prognosis of lymphomas

## REVIEWS AND LECTURES

Bicbavova G.R., Livzan M.A., Lozinskaya M.Yu.

Pathogenetic factors of ulcerative colitis:  
mainstream for 2020

Zenkina V.G., Solodkova O.A., Bozhko G.G.,  
Agibalova A.A., Zenkin I.S.

Molecular mechanisms of oogenesis

Kurtukov E.A., Ragino Yu.I.

Potential biochemical markers of chronic bronchitis

Mikhalev D.E., Baydik O.D., Kondakova I.V.,  
Sidenko E.A., Mukhamedov M.R., Sysolyatin P.G.

Role of the ubiquitin-proteasome system in the  
progression of oral squamous cell carcinoma

Михалева Л.М., Мидибер К.Ю., Печникова В.В.,  
Васюкова О.А., Гуцин М.Ю.

Патоморфологические и молекулярно-генетические  
особенности диффузного типа рака желудка

Соловьева И.А., Демко И.В., Собко Е.А., Крапошина А.Ю.,  
Гордеева Н.В., Аникин Д.А., Аникина Д.А.

Особенности апоптоза и блеббинга цитоплазматиче-  
ской мембраны лимфоцитов при бронхиальной астме

Стахнёва Е.М., Рагино Ю.И.

Современные методы исследования атеросклероза и  
ишемической болезни сердца: проточная цитометрия

Уразова К.А., Горлачев Г.Е., Чернышев А.П., Голанов А.В.

Диффузионные данные магнитно-резонансной то-  
мографии: разработка методологии и инструментов  
использования в диагностике и лечении заболеваний  
головного мозга

Шабров А.В., Галенко А.С., Успенский Ю.П., Лосева К.А.

Методы диагностики эндотелиальной дисфункции

Шведов А.Н., Ивченко А.О., Федорова Е.П., Ивченко О.А.

Проблема гипердиагностики синдрома экстравазаль-  
ной компрессии позвоночных артерий

Юшков Б.Г.

Тромбоциты и регенерация

#### СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Захарьян Е.А., Григорьев П.Е., Шатов Д.В.

Тромбоз легочной артерии в сочетании с  
острым инфарктом миокарда: клинический случай

Кит О.И., Трифанов В.С., Тимошкина Н.Н.,

Колесников Е.Н., Гвалдин Д.Ю., Карнаухов Н.С.,

Кутилин Д.С., Межерякова М.Ю.

Редкий случай метастатической нейроэндокринной  
опухоли поджелудочной железы

Кузнецова П.И., Танащян М.М., Меликян А.Л.,

Суборцева И.Н., Раскуражев А.А.

Цефалгический синдром на фоне системного мастоци-  
тоза. Клинический случай

#### ЮБИЛЕЙ

К юбилею академика РАН Леонида Семеновича  
Барбараша

Mikhaleva L.M., Midiber K.Yu., Pechnikova V.V.,  
Vasyukova O.A., Gushchin M.Yu.

Pathomorphological and molecular genetic features  
of diffuse gastric cancer

Solovieva I.A., Demko I.V., Sobko E.A., Kraposhina A.Yu.,  
Gordeeva N.V., Anikin D.A., Anikina D.A.

Features of apoptosis and blebbing of the  
lymphocyte plasma membrane in bronchial asthma

Stakhneva E.M., Ragino Yu.I.

Modern methods for studying atherosclerosis and  
coronary artery disease: flow cytometry

Urazova K.A., Gorlachev G.E., Chernyaev A.P.,  
Golanov A.V.

Diffusion magnetic resonance imaging data:  
development of methods and tools for diagnosis and  
treatment of brain diseases

Shabrov A.V., Galenko A.S., Uspensky Yu.P., Loseva K.A.

Methods for diagnosing endothelial dysfunction

Shvedov A.N., Ivchenko A.O., Fedorova E.P.,  
Ivchenko O.A.

The problem of overdiagnosis of vertebral artery  
compression syndrome

Yushkov B.G.

Platelets and regeneration

#### CLINICAL CASES

Zakharyan E.A., Grigoriev P.E., Shatov D.V.

Pulmonary embolism with comorbid acute  
myocardial infarction: a clinical case

Kit O.I., Trifanov V.S., Timoshkina N.N.,

Kolesnikov E.N., Gvaldin D.Y., Karnaukhov N.S.,

Kutulin D.S., Meshcheryakova M.Y.

A rare case of a metastatic neuroendocrine tumor of  
the pancreas

Kuznetsova P.I., Tanashyan M.M., Melikyan F.I.,

Subortseva I.N., Raskurazhev A.A.

Cephalalgia against the background of systemic  
mastocytosis: a clinical case

#### JUBILEE

The jubilee of Academician Leonid Barbarash

УДК 615.451.16:582.929]-085:615.9

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-6-11>

## Протекторный эффект экстракта *Prunella grandiflora* L. относительно токсического воздействия этопозиды на примере *Drosophila melanogaster*

Антосюк О.Н.<sup>1</sup>, Болотник Е.В.<sup>2</sup>, Постовалова А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Уральский федеральный университет (УрФУ) им. первого Президента России Б.Н. Ельцина  
Россия, 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

<sup>2</sup> Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук (УрО РАН)  
Россия, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Выявление протекторных свойств экстракта *Prunella grandiflora* L. (черноголовка крупноцветковая) при совместном его использовании с противораковым препаратом «Этопозид» на экспериментальной линии животных *Drosophila melanogaster*.

**Материалы и методы.** В работе использовали 10%-й экстракт травы черноголовки, препарат «Этопозид» 20 мг/мл в растворе для инъекций (ОАО «Верофарм», Россия) в концентрации 800 мкг/кг питательной среды. Генотоксический эффект определяли с использованием метода SMART (Somatic Mutation And Recombination Test).

**Результаты.** При совместном применении этопозиды и 10%-го экстракта *P. grandiflora* показано снижение летальности у особей *D. melanogaster* до 15% и увеличение средней индивидуальной плодовитости в 2 раза в сравнении с использованием данного цитостатика без экстракта.

**Заключение.** Установлено наличие антигенотоксического эффекта, который проявляется в отсутствии хромосомных aberrаций, что позволяет рассмотреть возможность использования экстракта *P. grandiflora* в качестве компонента в диете пациентов, проходящих определенное терапевтическое лечение.

**Ключевые слова:** лекарственные растения, антигенотоксический эффект, *Drosophila melanogaster*, протекторные свойства, этопозид, SMART.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Российской Федерации (постановление № 211, контракт № 02.A03.21.0006).

**Для цитирования:** Антосюк О.Н., Болотник Е.В., Постовалова А.С. Протекторный эффект экстракта *Prunella grandiflora* L. относительно токсического воздействия этопозиды на примере *Drosophila melanogaster*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 6–11. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-6-11>.

# Protective effect of the *Prunella grandiflora* L. extract in relation to the toxic effect of etoposide through the example of *Drosophila melanogaster*

Antosyuk O.N.<sup>1</sup>, Bolotnik E.V.<sup>2</sup>, Postovalova A.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ural Federal University (UrFU) named after the first President of Russia B.N. Yeltsin  
19, Mira Str., Yekaterinburg, 620002, Russian Federation

<sup>2</sup> Botanical Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences  
202a, 8 March Str., Yekaterinburg, 620144, Russian Federation

## ABSTRACT

The data on the protective properties of the *Prunella grandiflora* L. extract were obtained when used together with the anticancer drug etoposide on the experimental strain of *Drosophila melanogaster*. The combined use of etoposide and 10% extract of *P. grandiflora* decreased mortality in *D. melanogaster* individuals to 15% and doubled the average individual fertility compared to the use of this cytostatic drug without the extract. Using the SMART method, the presence of the antigenotoxic effect was identified, which manifests itself through the absence of chromosomal aberrations.

**Key words:** medicinal plants, antigenotoxic effect, *Drosophila melanogaster*, protective properties, etoposide, SMART.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** This work was supported by the Government of the Russian Federation (Decree No. 211, contract No. 02.A03.21.0006).

**For citation:** Antosyuk O.N., Bolotnik E.V., Postovalova A.S. Protective effect of the *Prunella grandiflora* L. extract in relation to the toxic effect of etoposide through the example of *Drosophila melanogaster*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 6–11. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-6-11>.

## ВВЕДЕНИЕ

В связи с высокой распространенностью онкологических заболеваний в человеческой популяции поиск лекарственных препаратов, протекторов и адаптогенов является крайне важным направлением исследований. Используемые в химиотерапии цитостатики характеризуются наличием как основного (противоопухолевого) эффекта, так и множеством побочных, в частности общим токсическим и генотоксическим. Для снижения побочного действия исследуются различные протекторы, большую часть из которых составляют экстракты лекарственных растений, обладающих комплексом разнообразных компонентов [1].

При использовании экстракта лекарственных растений в качестве протектора важно установить, не обладает ли он сам по себе каким-либо токсическим и генотоксическим эффектом. В связи с этим необходимо проанализировать экстракт как отдельно, так и совместно с цитостатиком. Использование экстрактов лекарственных растений распространено повсе-

местно, особенно много подобного рода исследований проводится в Индии, Китае и других странах, где широко распространена народная медицина [2–4]. Актуальным является поиск протекторов на основе растительного сырья, произрастающего в России.

В этом аспекте значительный интерес представляют растения рода *Prunella* L., произрастающие в Уральском регионе. Род *Prunella* принадлежит семейству Lamiaceae Juss., представители которого обладают высокой биологической активностью и интересны с точки зрения получения ценного лекарственного сырья. *Prunella vulgaris* L. (черноголовка обыкновенная) является официальным лекарственным растением в медицине Китая [5]. Экстракт из надземной части *P. vulgaris* обладает антиоксидантными [6, 7], противовоспалительными, антибактериальными, антифунгальными [8, 9] и противоопухолевыми свойствами [10].

В подтверждение этих данных в 2019 г. появилась статья о том, что экстракт корня *P. vulgaris* ингибирует *in vitro* и *in vivo* канцерогенез в клетках карциномы молочной железы человека [11]. В России

до сих пор *P. vulgaris* не является фармакопейным видом, однако в последние годы упоминается в литературе как растение – продуцент важнейших классов биологически активных веществ (БАВ) [12–14] и исследуется как компонент в фармацевтических препаратах [15]. Лекарственные свойства *Prunella grandiflora* (L.) Scholler (черноголовки крупноцветковой) мало изучены, ее экстракт проявляет антифунгальные, антибактериальные свойства и обладает биологической активностью при гипоксии [16, 17]. По нашим предположениям, экстракт *P. grandiflora* может проявить протекторные свойства к лекарственным противоопухолевым препаратам, так как по содержанию основных групп БАВ были выявлены некоторые особенности.

В частности, установлено, что в *P. grandiflora* среди фенолкарбоновых кислот доминирует розмариновая кислота (70–89%). Выявлено, что вне зависимости от года сбора растения содержание розмариновой кислоты выше у *P. grandiflora*, чем у *P. vulgaris* [12, 18]. Розмариновая кислота обладает противоопухолевой, антипролиферативной [19] и антициклооксигеназной активностью [20], может защищать от онкологических заболеваний, лучевой болезни [21]. Учитывая вышеизложенное, целью нашего исследования было выявление протекторных свойств *P. grandiflora* по отношению к токсическому и генотоксическому воздействию этопозиды.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Траву *P. grandiflora* собрали в фазу цветения в Красноуфимском районе Свердловской области к северу от дер. Марийский Усть-Маш, гора Мокрая (N 56°09'22.0'', E 058°32'19.6'') в 2018 г. Сушку растений осуществляли в хорошо проветриваемых помещениях. Высушенное сырье измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 1 мм. Навеску травы черноголовки крупноцветковой в количестве 0,8 г экстрагировали в 10 мл 70%-го спирта в течение 24 ч. Далее 2,4 мл 10%-го экстракта добавляли в питательную среду массой 17,6 мл. Этиловый спирт (70%-й) добавляли к питательной среде в пропорции 10 : 90 соответственно, или 2,4 мл на 17,6 мл питательной среды.

В работе использовали препарат «Этопозид» 20 мг/мл в растворе для инъекций (Веро-фарм Эбеве, Россия) в концентрации 800 мкг/кг питательной среды. Выбранная нами концентрация цитостатика демонстрирует выраженный генотоксический эффект [22]. Для оценки жизнеспособности и общей летальности использовали лабораторную линию Oregon R. Для скрещивания были отобраны особи, выращенные в стандартных лабораторных условиях

при температуре 24 °C, при умеренной влажности и освещенности, на питательной среде Альдерстона (250 мл дистиллированной воды, 25 г глюкозы, 25 г дрожжей, 2 г агар). Для исследования использовали особей *D. melanogaster* не позднее 6-го ч вылета из пупария (виргинные самки). Для учета плодовитости 25 индивидуальных пар помещали в 25 пробирок с полый крышкой, заполненной агаровой средой и смазанной дрожжами.

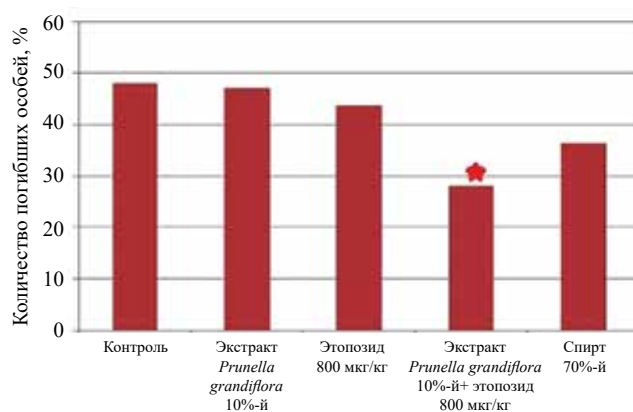
Ежедневно с поверхности крышек производили сбор отложенных яиц ( $F_1$ ) при помощи препаровальной иглы и помещали на чашки Петри с агаровым слоем для дальнейшего развития. От общего количества отложенных яиц за день высчитывали долю (%) неразвившихся на раннем этапе (менее 6 ч, белый цвет), на позднем этапе развития (более 6 ч, бурый цвет). Для определения процента смертности личинок родительского поколения *D. melanogaster*, их выращивали на питательных средах с экстрактом, этопозидом или совместно экстрактом и этопозидом в количестве по 300 особей. Общую летальность определяли по количеству особей, погибших на стадии личинки и на стадии куколки. На стадии личинки определяли разницу между количеством посаженных на питательную среду особей и количеством пупариев, которая свидетельствует о гибели неокуклившихся личинок. Летальность на стадии куколки определяли по наличию в выборке заполненных пупариев, что свидетельствует о гибели особей внутри пупария.

Генотоксический эффект определяли с использованием метода SMART (Somatic Mutation And Recombination Test). Для этого самок из мутантной линии yellow (желтый окрас тела, ген yellow локализован на X-хромосоме) скрещивали с самцами из мутантной линии white singed 3 (белые глаза и опаленные щетинки на теле, гены также локализованы на X-хромосоме), поместив их на тестируемую среду на 72 ч. После 72 ч родительское поколение мух удаляли, а из отложенных ими яиц развивалось гибридное потомство ( $F_1$ ). Для анализа использовали гибридных самок дикого фенотипа (коричнево-серое тело, прямые щетинки, красные глаза), так как самцы обладали фенотипом yellow, унаследованным от материнских особей согласно явлению «крисс-кросс». У самок производили осмотр щетинок на теле и отмечали количество нетипичных для нормального фенотипа щетинок по цвету и форме, а именно желтые и (или) опаленные. Область, содержащую подобную щетинку, регистрировали в таблице как одиночное пятно у (yellow) или sn (singed) либо двойное у sn. Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft Inc., Statistica, v. 8.0, Serial Number: JPZ803I371720ARCN-6. При сравнении и анализе

выборок использовали критерий Манна – Уитни и критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения общего токсического эффекта использовали два показателя: определение общей летальности особей *D. melanogaster* и их среднюю индивидуальную плодовитость. Оценку показателей выживаемости и смертности проводили в трех группах особей *D. melanogaster*, получавших экстракт и этопозид по отдельности или совместно в течение всего периода развития. По истечению 10 сут выживаемость особей *D. melanogaster* в группе, выращенной на питательной среде, содержащей 10%-й экстракт *Prunella grandiflora* и этопозид, составила 72% (рис. 1).

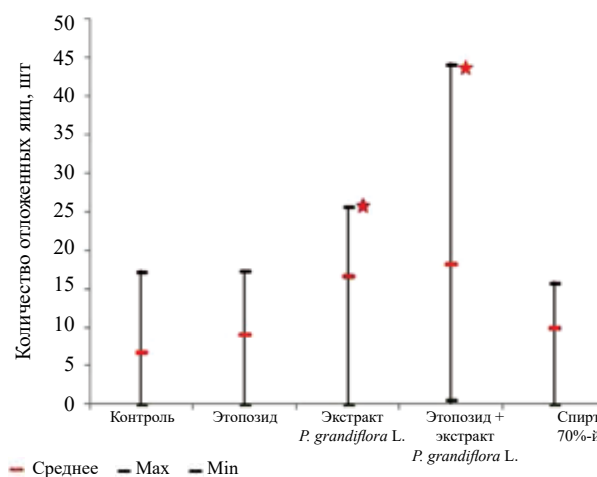


Экспериментальные группы особей *Drosophila melanogaster*

Рис. 1. Общая летальность особей линии Oregon R *Drosophila melanogaster*, выращенных на питательной среде с добавлением различных компонентов: \* значения, достоверно отличающиеся от соответствующих показателей в контрольной группе при  $p < 0,001$  (критерий  $\chi^2$ )

Из рис. 1 видно, что совместное применение этопозид и экстракта снижает летальность на 20% по отношению к контрольной группе и на 15% к группе с использованием данного цитостатика без экстракта. При добавлении одного экстракта *P. grandiflora* к питательной среде не обнаружено снижения смертности по отношению к контролю. При воздействии 70%-м спиртом летальность составила 36,33%. Таким образом, данная концентрация спирта не обладает выраженным общим токсическим эффектом и пригодна в качестве основы экстракта. Соответственно, анализ общей летальности особей, выращенных на питательной среде, содержащей 10%-й экстракт *Prunella grandiflora* L. и этопозид, показал наличие положительного эффекта в отношении их выживаемости.

Оценивали параметры жизнеспособности линии Oregon R: среднюю индивидуальную плодовитость (СИП), частоту ранних и поздних летелей потомства на эмбриональной стадии (до 6-го ч развития – РЭЛ, после – ПЭЛ). На рис. 2 продемонстрировано улучшение по показателям плодовитости при совместном применении этопозид и экстракта и при использовании экстракта самого по себе.



Экспериментальные группы особей *Drosophila melanogaster*

Рис. 2. Средняя индивидуальная плодовитость особей линии Oregon R *Drosophila melanogaster*, выращенных на питательной среде с добавлением различных тестируемых веществ: \* значения, достоверно отличающиеся от соответствующих показателей в контрольной группе при  $p < 0,05$  (критерий Манна – Уитни)

Зарегистрировано снижение общего токсического эффекта при воздействии экстракта, что показано в изменении показателя СИП: при воздействии этопозидом СИП составляет 9,03; а при совместном воздействии цитостатика и экстракта – до 18,27. Кроме того, сравнительная характеристика СИП у изучаемых мух показала, что максимальное количество отложенных яиц зарегистрировано при применении экстракта с этопозидом. Соответственно, экстракт нивелирует токсическое действие в отношении фертильного потенциала. Однако, несмотря на столь выраженный эффект, он не распространяется на показатель летальности потомства на эмбриональной стадии. Возможно, это связано с кратковременностью положительного воздействия экстракта для изменения показателя летальности  $F_1$ .

Надо отметить, что результаты СИП, полученные при использовании 70%-го спирта, который является основой экстракта, сравнимы с показателями при применении этопозид.

Также был проведен анализ генотоксического эффекта этопозид с использованием линий

SMART. Выявлен рост частоты мутаций и рекомбинаций с увеличением концентрации в питательной среде (таблица). Из данных таблицы видно, что сам по себе экстракт не изменяет частоту мутаций и

рекомбинаций, т.е. не демонстрирует генотоксических свойств, тогда как этопозид обладает явным генотоксическим эффектом, что соответствует другим исследованиям [23].

Таблица

Учет соматического мозаицизма на *Drosophila melanogaster* при использовании маркеров yellow (y) и singed (sn)

| Тестируемая группа                                             | Выборка | Число особей с мутантными пятнами |    |      |                           |                 | $\chi^2$ | p      |
|----------------------------------------------------------------|---------|-----------------------------------|----|------|---------------------------|-----------------|----------|--------|
|                                                                |         | y                                 | sn | y sn | другие мутантные фенотипы | доля выборки, % |          |        |
| Контроль                                                       | 573     | 1                                 | 2  | 0    | 0                         | 0,52            | –        | –      |
| Этопозид, 400 мкг/кг                                           | 499     | 0                                 | 11 | 0    | 0                         | 2,2             | 4,615    | 0,032  |
| Этопозид, 800 мкг/кг                                           | 196     | 0                                 | 0  | 0    | 9                         | 4,59            | 13,199   | <0,001 |
| Экстракт <i>P. grandiflora</i> , 10%-й                         | 176     | 0                                 | 2  | 0    | 0                         | 1,14            | 0,118    | 0,731  |
| Спирт, 70%-й                                                   | 227     | 0                                 | 7  | 0    | 0                         | 3,08            | 6,68     | 0,010  |
| Экстракт <i>P. grandiflora</i> , 10%-й, + этопозид, 800 мкг/кг | 230     | 1                                 | 5  | 1    | 0                         | 3,04            | 6,55     | <0,011 |

Генотоксичность 70%-го спирта проявляется в виде одиночных пятен singed, в связи с чем допускаем, что его действие специфично повреждает хромосому в прицентромерочном районе. Отсутствие самок с пятнами yellow позволяет предположить, что активному воздействию спирта удаленный участок хромосомы не подвергался. При этом значение  $\chi^2$  в опытной группе «этопозид 400 мкг/кг» по сравнению с контролем близко к критическому.

Кроме того, при использовании этопозидов в концентрации 800 мкг/кг питательной среды зарегистрировали большое количество нехарактерных мутантных рецессивных фенотипов, проявляющихся благодаря явлению псевдоминирования, что косвенно свидетельствует о воздействии данного цитостатика на частоту хромосомных aberrаций. По данным A.N. Sortibran с соавт., увеличение хромосомных перестроек действительно имеет место быть [24].

Однако при совместном использовании экстракта и этопозидов мы не обнаружили изменение генотоксических свойств этопозидов в отношении частоты появления пятен, но зарегистрировали антигенотоксический эффект в отношении частоты хромосомных aberrаций. Соответственно, можно утверждать об избирательности проявления экстракта на генотоксические свойства этопозидов. Так как экстракты других лекарственных растений использовались как в больших, так и в малых концентрациях для проявления антигенотоксических свойств [25], то представляется целесообразным проверить данную гипотезу и в отношении используемого нами экстракта *P. grandiflora*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружен положительный эффект 10%-го экстракта *P. grandiflora* в отношении антигенотоксичности, общей летальности и показателей жизнеспособности особей линии Oregon R *D. melanogaster*, подвергшихся воздействию этопозидов и экстракта. Это делает целесообразным дальнейшее тестирование данного экстракта. Полученные данные позволяют рассмотреть возможность использования экстракта *P. grandiflora* в качестве компонента в диете пациентов, проходящих определенное терапевтическое лечение.

## ЛИТЕРАТУРА

- Burkhart J., Walchli C., Heusser P., Weissenstein U., Baumgartner S., Andres A. *In vitro* investigation into the potential of a mistletoe extract to alleviate adverse effects of cyclophosphamide. *Altern. Ther. Health Med.* 2010; 16 (3): 40–48.
- Liang C., Pan H., Li H., Zhao Y., Feng Y. *In vitro* anticancer activity and cytotoxic screening of phytochemical extracts from selected traditional Chinese medical plants. *J. Buon.* 2017; 22 (2): 543–551.
- Siew Y.Y., Yew H.C., Neo S.Y., Seow S.V., Lew S.M. Evaluation of anti-proliferative activity of medicinal plants used in Asian traditional medicine to treat cancer. *J. Ethnopharmacol.* 2019; 235: 75–87. DOI: 10.1016/j.jep.2018.12.040.
- Daddan J.R., Sreenivasulu B., Umanahesh K., Peddanna K., Rao D.M. *In silico* studies on anti-stress compounds of ethanolic root extract of *Hemidesmus indicus* L. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2020; 21 (6): 502–515. DOI: 10.2174/13892010021666191211152754.
- Chen Y.H., Guo Q.S., Wang C.Y. Textual research on change of medicinal parts and herbal medicine of *Prunella vulgaris*. *J. Chin. Mater. Med.* 2010; 35 (2): 242–246. DOI: 10.4268/cjcm20100228.

6. Feng L., Jia X., Zhu M.-M., Chen Y., Shi F. Antioxidant activities of total phenols of *Prunella vulgaris* L. *in vitro* and in tumor – bearing mice. *Molecules*. 2010; 15 (12): 9145–956. DOI: 10.3390/molecules15129145.
7. Mrudula G., Mallikarjuna Rao P., Jayaveera K.N., Arshad M.D., Rehmann S.A. Antistress and antioxidant effects of *Prunella vulgaris* leaves. *Pharmacologyonline*. 2010; 2: 952–962.
8. Дмитрук С.И. Противовоспалительные свойства, антибактериальная и антифунгальная активности экстракта из надземной части *Prunella vulgaris* L. *Растительные ресурсы*. 2001; 35 (4): 92–97.
9. Дмитрук С.И., Дмитрук В.С. Технологические факторы и фармакологические свойства экстракта *Prunella vulgaris* L. *Бюллетень СО РАМН*. 2001; 21 (3): 36–39.
10. Feng L., Jia X., Shi F., Chen Y. Identification of two polysaccharides from *Prunella vulgaris* L. and evaluation on their anti – lung adenocarcinoma activity. *Molecules*. 2010; 15 (8): 93–103. DOI: 10.3390/molecules15085093.
11. Gao W., Liang H., Li Y., Liu Y., Xu Y. Root extract of *Prunella vulgaris* inhibits *in vitro* and *in vivo* carcinogenesis in MCF-5 human breast carcinoma cells via suppression of angiogenesis, induction of apoptosis, cell cycle arrest and modulation of PI3K/AKT signalling pathway. *JBUON*. 2019; 24 (2): 549–554.
12. Плугатарь Ю.В., Шевчук О.М., Логвиненко Л.А. Виды рода *Prunella* – источник ценных биологически активных веществ. *Агарарный вестник Урала*. 2017; 8 (162): 37–45.
13. Шамилов А.А. Растения рода *Prunella*: химический состав, виды фармакологического действия. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2017; 4: 152–160.
14. Володин В.В., Груздев Б.И., Мартыненко В.А., Канев В.А. Растения – продуценты важнейших классов биологически активных веществ. Сыктывкар: Коми респ. типография, 2014: 206.
15. Цуркан А.А., Голембиовская Е.И. Исследование липофильных веществ чернойголовки обыкновенной (*Prunella vulgaris* L.). Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. Пятигорск, 2013; 68: 217–19.
16. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность; ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М.: КМК; 2011: 4: Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae. 236–239.
17. Шамилов А.А., Арлыт А.В., Ивашев М.Н. Активность извлечений из травы чернойголовки крупноцветковой при гипоксической гипоксии. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2013; 5: 132–133.
18. Алексеева Л.И., Болотник Е.В. Розмариновая кислота и антиоксидантная активность *Prunella grandiflora* и *Prunella vulgaris* (Lamiaceae). *Растительный мир Азиатской России*. 2013; 1 (11): 121–125.
19. Makino T., Ono T., Muso E., Yoshida H., Honda G., Sasayama S. Inhibitory effects of rosmarinic acid on the proliferation of cultured murine mesangial cells. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2000; 15 (8): 1140–145. DOI: 10.1093/ndt/15.8.1140.
20. Patrick P., Kalidas S. Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase *in vitro*. *Asia Pacific J. Clin. Nutr*. 2004; 13 (1): 101–106.
21. Lu Y., Foo L.Y. Polyphenolics of *Salvia* – a review. *Phytochem*. 2002; 59 (2): 117–140. DOI: 10.1016/s0031-9422(01)00415-0.
22. Антосюк О.Н., Горская А.В. Оценка генетической активности лекарственных веществ, применяемых в противоопухолевой терапии, на примере *Drosophila melanogaster*. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2020; 12 (1): 50–56. DOI: 10.30906/2073-8099-2020-12-1-50-56.
23. Frei H., Wurgler F.E. Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eucoriotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutagenesis*. 1996; 11 (4): 315–325. DOI: 10.1093/mutage/11.4.315.
24. Sortibrán A.N., Tellez M.G., Rodríguez-Arnaiz R. Genotoxic profile of inhibitors of topoisomerases I (camptothecin) and II (etoposide) in a mitotic recombination and sex-chromosome loss somatic eye assay of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res*. 2006; 604 (1-2): 83–90. DOI: 10.1016/j.mrgtox.2006.01.003.
25. Shahani S., Rostamnezhad M., Ghaffari-rad V., Gasemi A., Pourfallah T.A., Hosseini-mehr S.J. Radioprotective effect of *Achillea millefolium* L. against genotoxicity, induced by ionizing radiation in human normal lymphocytes. *Dose Response*. 2015; 13 (1): 1559325815583761. DOI: 10.1177/1559325815583761.

## Сведения об авторах

**Антосюк Ольга Николаевна**, канд. биол. наук, доцент, кафедра биоразнообразия и биоэкологии, Институт естественных наук и математики, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург. ORCID 0000-0003-3902-298X.

**Болотник Елизавета Витальевна**, канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория интродукции травянистых растений, Ботанический сад УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID 0000-0001-5774-3866.

**Постовалова Алиса Сергеевна**, студентка, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург.

(✉) Антосюк Ольга Николаевна, e-mail: antosuk-olga@mail.ru

Поступила в редакцию 17.02.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Медицинский центр удаленного мониторинга пациентов с COVID-19: опыт организации и оценка эффективности

Бойков В.А.<sup>1</sup>, Барановская С.В.<sup>1</sup>, Деев И.А.<sup>1</sup>, Тарануха Е.В.<sup>2</sup>, Шибалков И.П.<sup>1</sup>,  
Бабешина М.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Больница № 2  
Россия, 634041, г. Томск, ул. Карташова, 38

<sup>3</sup> Поликлиника № 1  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 51

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Обобщение опыта организации и оценка эффективности деятельности Медицинского центра удаленного мониторинга (далее Центр) для пациентов с COVID-19 и внебольничными пневмониями в г. Томске.

**Материалы и методы.** Разработка проекта Центра осуществлялась на основе данных теоретического и эмпирического анализа текущего состояния системы здравоохранения Томской области и эпидемиологической ситуации по COVID-19. Эффективность деятельности подразделения оценивалась по результатам анализа количественных и временных показателей нагрузки на систему оказания скорой медицинской помощи и амбулаторно-поликлиническую службу. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 12.0.

**Результаты.** В г. Томске на базе ОГАУЗ «Станция скорой медицинской помощи» 20.10.2020 организован Центр, алгоритмом работы которого предусмотрена оценка операторами состояния пациента по балльной шкале с использованием стандартизованных речевых модулей для принятия решения о тактике его сопровождения. На фоне работы подразделения в период «второй волны» COVID-19 зарегистрировано статистически значимое снижение уровня показателей нагрузки на систему оказания скорой медицинской помощи (среднее количество обращений в сутки, среднее время ожидания по всем вызовам и вызовам, связанным с COVID-19, и амбулаторно-поликлиническую службу (среднее количество вызовов на дом в сутки, в том числе по поводу острых респираторных заболеваний)).

**Заключение.** Работа Центра по представленной модели ассоциирована со снижением нагрузки на систему здравоохранения в период неблагоприятной эпидемиологической ситуации по COVID-19. Данный опыт может быть распространен на другие регионы России и адаптирован под иные категории граждан.

**Ключевые слова:** телемедицинские технологии, удаленный мониторинг, новая коронавирусная инфекция, COVID-19, бережливые технологии, эффективность, скорая медицинская помощь, амбулаторно-поликлиническая служба.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Бойков В.А., Барановская С.В., Деев И.А., Тарануха Е.В., Шибалков И.П., Бабешина М.А. Медицинский центр удаленного мониторинга пациентов с COVID-19: опыт организации и оценка эффективности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 12–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-12-22>.

## Medical Center for Remote Monitoring of COVID-19 patients: organization experience and efficiency assessment

Boykov V.A.<sup>1</sup>, Baranovskaya S.V.<sup>1</sup>, Deev I.A.<sup>1</sup>, Taranukha E.V.<sup>2</sup>, Shibalkov I.P.<sup>1</sup>, Babeshina M.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Hospital No. 2  
38, Kartashova Str., Tomsk, 634041, Russian Federation

<sup>3</sup> Polyclinic No. 1  
51, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To summarize the experience of organizing and evaluating the efficiency of the Medical Center for Remote Monitoring of patients with COVID-19 and community-acquired pneumonia in Tomsk.

**Materials and methods.** The project of the Medical Center for Remote Monitoring was developed on the basis of data from theoretical and empirical analyses of the current state of the healthcare system in the Tomsk region and the epidemiological situation with regard to COVID-19. The Center efficiency was assessed based on the analysis of quantitative and time indicators of the load on the emergency medical service and outpatient service. Statistical processing of the results was carried out using the Statistica 12.0 software package.

**Results.** On October 20, 2020, in Tomsk, on the premises of the “Emergency medical unit”, a Medical Center for Remote Monitoring was established. It was aimed at providing remote consultations for patients with COVID-19 and community-acquired pneumonia. According to its algorithm, operators of the Center assessed a patient’s condition on a point scale using standardized speech modules to make a decision on the tactics of their support. During the second wave of COVID-19, when the Center operated, a statistically significant decrease in the load on the ambulance service (average number of calls per day, average waiting time for all calls and coronavirus-related calls) as well as on the outpatient service (average number of house calls per day, including calls for acute respiratory diseases) was registered.

**Conclusion.** The work of the Medical Center for Remote Monitoring based on the described model is associated with a decrease in the load on the healthcare system in an unfavorable epidemiological situation due to high COVID-19 incidence. This experience can be spread to other regions of Russia and adapted for other categories of citizens.

**Key words:** telemedicine technologies, remote monitoring, new coronavirus infection, COVID-19, lean technologies, effectiveness, emergency medical care, outpatient service.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Boykov V.A., Baranovskaya S.V., Deev I.A., Taranukha E.V., Shibalkov I.P., Babeshina M.A. Medical Center for Remote Monitoring of COVID-19 patients: organization experience and efficiency assessment. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 12–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-12-22>.

## ВВЕДЕНИЕ

Одной из значимых глобальных тенденций в развитии здравоохранения последних лет является активное внедрение телемедицины. Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) дала новый стимул к использованию удаленных технологий в сфере охраны здоровья, которые стали рассматриваться не только как вспомогательный инструмент для снижения финансовых и временных затрат на оказание медицинской помощи и повышения ее доступности для жителей отдаленных территорий, но и как неотъемлемый элемент комплексных мер по борьбе с COVID-19, способствующий социальному дистанцированию и недопущению перекрестного инфицирования, снижению нагрузки на систему здравоохранения, экономии средств индивидуальной защиты [1–3].

Повсеместный пересмотр организационных подходов к оказанию медицинской помощи, предполагающий расширение имеющихся и запуск новых телемедицинских программ, затронул первичное звено здравоохранения, систему оказания специализированной помощи, работу учреждений паллиативного профиля. В качестве примеров можно привести опыт кардиологической клиники Торонто (Канада), где в марте 2020 г. стартовала расширенная программа дистанционного мониторинга для пациентов с сердечной недостаточностью, предполагающая замену большинства личных встреч с врачом сеансами видеосвязи или телефонными звонками, а также использование мобильного приложения Medly для удаленной клинической поддержки [4]; реструктуризацию программы телемедицины в Университетской больнице Неаполя имени Федерико II (Италия), в рамках которой 75% амбулаторных посещений пациентов с хроническими заболеваниями печени в период локдауна были заменены на удаленные приемы [5]; оказание дорожной помощи в режиме онлайн в Китае [6].

Самостоятельной сферой применения технологий удаленного мониторинга в условиях пандемии стало сопровождение пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Причем недостаточная изученность клинических и эпидемиологических аспектов COVID-19, отсутствие алгоритмов работы с подобными пациентами в дистанционном формате, выявившиеся ресурсные ограничения поставили перед организаторами здравоохранения непростую задачу по разработке действенных решений «с нуля» методом проб и ошибок. В отсутствие четкой регламентации реализованные мероприятия существенно отличались по группам обслуживаемых пациентов, применяемым инструментам, категориям привлека-

емых медицинских работников: открытие телемедицинских центров для лечения пациентов с COVID-19 и консультирование выздоравливающих пациентов с отрицательными ПЦР-тестами [7], клиник виртуального мониторинга COVID-19 для акушерских пациентов [8]; организация централизованных горячих линий для скрининга состояния пациентов с подозрением на COVID-19 [9]; формирование подразделений телереабилитации для лиц, перенесших данную инфекцию [10].

В России на сегодняшний день накоплен значительный опыт использования дистанционных технологий в борьбе с COVID-19. Так, уже на начальных этапах пандемии в соответствии с требованиями временного порядка организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции, являющегося ключевым отраслевым документом, регламентирующим вопросы оказания медицинской помощи в условиях распространения COVID-19 [11], на федеральном и региональном уровнях были созданы дистанционные консультативные центры анестезиологии-реаниматологии для взрослых и детей, работающие в формате «врач – врач».

Следует отметить, что до 23.11.2020 данный порядок не регламентировал вопросы оказания дистанционной медицинской помощи непосредственно пациентам с новой коронавирусной инфекцией, т.е. в формате «медицинский работник – пациент». В связи с чем создание соответствующих подразделений в субъектах и выбор возлагаемых на них функций осуществлялись исключительно с учетом региональной специфики: ресурсные ограничения; уже имеющийся опыт использования технологий удаленного мониторинга и общий уровень информатизации отрасли; сложившаяся система взаимодействия медицинских организаций с лабораториями, территориальными органами Роспотребнадзора, фондом обязательного медицинского страхования и прочие факторы.

С учетом продолжающейся пандемии и рисков возникновения подобных эпидемиологических угроз в будущем анализ уникальных региональных практик и зарубежного опыта использования технологий удаленного мониторинга для пациентов с COVID-19 представляется актуальным направлением научных исследований, результаты которых могут послужить основой для разработки соответствующих методических рекомендаций и алгоритмов работы как на региональном, так и на федеральном уровнях. Одним из первых регионов, организовавших централизованное дистанционное сопровождение данной категории пациентов, стала Томская область.

Цель настоящей статьи – обобщение опыта организации на территории г. Томска Медицинского центра удаленного мониторинга (далее Центр) для пациентов с COVID-19 и внебольничными пневмониями и оценка эффективности его деятельности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Информационной базой для разработки основных положений организации Центра для пациентов с COVID-19 и внебольничными пневмониями стали данные теоретического и эмпирического анализа текущего состояния системы здравоохранения Томской области и сложившейся эпидемиологической ситуации в связи с новой коронавирусной инфекцией.

Численность населения Томской области на 01.01.2020 составляла 1 079 271 чел., из них 597 819 чел. – жители г. Томска. На момент старта проекта в регионе функционировали 72 государственные медицинские организации (из них 69 – областного подчинения), в том числе 53 в г. Томске (50 – областного подчинения). Мощность амбулаторно-поликлинических организаций составляла 16 816 посещений в смену, обеспеченность населения больничными койками – 85,4 на 10 тыс. человек.

В соответствии с требованиями федерального временного порядка организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции и утвержденных на его основе региональных правовых актов в Томской области были проведены все необходимые мероприятия по адаптации медицинской инфраструктуры к ситуации с пандемией (перепрофилирование ста-

онаров, выделение респираторных бригад скорой медицинской помощи (СМП) и отдельных медицинских работников в амбулаторно-поликлинических организациях для оказания медицинской помощи пациентам с симптомами острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ)).

Для оценки эпидемиологической ситуации по COVID-19 в работе использованы данные официального интернет-ресурса для информирования населения по вопросам коронавируса (COVID-19) «Стопкоронавирус.рф». Оценка эффективности деятельности Центра осуществлялась на основе анализа количественных показателей его работы, а также изучения динамики показателей нагрузки на службу СМП и амбулаторно-поликлиническую службу.

Мониторинг показателей осуществлялся в период с 01.07.2020 по 19.01.2021 на основании оперативных данных Департамента здравоохранения Томской области (ДЗТО) и подведомственных учреждений здравоохранения. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 12.0. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_1; Q_3)$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки потенциальной нагрузки на систему здравоохранения, связанной с развитием пандемии COVID-19, проведен анализ среднемесячных значений суточного прироста подтвержденных случаев заражения новой коронавирусной инфекцией по Томской области за период с июля 2020 по январь 2021 г. (рис. 1).



Рис. 1. Динамика среднемесячных значений суточного прироста подтвержденных случаев заражения новой коронавирусной инфекцией по Томской области: \*  $p < 0,0001$  с предыдущим месяцем, \*\*  $p < 0,0001$  – с октябрём 2020 г.

Временной тренд данного параметра характеризовался достаточно низкими значениями в летние месяцы, возрастанием в сентябре и резким ростом в октябре 2020 г. Максимальные значения показателя были зарегистрированы в ноябре 2020 г., после чего кривая тренда пошла на спад. Все изменения меж-

ду средними уровнями динамического ряда носили достоверный характер по сравнению с предыдущим периодом ( $p < 0,0001$ ). Важно, что, несмотря на достоверное снижение среднего числа зараженных в сутки в декабре 2020 г. по сравнению с ноябрем этого же года, уровень декабря оставался достоверно

выше уровня октября ( $p < 0,0001$ ), т.е. работа Центра в первые месяцы после открытия осуществлялась на фоне ухудшения эпидемиологической ситуации с COVID-19, в условиях «второй волны» новой коронавирусной инфекции.

Для Томской области, как и для большинства регионов, интенсивность «второй волны» COVID-19 стала серьезным испытанием, поставившим под угрозу стабильность функционирования системы здравоохранения. На грани дестабилизации оказались практически все направления работы с гражданами – от информационного сопровождения (действующая в регионе горячая линия ДЗТО по ОРВИ, гриппу и коронавирусной инфекции испытывала серьезные перегрузки) до оказания экстренной медицинской помощи.

Несмотря на принимаемые меры по привлечению медицинских работников, развертыванию дополнительных мощностей для оказания помощи лицам с COVID-19, резкий рост заболевших спровоцировал явный дефицит ресурсов, в том числе обусловленный увеличением числа случаев заболевания среди медицинских работников и массовым уходом их на больничный. Ситуация усугублялась нарастанием панических настроений среди населения в связи с невозможностью дозвониться до медицинских организаций, увеличением времени ожидания врача и бригад СМП. Если в районах Томской области ввиду небольшой численности и низкой плотности населения проблемы были менее выражены, то на территории областного центра критичность ситуации требовала принятия незамедлительных решений, одним из которых стало создание Центра.

По решению оперативного штаба в кратчайшие сроки был разработан проект создания Центра, алгоритм работы которого был утвержден распоряжением ДЗТО от 19.10.2020 № 1085 «Об организации работы Медицинского центра удаленного мониторинга». Центр был создан на базе ОГАУЗ «Станция скорой медицинской помощи» (ОГАУЗ «ССМП») и начал работу с 20.10.2020.

Организационная структура Центра включала заведующего, операторов (студенты старших курсов медицинского вуза и клинические ординаторы, выполняющие основной объем работ по удаленному консультированию пациентов) и старших врачей смены (главным образом специалисты старше 65 лет, а также имеющие противопоказания для работы непосредственно в медицинских организациях, основной задачей которых стало оказание методической поддержки операторам, консультирование обратившихся граждан по вопросам лечения, например дача разъяснений по назначениям врача и т.д.). Все лица,

работающие в Центре, прошли повышение квалификации по вопросам оказания медицинской помощи при COVID-19 в ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в объеме 36 ч. По итогам первого месяца работы Центра был выделен функционал старших операторов, в обязанности которых вошло консультирование рядовых операторов при возникновении сложностей, вводный инструктаж впервые приступающих к работе в Центре, подготовка внутренней отчетности о деятельности подразделения.

Основной задачей Центра стало дистанционное консультирование пациентов с COVID-19 и внебольничными пневмониями, уже взятых под наблюдение в амбулаторных условиях или в условиях дневного стационара, с целью снижения нагрузки на поликлиники и службу СМП и высвобождения ресурсов для обслуживания пациентов, нуждающихся в первичном осмотре. Информирование пациентов о деятельности Центра осуществлялось с помощью специально разработанных памяток, содержащих контактную информацию, поводы для обращения в Центр и советы по подготовке к удаленной консультации, а также через средства массовой информации и социальные сети.

Ключевыми основаниями для обращения в Центр были определены: ухудшение состояния пациента; появление симптомов у пациентов с бессимптомным течением; отсутствие очного или дистанционного мониторинга состояния пациента со стороны медицинской организации, в которой осуществляется наблюдение пациента. Выстраивание внутренних процессов Центра было осуществлено с использованием методов и инструментов бережливого производства, таких как стандартизация работы, визуализация, картирование потока создания ценности.

Важно подчеркнуть, что работа операторов осуществлялась в Медицинской информационной системе Томской области (МИС ТО): идентификация пациента, формирование записи об оказанной услуге «Консультация оператора Медицинского центра удаленного мониторинга», которая доступна для врача, сопровождающего пациента в амбулаторных условиях, что обеспечивало преемственность информации между Центром и поликлиниками.

Работа Центра в тестовом формате (первая неделя) осуществлялась в дневное время с последующим переходом на круглосуточный режим. Основная задача оператора состояла в оценке состояния пациента с целью принятия решения о дальнейшей тактике его ведения. Членами рабочей группы проекта были разработаны речевые модули для взрослых и детей, предполагавшие балльную оценку тяжести состояния пациента на основании принадлежности к груп-

пам риска, жалоб и ряда объективных параметров, доступных для измерения пациентом самостоятельно (уровень артериального давления, частота дыхания и сердечных сокращений, показания глюкометра у больных сахарным диабетом и т.д.).

Так, при сумме баллов менее 7 состояние пациента расценивалось как стабильное, давались устные рекомендации по продолжению назначенного лечения. При наличии вопросов, не связанных с клиническими аспектами состояния пациента, например необходимость в получении справочной информации по правилам самоизоляции, графику работы учреждений здравоохранения в режиме повышенной готовности и т.д., звонок пациента перенаправлялся на горячую линию ДЗТО по ОРВИ, гриппу и коронавирусной инфекции для информационной поддержки.

При сумме баллов от 7 до 14 тактика сопровождения пациента предполагала передачу обращения в поликлинику с целью организации очного визита

врача. Передача осуществлялась оператором в МИС ТО, для чего в каждой поликлинике были созданы «виртуальные респираторные кабинеты» и назначены ответственные за обработку переданных вызовов сотрудники. В период максимального роста заболеваемости (с 23.11.2020) данные обращения на основании соответствующего договора передавались Центром в службу неотложной медицинской помощи частной организации (ООО «Медика – Томск») и обслуживались в течение 2 ч.

Сумма баллов 15–26 у взрослых и 15–30 у детей требовала передачи обращения в ОГАУЗ «ССМП» для организации выезда бригады СМП и оказания экстренной помощи.

Вне зависимости от варианта сопровождения пациент информировался о необходимости повторного обращения в Центр при ухудшении состояния и возникновении дополнительных вопросов. Общая схема функционирования Центра представлена на рис. 2.



\* 15–26 баллов – у взрослых, 15–30 баллов – у детей

Рис. 2. Общая схема функционирования Центра

Контроль за переданными в поликлиники и ОГАУЗ «ССМП» обращениями осуществлялся ежедневно старшим врачом смены Центра в МИС ТО. По каждому необслуженному вызову оператором осуществлялся исходящий звонок пациенту с уточнением тяжести состояния и принятием решения по тактике сопровождения в соответствии с вышеописанной балльной оценкой. Заведующий Центром ежедневно осуществлял сводный анализ его деятельности с направлением данной информации в ДЗТО и оперативный штаб Томской области для обеспечения возможности быстрого реагирования на возникающие проблемы и разработки предложений по дальнейшему совершенствованию деятельности Центра.

*Анализ показателей работы Центра.* За период с 20.10.2020 по 19.01.2021 в Центр поступило 70 883 звонка, при этом 94 обращения передано в ОГАУЗ «ССМП», 1 514 – в поликлиники, а по 69 275 даны общие рекомендации. В общей сложности 4 801 обращение (как непосредственно, так и после проведения удаленной консультации) перенаправлено на горячую линию ДЗТО по ОРВИ, гриппу и коронавирусной инфекции. Средняя длительность одной консультации в тестовом режиме работы Центра достигала 11,05 (7,12; 15,08) мин, а на фоне внедрения мероприятий по достижению целевого состояния процесса взаимодействия Центра с медицинскими организациями к ноябрю 2020 г. сократилась до 5,5 (4,95; 5,92) мин и далее не претерпевала выраженных изменений.

Структура поводов для обращения в Центр выглядела следующим образом: ухудшение состояния – 7 936 обращений (11,2%); не пришел/не позвонил врач – 3 577 (5,1%); бессимптомное течение COVID-19 – 75 (0,7%); выявлен COVID-19 первично – 2 621 (3,7%); появление симптомов у бессимптомных пациентов – 5 404 (7,6%); проблемы с больничным листом – 7 319 (10,3%); проблемы с ПЦР-тестом, в том числе невозможность узнать его результаты, – 13 530 (19,1%); контакт с заболевшим COVID-19 – 4 966 (7,0%); иное – 25 055 обращений

(35,3%). В категорию «иное» вошел широкий спектр вопросов, не связанных с необходимостью оценки состояния пациентов с COVID-19: получение льготных лекарственных препаратов; вынужденные переносы сроков получения высокотехнологичной медицинской помощи; потребность в помощи волонтеров; «справки» для работодателя об отсутствии COVID-19; возможность бесплатного получения лекарств и т.д.

*Анализ нагрузки на СМП.* Данные анализа показателей нагрузки на службу СМП на фоне работы Центра представлены в табл. 1 и на рис. 3, 4.

Таблица 1

| Динамика показателей нагрузки на службу СМП, Ме ( $Q_1$ ; $Q_3$ ) |                                |                                         |                                                        |                                     |                                                               |                                                |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Месяц, год                                                        | Количество обращений, ед./сут  | Количество обслуженных вызовов, ед./сут | Количество вызовов, перешедших на следующие сутки, ед. | Время ожидания по всем вызовам, мин | Количество обслуженных вызовов, связанных с COVID-19, ед./сут | Время ожидания по вызовам СМП на COVID-19, мин |
| Июль, 2020                                                        | 1044,00<br>(966,00; 1129,00)   | 547,00 (522,00; 567,00)                 | 0,00<br>(0,00; 2,00)                                   | 70,03<br>(56,03; 85,03)             | 104,00<br>(91,00; 113,00)                                     | 158,03 (102,03; 204,03)                        |
| Август, 2020                                                      | 974,00*<br>(868,00; 1053,00)   | 548,00 (528,00; 569,00)                 | 0,00<br>(0,00; 0,00)                                   | 53,03*<br>(41,03; 62,03)            | 88,00*<br>(74,00; 97,00)                                      | 73,02*<br>(63,03; 118,04)                      |
| Сентябрь, 2020                                                    | 1176,50*<br>(1045,00; 1295,00) | 589,50* (558,00; 614,00)                | 0,00*<br>(0,00; 24,00)                                 | 74,53*<br>(51,03; 90,03)            | 130,00* (117,00; 145,00)                                      | 157,82* (68,25; 239,32)                        |
| Октябрь, 2020                                                     | 1857,00*<br>(1559,00; 2035,00) | 566,00 (548,00; 608,00)                 | 187,00* (139,00; 208,00)                               | 123,04* (101,03; 172,03)            | 192,00* (182,00; 209,00)                                      | 282,03* (216,03; 349,03)                       |
| Ноябрь, 2020                                                      | 1225,00*<br>(977,00; 1618,00)  | 547,00 (523,00; 596,00)                 | 31,00*<br>(0,00; 164,00)                               | 99,04*<br>(68,03; 125,03)           | 193,50 (176,00; 204,00)                                       | 139,53* (95,04; 230,03)                        |
| Декабрь, 2020                                                     | 942,00*<br>(862,00; 982,00)    | 545,00 (517,00; 592,00)                 | 0,00*<br>(0,00; 0,00)                                  | 51,03*<br>(38,03; 55,03)            | 171,00* (145,00; 185,00)                                      | 70,04*<br>(46,03; 90,03)                       |
| Январь, 2021                                                      | 994,00<br>(913,00; 1083,00)    | 531,00 (520,00; 583,00)                 | 0,00<br>(0,00; 0,00)                                   | 45,05<br>(37,05; 59,06)             | 124,00* (111,00; 133,00)                                      | 62,06<br>(40,05; 96,06)                        |

\*  $p < 0,05$  – при сравнении с предыдущим месяцем (здесь и в табл. 2).

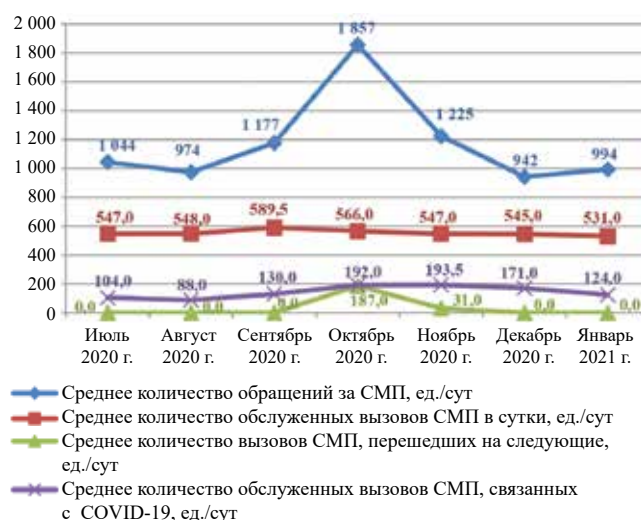


Рис. 3. Динамика количественных показателей нагрузки на службу СМП



Рис. 4. Динамика временных показателей нагрузки на службу СМП

Среднее количество обращений за СМП в сутки в августе 2020 г. достоверно снижалось по сравнению с предшествующим месяцем, повторяя тенденции при-

роста числа заболевших, а с сентября отмечалось достоверное увеличение параметра с достижением пика в октябре 2020 г., что отражало резкое повышение нагрузки на службу СМП, вызванное «второй волной» эпидемии. Однако в ноябре и декабре 2020 г. регистрировалось достоверное снижение среднего количества обращений за СМП в сравнении с предыдущими периодами, несмотря на неблагоприятную эпидемиологическую ситуацию по COVID-19. В январе 2021 г. уровень показателя стабилизировался, не демонстрируя достоверных изменений по сравнению с декабрем 2020 г. Существенное снижение среднего количества обращений, начиная с ноября 2020 г., свидетельствует об эффективности работы Центра, взявшего на себя прием и обработку части обращений, ранее поступающих непосредственно в ОГАУЗ «ССМП».

Среднее количество обслуженных вызовов СМП в сутки на протяжении исследуемого периода не демонстрировало статистически значимой динамики (за исключением достоверного подъема в сентябре 2020 г. по сравнению с уровнем августа 2020 г.). Отсутствие дальнейшего увеличения параметра на фоне ухудшения эпидемиологической ситуации по COVID-19, равно как и последующего его снижения на фоне открытия Центра, может быть объяснено ограничениями по максимальному количеству дежурящих бригад СМП в сутки, связанными в том числе с заражением COVID-19 медицинских работников ОГАУЗ «ССМП» в период пика пандемии. Так, на всем протяжении исследования суточное количество дежурящих бригад СМП колебалось в незначительных пределах – от 35 до 42.

В динамике среднего количества обслуженных вызовов СМП, связанных с COVID-19, в сутки по аналогичной причине также не отмечалось значимого снижения в период активной работы Центра (ноябрь 2020 г.). Последующее же достоверное снижение связано в большей степени с естественным снижением нагрузки на службу СМП, обусловленным спадом числа заболевших.

Вместе с тем среднее количество вызовов СМП, перешедших на следующие сутки, как индикатор явного срыва адаптационных возможностей системы в условиях чрезвычайной нагрузки, после роста на фоне подъема заболеваемости в октябре 2020 г. уже на первых неделях работы Центра (к ноябрю 2020 г.) достоверно снизилось, а с декабря 2020 г. данные вызовы не регистрировались.

Большую чувствительность с точки зрения отражения нагрузки на службу СМП на фоне работы Центра в исследовании имели временные показатели работы бригад СМП. Так, среднее время ожидания по всем вызовам СМП после достоверного роста в сентябре и октябре 2020 г. по сравнению с предыдущими месяцами на фоне работы Центра при сохраняющемся увеличении среднего числа заболевших COVID-19 в ноябре и декабре этого же года достоверно снижалось. Аналогичная динамика наблюдалась при анализе показателя среднего времени ожидания по вызовам СМП на COVID-19.

Анализ нагрузки на поликлиники. Данные анализа показателей нагрузки на амбулаторно-поликлинические учреждения на фоне организации Центра представлены в табл. 2.

Таблица 2

| Динамика показателей нагрузки на амбулаторно-поликлиническую службу, <i>Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>)</i> |                                            |                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Месяц, год                                                                                                    | Среднее количество вызовов на дом, ед./сут | Среднее количество вызовов на дом по поводу острых респираторных заболеваний, ед./сут |
| Июль, 2020                                                                                                    | 1186,00 (355,00; 1280,00)                  | 308,000 (117,00; 345,00)                                                              |
| Август, 2020                                                                                                  | 1060,00* (288,00; 1191,00)                 | 278,000 (125,00; 352,00)                                                              |
| Сентябрь, 2020                                                                                                | 1391,50* (560,00; 1571,00)                 | 567,000* (282,00; 711,00)                                                             |
| Октябрь, 2020                                                                                                 | 2562,00* (1177,00; 2965,00)                | 1034,000* (557,00; 1356,00)                                                           |
| Ноябрь, 2020                                                                                                  | 2249,00 (730,00; 2465,00)                  | 904,500 (365,00; 1048,00)                                                             |
| Декабрь, 2020                                                                                                 | 1723,00* (656,00; 1900,00)                 | 594,000* (272,00; 663,00)                                                             |
| Январь, 2021                                                                                                  | 708,00* (552,00; 1449,00)                  | 299,000* (228,00; 452,00)                                                             |

Динамика показателей нагрузки на поликлиники в целом демонстрировала те же тенденции, что и показатели нагрузки на службу СМП, но без достоверной разницы между уровнями октября и ноября 2020 г. Это можно объяснить тем, что на первых неделях работы Центра его деятельность была направлена исключительно на удаленное консультирование лиц с подтвержденным диагнозом COVID-19 с клиническими проявлениями заболевания для

определения тактики ведения, в то время как большее количество обращений в поликлиники было связано с необходимостью мониторинга состояния бессимптомных носителей, контактных лиц. Передача данного функционала в Центр в ноябре 2020 г. существенно разгрузила поликлиники, что было подтверждено достоверным снижением значений обоих анализируемых показателей при росте заболеваемости COVID-19.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ретроспективно оценивая опыт создания Центра, можно указать на следующие факторы, которые внесли значимый вклад в его успешное функционирование. Во-первых, наличие в регионе медицинского вуза, что позволило в кратчайшие сроки сформировать основной состав операторов из числа студентов старших курсов и ординаторов. В имеющихся в свободном доступе источниках описаны разные подходы к укомплектованию кадрами подобных структур: от привлечения волонтеров [7] до официального трудоустройства специалистов на должности медицинского персонала, как это произошло во многих регионах России [12–14].

Правовым основанием выполнения обязанностей операторами в Томской области стал гражданско-правовой договор. Считаем, что в условиях стремительного развития пандемии и необходимости быстрого формирования новой структуры данный формат оптимален, так как, с одной стороны, дает юридические гарантии обеим сторонам договора, а с другой – позволяет гибко управлять структурой Центра, меняя соотношение врачей и операторов, количество работающих в зависимости от приоритетных задач. Во-вторых, высокий уровень информатизации отрасли. В-третьих, накопленный в регионе опыт использования бережливых технологий в здравоохранении, неоднократно описанный нами в наших предыдущих статьях [15–19]. Применение отработанных инструментов бережливого производства позволило быстро настроить и стандартизировать основные процессы Центра уже на старте его работы.

В Томской области Центр был организован на функциональной основе в ОГАУЗ «ССМП». Данный выбор был продиктован наличием подходящих площадей, возможностью обеспечения оперативного взаимодействия при передаче наиболее сложных обращений, требующих оказания медицинской помощи в экстренной форме. В качестве альтернативных вариантов базы для размещения подобных структур можно отметить центр медицинской профилактики [12], центр лечебной физкультуры и спортивной медицины [20], клиническую больницу [13].

В отдельных субъектах РФ органы управления здравоохранением отказались от централизованного формата организации медицинской помощи данной категории пациентов с применением телемедицинских технологий, развивая их на базе всех медицинских организаций, оказывающих первичную медико-санитарную помощь [14]. Очевидно, что вопрос локации не имеет универсального ответа и в каждом конкретном случае должен решаться с учетом региональной специфики – имеющихся ресур-

сов, эпидемиологической ситуации. На наш взгляд, при достаточном уровне развития информационных технологий, широком внедрении и достаточных функциональных возможностях региональных медицинских информационных систем предпочтительна централизация. Данный подход, помимо традиционных преимуществ, связанных с экономией ресурсов и повышением управляемости, обеспечивает формирование единого входящего канала для информации о наиболее острых проблемах, возникающих в процессе медицинского и информационного сопровождения пациентов мониторируемых групп, детальный анализ которых может лечь в основу как «точечных» мер оперативного реагирования, так и долговременных системных улучшений.

Несмотря на кажущуюся очевидность, вопросы эффективности создания таких центров не столь однозначны. Теоретически введение новой структуры с привлечением дополнительного штата должно разгрузить действующую систему оказания медицинской помощи при борьбе с COVID-19. Однако в реальной ситуации всегда высоки риски обратного эффекта: создание дополнительной нагрузки на первичное звено и систему СМП из-за передачи «непрофильных случаев» (завышенная оценка степени тяжести пациента, перенаправление в поликлинику обращений, по которым нужна лишь информационная поддержка), отсутствия преемственности в передаче информации, дублирования функций телемедицинского центра и поликлиник при несовершенной схеме их взаимодействия.

Анализ работы Центра, приведенный в настоящей статье, подтверждает его эффективность как для снижения нагрузки на систему оказания СМП, так и для оптимизации работы амбулаторно-поликлинической службы региона. Помимо вышеописанных общих факторов свой вклад в повышение эффективности функционирования Центра внес и ряд организационных решений.

Как описано нами ранее, подавляющее большинство звонков были отработаны путем предоставления общих рекомендаций по телефону, т.е. не требовали очного контакта пациента с медицинским работником, а наибольший удельный вес в структуре поводов для обращения в Центр имела категория «иное». Для обеспечения качественного консультирования операторами по данному блоку вопросов рабочей группой проекта был проведен предварительный анализ наиболее распространенных поводов для обращения в call-центры регистратур поликлиник, ДЗТО, звонков в ОГАУЗ «ССМП», которые потенциально могли бы быть закрыты силами Центра, продуманы меры реагирования и разработаны соот-

ветствующие скрипты для быстрого ответа операторов на часто задаваемые вопросы.

В качестве временной меры, направленной на обеспечение доступности медицинской помощи в периоды наиболее интенсивного роста заболеваемости, использовалась передача обслуживания вызовов на дому на аутсорсинг частным медицинским организациям. Следует отметить, что большинство доступных научных исследований, посвященных использованию телемедицинских технологий в отношении пациентов с COVID-19, затрагивают вопросы клинической эффективности и безопасности данных инструментов [21], описывают отдельные количественные показатели работы таких подразделений [7, 8]. В то же время практически отсутствуют публикации, в которых оценивались бы системные эффекты их деятельности, что повышает ценность полученных нами результатов.

Перспективы функционирования Центра, по нашему мнению, связаны с возможностями его адаптации для удаленного мониторинга пациентов с хроническими неинфекционными заболеваниями. В настоящее время в регионе уже ведется всесторонняя проработка вопросов использования ресурсов Центра для этих целей. Научное обоснование и оценка эффективности реализуемых в данном направлении мероприятий станут предметом наших дальнейших научных изысканий.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование демонстрирует положительные системные эффекты от деятельности Центра, выражающиеся в снижении нагрузки на первичное звено здравоохранения и службу СМП в период неблагоприятной эпидемиологической ситуации по COVID-19. Опыт Томской области по организации системы удаленного мониторинга пациентов с COVID-19 и внебольничными пневмониями с учетом доказанной эффективности может быть рекомендован к применению в других регионах РФ. Решения, использованные в рамках описанного проекта, целесообразно адаптировать для организации дистанционной консультативной помощи иным категориям граждан.

## ЛИТЕРАТУРА

- Baudier P., Kondratieva G., Ammi C., Chang V., Schiavone F. Patients' perceptions of teleconsultation during COVID-19: A cross-national study. *Technological Forecasting and Social Change*. 2021; 163: 120510. DOI: 10.1016/j.techfore.2020.120510.
- Wong A., Bhyat R., Srivastava S., Lomax L.B., Appireddy R. Patient care during the COVID-19 pandemic: use of virtual care. *Journal of Medical Internet Research*. 2021; 23 (1): e20621. DOI: 10.2196/20621.
- Hare N., Bansal P., Bajowala S.S., Abramson S.L., Chervinskiy S., Corriel R., Hauswirth D.W., Kakumanu S., Mehta R., Rashid Q., Rupp M.R., Shih J., Mosnaim G.S. Work group report: COVID-19: Unmasking telemedicine. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2020; 8 (8): 2461–2473. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.06.038.
- Wali S., Margarido M.G., Shah A., Ware P., McDonald M., O'Sullivan M., Duero Posada J., Ross H., Seto E. Expanding telemonitoring in a virtual world: A case study of the expansion of a heart failure telemonitoring program during the COVID-19 pandemic. *Journal of Medical Internet Research*. 2021; 23 (1): e26165. DOI: 10.2196/26165.
- Guarino M., Cossiga V., Fiorentino A., Pontillo G., Morisco F. Use of telemedicine for chronic liver disease at a single care center during the COVID-19 pandemic: Prospective Observational Study. *Journal of Medical Internet Research*. 2020; 22 (9): e20874. DOI: 10.2196/20874.
- Wu H., Sun W., Huang X., Yu S., Wang H., Bi X., Sheng J., Chen S., Akinwunmi B., Zhang C.J.P., Ming W.K. Online antenatal care during the COVID-19 pandemic: opportunities and challenges. *Journal of Medical Internet Research*. 2020; 22 (7): e19916. DOI: 10.2196/19916.
- Kim D.S., Chu H., Min B.K., Moon Y., Park S., Kim K., Park S.H., Kim Y.D., Song M., Choi G.H., Lee E. Telemedicine Center of Korean Medicine for treating patients with COVID-19: a retrospective analysis. *Integrative Medicine Research*. 2020; 9 (3): 100492. DOI: 10.1016/j.imr.2020.100492.
- Krenitsky N.M., Spiegelman J., Sutton D., Syeda S., Moroz L. Primed for a pandemic: Implementation of telehealth outpatient monitoring for women with mild COVID-19. *Semin Perinatol*. 2020; 44 (7): 151285. DOI: 10.1016/j.semperi.2020.151285.
- Crane S.J., Ganesh R., Post J.A., Jacobson N.A. Telemedicine consultations and follow-up of patients with COVID-19. *Mayo Clin. Proc.* 2020; 95 (9S): S33–34. DOI: 10.1016/j.mayocp.2020.06.051.
- Iannaccone S., Castellazzi P., Tettamanti A., Houdayer E., Brugliera L., de Blasio F., Cimino P., Ripa M., Meloni C., Alemanno F., Scarpellini P. Role of rehabilitation department for adult individuals with COVID-19: the experience of the San Raffaele Hospital of Milan. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2020; 101 (9): 1656–1661. DOI: 10.1016/j.apmr.2020.05.015.
- О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19: Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19 марта 2020 г. № 198н. URL: <http://docs.cntd.ru/document/564482310> (дата обращения: 18.02.2021).
- Приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 6 апреля 2020 г. № 356 «О применении телемедицинских технологий при организации оказания консультаций по вопросам коронавирусной инфекции COVID-19 и подборе персонала в медицинские организации города Москвы». URL: <http://docs.cntd.ru/document/564612722> (дата обращения: 18.02.2021).
- Приказ Министерства здравоохранения Свердловской области от 16 апреля 2020 г. № 621-п «О применении телемедицинских технологий при оказании консультаций

- по вопросам коронавирусной инфекции COVID-19» (с изменениями на 4 декабря 2020 г.). URL: <http://docs.cntd.ru/document/570743231> (дата обращения: 18.02.2021).
14. Распоряжение Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга от 4 декабря 2020 г. № 876-р «Об организации оказания медицинской помощи с применением телемедицинских технологий пациентам с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, ОРВИ, гриппом и внебольничной пневмонией в Санкт-Петербурге». URL: <http://docs.cntd.ru/document/573047265> (дата обращения: 18.02.2021).
15. Деев И.А., Бойков В.А., Канонеркер Л.М., Кобякова О.С., Куликов Е.С., Новикова И.Ю., Осихов И.А., Сиволобова Т.В., Таранов А.А., Титова М.А., Шибалков И.П. Применение инструментов бережливого производства при организации профилактических осмотров детского населения Томской области. *Менеджер здравоохранения*. 2019; (9): 30–36.
16. Деев И.А., Кобякова О.С., Шибалков И.П., Протасова Л.М., Бойков В.А., Барановская С.В., Суворова Т.А., Бабешина М.А. Оптимизация маршрутизации потоков пациентов как основа повышения организационной эффективности оказания амбулаторно-поликлинической помощи (опыт Томской области). *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2020; 35 (4): 95–102. DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-4-95-102.
17. Деев И.А., Кобякова О.С., Бойков В.А., Шибалков И.П., Барановская С.В., Протасова Л.М., Шнайдер Г.В., Суворова Т.А. Результаты внедрения Стандарта организации амбулаторной помощи на территории Томской области. *Социальные аспекты здоровья населения [сетевое издание]*. 2020; 66 (6): 1. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/1210/30/lang,ru/>. DOI: 10.21045/2071-5021-2020-66-6-1.
18. Суворова Т.А., Деев И.А., Кобякова О.С., Бойков В.А., Барановская С.В., Кошель А.П., Таукина Н.В., Шибалков И.П. Применение инструментов бережливого производства при организации диспансеризации определенных групп взрослого населения. *Вестник Росздравнадзора*. 2020; 5 (2): 4–9.
19. Деев И.А., Кобякова О.С., Бабешина М.А., Барановская С.В., Бойков В.А., Масунов В.Н., Милькевич М.Н., Родионов Н.В., Суворова Т.А., Таранов А.А., Шибалков И.П. Применение технологий бережливого производства для оптимизации работы скорой медицинской помощи в условиях распространения COVID-19. *Менеджер здравоохранения*. 2021; (1): 24–32.
20. Распоряжение Департамента здравоохранения Владимирской области от 13 ноября 2020 г. № 774 «О дистанционном мониторинге состояния здоровья пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19». URL: <http://docs.cntd.ru/document/570985152> (дата обращения: 18.02.2021).
21. Martínez-García M., Bal-Alvarado M., Santos Guerra F., Ares-Rico R., Suárez-Gil R., Rodríguez-Álvarez A., Pérez-López A., Casariego-Vales E.; en nombre del Equipo de Seguimiento Compartido TELEA-COVID Lugo; Equipo TELEA COVID-19 (Lugo). Monitoring of COVID-19 patients by telemedicine with telemonitoring. *Rev. Clin. Esp.* 2020; 220 (8): 472–479. DOI: 10.1016/j.rce.2020.05.013.

## Вклад авторов

Бойков В.А., Барановская С.В. – разработка концепции и дизайна; формирование базы данных, их анализ и интерпретация; написание и подготовка текста статьи. Тарануха Е.В., Бабешина М.А. – формирование базы данных, их анализ и интерпретация. Шибалков И.П. – формирование базы данных, их анализ и интерпретация; написание и подготовка текста статьи. Деев И.А. – разработка концепции и дизайна; окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Сведения об авторах

**Бойков Вадим Андреевич**, канд. мед. наук, доцент, кафедра организации здравоохранения и общественного здоровья, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7532-7102.

**Барановская Светлана Викторовна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра организации здравоохранения и общественного здоровья, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2587-2545.

**Деев Иван Анатольевич**, д-р мед. наук, профессор, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4449-4810.

**Тарануха Елена Владимировна**, зав. поликлиническим отделением № 2, Больница № 2, г. Томск.

**Шибалков Иван Петрович**, канд. экон. наук, ст. преподаватель, кафедра организации здравоохранения и общественного здоровья, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4255-6846.

**Бабешина Марина Александровна**, зам. гл. врача по организационно-методической работе, Поликлиника № 1, г. Томск. ORCID 0000-0003-2390-7935.

(✉) **Барановская Светлана Викторовна**, e-mail: sv-baranovskaya@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.02.2021

Подписана в печать 02.04.2021

## Новые возможности диагностики статиновой миопатии в эксперименте

**Виноградова Е.В., Микашинович З.И., Белоусова Е.С.**

*Ростовский государственный медицинский университет (РостГМУ)  
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29*

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Выяснить взаимосвязи между структурными белками миоцитов, а также показателями антиоксидантной защиты и метаболитами гликолиза на фоне применения статинов у животных в эксперименте для уточнения постановки диагноза «статиновая миопатия».

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на беспородных самцах крыс, которых разделили на три группы. Контрольная группа – интактные животные и две экспериментальные группы: группа 1 – животные с индуцированной гиперхолестеринемией, группа 2 – животные с индуцированной гиперхолестеринемией, получавшие симвастатин. В мышцах животных исследуемых групп был проведен анализ содержания структурных белков саркомера – титина и небулина, а также определена концентрация метаболитов гликолиза (пировиноградной кислоты и лактата) и активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы).

**Результаты и обсуждение.** Применение симвастатина у животных приводило к уменьшению содержания NT- и N2A-изоформ титина, увеличению содержания протеолитического фрагмента T2, также отмечалось полное отсутствие небулина, что отражает наличие дистрофических изменений в мышечной ткани. Длительное введение симвастатина вызывало у крыс метаболические изменения, характеризующиеся нарушением обеспечения клеток молекулярным кислородом. Однако по сравнению с животными с гиперхолестеринемией, которым статины не вводили, наблюдалось уменьшение гипоксических сдвигов. Отмечены нарушения в работе системы антиоксидантной защиты, разнонаправленные изменения активности антиоксидантной пары «СОД – каталаза». Проведенный корреляционный анализ выявил положительную зависимость между содержанием NT-изоформы титина и активностью СОД, отрицательные корреляционные зависимости между содержанием N2A-изоформы титина и уровнем лактата, T2-протеолитического фрагмента титина и уровнем лактата.

**Заключение.** Выявлен сложный комплекс биохимических изменений в мышцах, лежащих в основе миотоксичности статинов при их длительном применении. Обнаружены дополнительные биохимические показатели – активность СОД и концентрация лактата, изменения которых, наряду с определением титина и небулина, свидетельствующие о гипоксическом повреждении ткани, позволяют более точно диагностировать статиновую миопатию.

**Ключевые слова:** статины, статиновая миопатия, симвастатин, гиперхолестеринемия, скелетные мышцы, титин, небулин.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом Ростовского государственного медицинского университета (протокол № 21/15 от 10.12.2015).

**Для цитирования:** Виноградова Е.В., Микашинович З.И., Белоусова Е.С. Новые возможности диагностики статиновой миопатии в эксперименте. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 23–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-23-28>.

## New experimental possibilities for statin myopathy diagnosing

Vinogradova E.V., Mikashinowich Z.I., Belousova E.S.

Rostov State Medical University (RostSMU)

29, Nakhichevansky Str., Rostov-on-Don, 344022, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To identify the relationships between structural proteins of myocytes, as well as indicators of antioxidant defense and metabolites of glycolysis against the background of using statins in animals in the experiment for clarifying the diagnosis of statin-associated myopathy.

**Materials and methods.** The study was conducted on outbred male rats, which were divided into 3 groups. The control group consisted of intact animals, and there were two experimental groups: group 1 – animals with induced hypercholesterolemia, group 2 – animals with induced hypercholesterolemia treated with simvastatin. In the muscles of animals from the studied groups, the content of structural proteins of the sarcomere, titin and nebulin, was analyzed, and the concentration of glycolysis metabolites (pyruvic acid and lactate) and the activity of antioxidant defense enzymes (superoxide dismutase (SOD) and catalase) were determined.

**Results and discussion.** The use of simvastatin in the animals led to a decrease in the content of NT- and N2A-titin isoforms and an increase in the content of the T2-proteolytic fragment. Complete absence of nebulin was also noted, which reflects the presence of dystrophic changes in the muscle tissue. Long-term administration of simvastatin caused metabolic changes in the rats, characterized by impaired supply of cells with molecular oxygen. However, as opposed to the animals with hypercholesterolemia that were not given statins, a decrease in hypoxia-induced shifts was observed. Abnormalities in the performance of the antioxidant defense (AOD) system and multidirectional changes in the activity of the antioxidant pair “SOD – catalase” were noted. The correlation analysis revealed a positive relationship between the content of the NT-titin isoform and the SOD activity and negative correlations between the content of the N2A-titin isoform and the level of lactate, as well as between the T2-proteolytic fragment of titin and the level of lactate.

**Conclusion.** The study revealed a complex set of biochemical changes in the muscles that underlie myotoxicity of statins during their long-term use. Additional biochemical parameters were found – SOD activity and lactate concentration, changes in which, along with the determination of titin and nebulin concentrations, indicating tissue hypoxia, will make it possible to more accurately diagnose statin-associated myopathy.

**Key words:** statins, statin-associated myopathy, simvastatin, hypercholesterolemia, skeletal muscle, titin, nebulin.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local Ethics Committee at Rostov State Medical University (Protocol No. 21/15 of 10.12.2015).

**For citation:** Vinogradova E.V., Mikashinowich Z.I., Belousova E.S. New experimental possibilities for statin myopathy diagnosing. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 23–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-23-28>.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время статины активно назначаются пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями как эффективные гиполипидемические препараты [1]. Однако применение данной группы лекарственных препаратов может вызвать статин-индуцированное поражение мышц – «статиновую миопатию», которая проявляется по-разному: от легкой миалгии до опасного для жизни пациента рабдомиолиза [2]. Развитие симптомов поражения мышц является основной причиной, по которой пациенты отказываются

от терапии статинами, по данным ряда авторов, их число достигает 75% в течение 2 лет от начала терапии [3].

Диагностика статиновой миопатии осложнена тем, что в ряде случаев она протекает бессимптомно либо симптомы не ярко выражены и носят, в основном, субъективный характер. Универсальный диагностический тест, который бы позволил поставить такой диагноз, в настоящее время отсутствует. Одним из методов диагностики миопатий является определение активности креатинфосфокиназы (КФК) в сыворотке крови. Резкое повышение актив-

ности КФК в крови является индикатором повреждения миоцитов. Однако нередко при статин-индуцированной миопатии повышение ее активности может либо не наблюдаться, либо оно незначительно [4]. Исходя из вышеизложенного, возникает вопрос о дополнительных биохимических показателях, которые бы позволили повысить эффективность диагностики статиновой миопатии.

В современной литературе приводятся данные экспериментальных исследований, которые доказывают, что развитие мышечной дистрофии сопровождается снижением содержания в миоцитах гигантских саркомерных белков титина и небулина вследствие их повышенного протеолиза. При этом снижается эластичность мышечной ткани и ее сократительная способность [5].

В ранее проведенных нами исследованиях были представлены метаболические изменения в эритроцитах и скелетной мускулатуре крыс на фоне длительного применения симвастатина, которые доказывали прооксидантное действие статинов.

Цель исследования – выяснение взаимосвязей между структурными белками миоцитов, а также показателями антиоксидантной защиты и метаболизмом гликолиза на фоне применения статинов у животных в эксперименте для уточнения постановки диагноза «статиновая миопатия».

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись беспородные самцы крыс в возрасте 12–14 мес и массой тела 300–350 г. Содержание животных осуществлялось в соответствии с Приказом Минздрава РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 29.08.2014». При проведении эксперимента животные были поделены на контрольную и экспериментальные группы.

Контрольная группа (35 крыс), они в течение 3 мес содержались на стандартном рационе вивария и один раз в день получали 0,5 мл дистиллированной воды через пищеводный зонд.

Экспериментальные группы – 70 крыс. У этих животных путем содержания в течение 3 мес на рационе, обогащенном животными жирами (топленое сливочное масло) и легко усваиваемыми углеводами (тростниковый сахар, манная крупа), индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемию. Ее диагностировали по уровню общего холестерина (ХС) на анализаторе Bayer (Германия) по истечению указан-

ного срока. Затем эти животные были поделены на две равные группы. Животные группы 1 в течение 2 мес получали рацион без добавления лекарственных препаратов и один раз в день – 0,5 мл дистиллированной воды через пищеводный зонд. Животные группы 2 в течение 2 мес получали один раз в день симвастатин (Zocor, 20 мг) по 0,0012 г/100 г массы в виде водной суспензии через пищеводный зонд.

Из эксперимента животных выводили декапитацией. Все манипуляции соответствовали общепринятым этическим нормам (протокол № 21/15 локального этического комитета Ростовского государственного медицинского университета от 10.12.2015).

Для исследования использовали фрагменты скелетных мышц животного. Гомогенат мышечной ткани готовили в соотношении 1 г ткани : 9 мл охлажденного физиологического раствора, центрифугирование проводили при 3 000 об./мин, для определения концентрации метаболитов гликолиза и активности антиоксидантных ферментов использовали надосадочную жидкость.

Концентрацию пировиноградной кислоты (ПВК) определяли по образованию окрашенного соединения при взаимодействии с 2,4-динитрофенилгидразином [6]. Концентрацию лактата определяли по реакции окрашивания параоксидифенила с уксусным альдегидом, образующимся из лактата в присутствии серной, фосфорной кислот и ионов меди [7]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли методом, основанным на способности фермента тормозить автоокисление адреналина в щелочной среде при pH = 10,2 [8]. Активность каталазы определяли по убыли субстрата – пероксида водорода в единицу времени по реакции с молибденовокислым аммонием [9].

Изучение содержания гигантских белков саркомера (титина и небулина) проводили методом ДСН-электрофореза в крупнопористом горизонтальном полиакриламидном геле с добавлением агарозы по R. Tatsumi, A. Hattori (1995) [10] в модификации I.M. Vikhlyantsev, Z.A. Podlubnaya (2017) [11] в Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН (г. Пущино).

Статистическую обработку полученного материала осуществляли с использованием программы Statistica 10.0 и Excel Microsoft. О достоверности различий учитываемых показателей сравниваемых групп судили по величине *t*-критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность критерием Шапиро – Уилка. При проведении корреляционного анализа применялся параметрический коэффициент Пирсона, так как выборки подчинялись нормальному закону распределения. Различия

считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . Данные представлены в виде средней и стандартной ошибки средней ( $M \pm m$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание крыс экспериментальных групп на рационе, обогащенном животными жирами и углеводами, привело к статистически значимому повышению уровня холестерина относительно контрольной группы. Введение животным группы 2 в течение 2 мес симвастатина способствовало снижению уровня ХС в сыворотке крови до 1,637 ммоль/л, что достоверно не отличалось от показателей контрольной группы.

Для оценки структурно-функционального состояния скелетных мышц животных, которым длительное время вводили симвастатин, было проведено изучение изменений качественного и количественного состава титина и небулина в *m. biceps* крыс исследуемых групп (табл. 1). Содержание титина и небулина оценивали по отношению к содержанию тяжелых цепей миозина.

Таблица 1

| Изменение содержания титина и небулина в мышечной ткани животных исследуемых групп, $M \pm m$ |                              |                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
| Показатель                                                                                    | Контрольная группа, $n = 35$ | Экспериментальная группа 2, $n = 35$ |
| T2-фрагмент                                                                                   | $0,113 \pm 0,002$            | $0,137 \pm 0,0024$<br>$p < 0,001$    |
| N2A-изоформа                                                                                  | $0,136 \pm 0,002$            | $0,094 \pm 0,0025$<br>$p < 0,001$    |
| NT-изоформа                                                                                   | $0,026 \pm 0,0015$           | $0,016 \pm 0,0017$<br>$p < 0,001$    |
| Небулин                                                                                       | $0,031 \pm 0,0023$           | Отсутствует                          |

Показатели содержания титина и небулина в *m. biceps* животных группы 1 существенно не отличались от показателей контрольной группы. В то же время исследования показали, что длительное применение симвастатина у животных с индуцированной гиперхолестеринемией вызывало уменьшение содержания NT-изоформы титина на 38,46% ( $p < 0,001$ ) и N2A-изоформы титина на 30,88% ( $p < 0,001$ ). Кроме того, на фоне применения симвастатина у животных в мышечной ткани отмечено увеличение содержания протеолитического фрагмента T2 в 1,2 раза, а также полное отсутствие небулина относительно животных, которым лекарственный препарат не вводили.

Полученные результаты перекликаются с исследованиями современных ученых, которые доказывают, что миопатии различного генеза сопровождаются снижением содержания структурных белков

саркомерного цитоскелета: титина (в первую очередь его NT-изоформ) и небулина и, как следствие, приводят к ухудшению сократительных свойств мышечной ткани [5]. Исходя из этого, можно предположить, что снижение уровня титина и небулина при длительном применении симвастатина является показателем, информативно отражающим наличие дистрофических процессов в мышцах.

Для выяснения природы миотоксичности статинов был проведен анализ показателей энергетического обмена и активности ферментов антиоксидантной защиты в мышечной ткани животных исследуемых групп. Метаболиты гликолиза (ПВК и лактат) являются показателями эффективности обеспечения клеток молекулярным кислородом. В результате исследования в мышцах животных группы 1 отмечено повышение концентрации лактата на 73,23% ( $p < 0,001$ ) и существенное увеличение концентрации ПВК на 247,11% ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы (табл. 2).

Можно предположить, что увеличение концентрации метаболитов гликолиза может быть связано с избытком легко усваиваемых и быстро окисляющихся углеводов в рационе крыс данной группы. В то же время очень высокий уровень лактата свидетельствует о развитии тканевой гипоксии, которая запускает каскад метаболических нарушений в мышечной ткани животных. По мнению Д.А. Крузе (1997), резкое увеличение концентрации лактата может служить маркером тяжести патологического процесса [12].

Таблица 2

| Концентрация метаболитов гликолиза в мышечной ткани животных исследуемых групп, $M \pm m$ , мкмоль/мл белка |                              |                                 |                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|
| Показатель                                                                                                  | Контрольная группа, $n = 35$ | Экспериментальная группа        |                                                  |
|                                                                                                             |                              | группа 1, $n = 35$              | группа 2, $n = 35$                               |
| Лактат                                                                                                      | $3,96 \pm 0,447$             | $6,86 \pm 0,657$<br>$p < 0,001$ | $4,64 \pm 0,491$<br>$p > 0,05$<br>$p_i < 0,01$   |
| Пировиноградная кислота                                                                                     | $2,25 \pm 0,024$             | $7,81 \pm 0,570$<br>$p < 0,001$ | $3,28 \pm 0,269$<br>$p < 0,001$<br>$p_i < 0,001$ |

Примечание. Уровень значимости различий относительно показателей контрольной группы –  $p$ ; относительно показателей группы 1 –  $p_i$  (здесь и в табл. 3).

В группе животных с индуцированной гиперхолестеринемией на фоне применения симвастатина (группа 2) наблюдалось снижение концентрации лактата на 32,36% ( $p_i < 0,01$ ) и ПВК на 58,0% ( $p_i < 0,001$ ) относительно животных группы 1. В то время как относительно контрольной группы концентрация ПВК была увеличена на 45,77%

( $p < 0,001$ ), также на 17,17% наблюдалось увеличение концентрации лактата ( $p > 0,05$ ).

Исходя из полученных данных, можно сделать заключение, что у животных группы 2 на фоне применения симвастатина наблюдалась тенденция к нормализации углеводного обмена, по сравнению с животными группы 1. Однако по сравнению с животными контрольной группы концентрация метаболитов гликолиза все-таки оставалась повышенной. С одной стороны, сохранение повышенного уровня метаболитов гликолиза может отражать неполноценность адаптивных механизмов и требовать дополнительных мер, направленных на уменьшение гипоксических сдвигов. С другой стороны, обращает на себя внимание выраженное увеличение уровня ПВК по сравнению с лактатом. Согласно экспериментальным данным З.И. Микашинович (1989), повышение уровня ПВК в условиях гипоксии способствует улучшению микроциркуляции в тканях и уменьшению патобиохимических сдвигов [13].

Ферменты СОД и каталаза играют важную роль в антиоксидантной защите практически всех клеток организма, в том числе и миоцитов. В результате исследования в группе животных с индуцированной гиперхолестеринемией было отмечено увеличение активности каталазы на 82,66% ( $p < 0,001$ ), а активность СОД достоверно не изменилась относительно контрольной группы (табл. 3).

Таблица 3

| Активность ферментов СОД, каталаза в мышечной ткани животных исследуемых групп, $M \pm m$ |                              |                                  |                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------|
| Показатель                                                                                | Контрольная группа, $n = 35$ | Экспериментальная группа         |                                                   |
|                                                                                           |                              | группа 1, $n = 35$               | группа 2, $n = 35$                                |
| Супероксид-дисмутаза, усл. ед./мг белка                                                   | $0,446 \pm 0,049$            | $0,500 \pm 0,046$<br>$p > 0,05$  | $0,219 \pm 0,024$<br>$p < 0,001$<br>$p_1 < 0,001$ |
| Каталаза, мКат/мг белка                                                                   | $1,494 \pm 0,211$            | $2,729 \pm 0,162$<br>$p < 0,001$ | $2,786 \pm 0,438$<br>$p < 0,001$<br>$p_1 > 0,05$  |

Выявленные увеличения активности каталазы у животных с гиперхолестеринемией при неизменной активности СОД, по мнению О.И. Доценко и соавт., возможно, связаны «с активацией пероксисомальных реакций или других параллельных процессов, для которых необходима повышенная активность каталазы» [14]. Введение симвастатина животным с экспериментальной гиперхолестеринемией способствовало снижению активности СОД на 56,2% ( $p_1 < 0,001$ ), в то время как активность каталазы осталась практически без изменений относительно показателей животных, не получавших симвастатин.

Относительно показателей животных контрольной группы выявлено значительное снижение активности СОД на 50,89% ( $p < 0,001$ ), а активность каталазы была увеличена на 86,47% ( $p < 0,001$ ).

Согласно данным литературы, такое разнонаправленное изменение активности антиоксидантной пары «СОД – каталаза» также является признаком развития гипоксии в мышечной ткани [14]. Для антиоксидантной пары «СОД – каталаза» характерно перекрестное регулирование, когда высокая активность одного из ферментов по механизму обратной связи ингибирует активность другого. Снижение активности СОД представляет потенциальную опасность окислительного поражения важнейших макромолекул, вследствие снижения дисмутации супероксидного анион-радикала и его превращения по реакции Хабера – Вейса в более агрессивный гидроксильный радикал.

Для выявления взаимосвязей между показателями углеводно-энергетического обмена, активности ферментов антиоксидантной защиты и гигантскими белками саркомера – титина и небулина в мышечной ткани животных с индуцированной гиперхолестеринемией на фоне длительного применения симвастатина был проведен корреляционный анализ. В результате выявлена положительная корреляционная зависимость между содержанием NT-изоформы титина и активностью СОД,  $r = 0,34$  при  $p = 0,05$  (уровень значимости  $p \leq 0,05$ ). Также были отмечены отрицательные корреляционные зависимости между показателями: содержанием N2A-изоформы титина и уровнем лактата,  $r = -0,35$  при  $p = 0,04$  (уровень значимости  $p \leq 0,05$ ), и между содержанием T2-протеолитического фрагмента титина и уровнем лактата,  $r = -0,35$  при  $p = 0,04$  (уровень значимости  $p \leq 0,05$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно литературным данным, гигантский белок саркомерного цитоскелета – титин является матрицей для правильной сборки белков [15]. Проведенное исследование показало, что применение симвастатина у животных с индуцированной гиперхолестеринемией приводит к снижению содержания гигантских белков титина и небулина в миоцитах вследствие их повышенного протеолиза. В результате деградации структурных белков происходит снижение сократительной способности скелетных мышц, что отмечается при таких патологических состояниях, как мышечные дистрофии [16]. Исходя из этого, содержание титина и небулина в мышечной ткани можно использовать как ранний маркер статин-индуцированной миопатии.

Анализ показателей энергетического обмена и их взаимосвязи с динамикой изоформ титина у животных после длительного введения симвастатина позволил определить ряд изменений, информативно отражающих деструкцию в мышечной ткани. Выявленные дополнительные биохимические показатели, такие как активность СОД и уровень лактата, наряду с определением титина и небулина, свидетельствующие о гипоксических процессах в тканях, позволяют более точно диагностировать статиновую миопатию.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Л.А., Силина Е.Г. Статины и «бремя» цивилизации: доказанная выгода при атеросклеротических заболеваниях. *Русский медицинский журнал*. 2011; 19 (1): 186–190.
2. Arora R., Liebo M., Maldonado F. Statin-induced myopathy: the two faces of Janus. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2006; 11 (2): 105–112. DOI: 10.1177/1074248406288758.
3. Stroes E.S., Thompson P.D., Corsini A., Vladutiu G.D., Raal F.J., Ray K.K., Roden M., Stein E., Tokgözoğlu L., Nordestgaard B.G., Bruckert E., Becker G.D., Krauss R.M., Laufs U., Santos R.D., Hegel R.A., Hovingh G.K., Leiter L., Mach F., März W., Newman C.B., Wiklund O., Jacobson T.A., Catapano A.L., Chapman M.J., Ginsberg H.N., European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy-European Atherosclerosis Society Consensus Panel Statement on Assessment, Aetiology and Management. *Eur. Heart J.* 2015; 36 (17): 1012–1022. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv043.
4. Law M., Rudnicka A.R. Statin safety: a systematic review. *Am. J. Cardiol.* 2006; 97 (8A): 52–60. DOI: 10.1016/j.amjcard.2005.12.010.
5. Зиновьева О.Е., Самхаева Н.Д., Вихлянец И.М., Уланова А.Д., Михайлова Г.З., Щеглова Н.С., Казаков Д.О., Емельянова А.Ю., Носовский А.М. Изменение содержания и уровня фосфорилирования титина и небулина в четырехглавой мышце бедра при хронической алкогольной миопатии. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2019; 11 (1): 21–27. DOI: 10.14412/2074-2711-2019-1-21-27.
6. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. 2-е изд., перераб. и доп. М.: МЕДпресс-информ, 2004: 911.
7. Данилова Л.А., Башарина О.Б., Красникова Е.Н., Литвиненко Л.А., Раменская Н.П., Фоменко М.О., Машек О.Н. Справочник по лабораторным исследованиям. СПб.: Питер, 2003: 733.
8. Гуревич В.С., Конторщикова К.Н., Шатилина Л.В. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы. *Лабораторное дело*. 1990; 4: 44–47.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988; 1: 16–19.
10. Tatsumi R., Hattori A. Detection of giant myofibrillar proteins connectin and nebulin by electrophoresis in 2% polyacrylamide slab gels strengthened with agarose. *Anal. Biochem.* 1995; 224 (1): 28–31. DOI: 10.1006/abio.1995.1004.
11. Vikhlyantsev I.M., Podlubnaya Z.A. Nuances of electrophoresis study of titin/connectin. *Biophys. Rev.* 2017; 9 (3): 189–199. DOI: 10.1007/s12551-017-0266-6.
12. Крузе Д.А. Клиническое значение определения лактата крови. *Анестезиология и реаниматология*. 1997; 3: 77–83.
13. Микашинович З.И. Общие и частные закономерности изменений метаболизма в эндокринных органах и крови при разной тяжести травматического шока и острой кровопотери: дис. ... д-ра биол. наук. Ростов н/Д, 1989: 409.
14. Доценко О.И., Доценко В.А., Мищенко А.М. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышц в условиях низкочастотной вибрации. *Физика живого*. 2010; 18 (1): 107–113.
15. Рожков Д.О., Зиновьева О.Е., Баринев А.Н., Вихлянец И.М., Уланова А.Д. Состояние скелетных мышц при хронической неспецифической боли в нижней части спины и походы к терапии. *Эффективная фармакотерапия*. 2018; 2 (11): 24–35.
16. Tskhovrebova L., Trinick J. Titin and nebulin in thick and thin filament length regulation. *Subcell Biochem.* 2017; 82: 285–318. DOI: 10.1007/978-3-319-49674-0\_10.

## Сведения об авторах

**Виноградова Елена Викторовна**, ст. преподаватель, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону.

**Микашинович Зоя Ивановна**, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой общей и клинической биохимии № 1, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону.

**Белоусова Елена Сергеевна**, канд. биол. наук, доцент, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону.

(✉) Виноградова Елена Викторовна, e-mail: mod8792@mail.ru

Поступила в редакцию 14.03.2020  
Подписана в печать 29.09.2020

## Роль свободнорадикального окисления в почках в нефропротекторном действии блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона при экспериментальном сахарном диабете

Жариков А.Ю.<sup>1,2</sup>, Филинова С.О.<sup>1</sup>, Мазко О.Н.<sup>1</sup>, Макарова О.Г.<sup>1</sup>,  
Бобров И.П.<sup>1</sup>, Брюханов В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Алтайский государственный медицинский университет (АГМУ)  
Россия, 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины (НИИФФМ)  
Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить влияние эплеренона на активность свободнорадикального окисления и функции почек крыс при экспериментальном сахарном диабете, вызванном стрептозотоцином.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на 36 самцах крыс линии Вистар. Сахарный диабет моделировали однократным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг. Эплеренон вводили в желудок в дозе 50 мг/кг.

**Результаты.** Установлено, что эплеренон при экспериментальной диабетической нефропатии (ДН) существенно ослабляет протеинурию: количество белка в моче становится меньше в 4 раза, чем при нелеченой ДН ( $p < 0,001$ ). В почках под влиянием терапии эплереноном нормализуются структура и функции почечных клубочков, в том числе восстанавливается количество подоцитов, уменьшенное при модели ДН на 37,8%. Активность свободнорадикального окисления (СРО) в почках крыс, получавших эплеренон, усиливается: увеличивается концентрация тиобарбитуратреактивных продуктов в 1,5 раза ( $p = 0,009$ ) и изменяется по сравнению с показателями контроля активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (снижается в 2,4 раза,  $p = 0,002$ ), каталазы (увеличивается в 1,8,  $p < 0,001$ ) и глутатионпероксидазы (увеличивается в 1,5 раза,  $p < 0,001$ ).

**Заключение.** При экспериментальной ДН, вызванной у крыс введением стрептозотоцина, эплеренон оказывает нефропротекторное действие, но усиливает оксидативный стресс в почках. Усиление СРО могло быть обусловлено негеномным мембранным действием альдостерона, компенсаторно накапливающегося в условиях длительной блокады минералокортикоидных рецепторов (МКР). Нефропротекторное действие эплеренона можно связать с ослаблением геномных эффектов альдостерона, реализуемых при участии МКР.

**Ключевые слова:** эплеренон, нефропротекторное действие, свободнорадикальное окисление, экспериментальная диабетическая нефропатия.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом АГМУ (протокол № 4 от 30.04.2020).

**Для цитирования:** Жариков А.Ю., Филинова С.О., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Брюханов В.М. Роль свободнорадикального окисления в почках в нефропротекторном действии блокатора ми-

нералокортикоидных рецепторов эплеренона при экспериментальном сахарном диабете. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 29–35. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-29-35>.

## The role of free radical oxidation in the kidneys in the nephroprotective action of eplerenone, a mineralocorticoid receptor antagonist, in experimental diabetes mellitus

Zharikov A.Yu.<sup>1,2</sup>, Filinova S.O.<sup>1</sup>, Mazko O.N.<sup>1</sup>, Makarova O.G.<sup>1</sup>, Bobrov I.P.<sup>1</sup>, Bryukhanov V.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Altai State Medical University (ASMU)  
40, Lenina Av., Barnaul, 656038, Russian Federation

<sup>2</sup>Research Institute of Physiology and Basic Medicine (PhBMRI)  
4, Timakova Str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To study the effect of eplerenone on the activity of free radical oxidation and renal function in rats with experimental diabetes mellitus induced by streptozotocin.

**Materials and methods.** Experiments were carried out on 36 male Wistar rats. Diabetes mellitus (DM) was simulated by a single intraperitoneal injection of streptozotocin at a dose of 65 mg/kg. Eplerenone was injected into the stomach at a dose of 50 mg/kg.

**Results.** It was found that eplerenone in experimental diabetic nephropathy (DN) significantly attenuated proteinuria: the concentration of protein in the urine became 4 times lower than in untreated DN ( $p < 0.001$ ). In the kidneys, eplerenone therapy normalized the structure and function of renal glomeruli and restored the podocyte number, which was reduced by 37.8% in the DN model. Free radical oxidation (FRO) in the kidneys of rats treated with eplerenone increased – the concentration of thiobarbituric acid reactive substances rose by 1.5 times ( $p = 0.009$ ), and changes in the activity of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (a decrease by 2.4 times,  $p = 0.002$ ), catalase (an increase by 1.8 times,  $p < 0.001$ ), and glutathione peroxidase (an increase by 1.5 times,  $p < 0.001$ ) were observed, as opposed to the values in the controls.

**Conclusion.** In streptozotocin-induced experimental diabetic nephropathy in rats, eplerenone had a nephroprotective effect, but increased oxidative stress in the kidneys. The increase in FRO could be determined by the nongenomic effect of aldosterone, which accumulates under conditions of prolonged mineralocorticoid receptor (MR) blockade. The nephroprotective effect of eplerenone can be associated with the weakening of the genomic effects of aldosterone, realized with the participation of MR.

**Key words:** eplerenone, free radical oxidation, diabetes mellitus, diabetic nephropathy.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local Ethics Committee at ASMU (Protocol No. 4 of 30.04.2020).

**For citation:** Zharikov A.Yu., Filinova S.O., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Bryukhanov V.M. The role of free radical oxidation in the kidneys in the nephroprotective action of eplerenone, a mineralocorticoid receptor antagonist, in experimental diabetes mellitus. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 29–35. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-29-35>.

## ВВЕДЕНИЕ

Окислительное повреждение почек вносит существенный вклад в развитие диабетической нефропатии (ДН) [1], поэтому актуальны изучение механизмов перекисного окисления в почках, поиск новых

мишеней для таргетной антиоксидантной терапии и разработки на их основе новых фармакологических подходов к лечению ДН.

Выделяют четыре основных механизма развития окислительного стресса в почках при ДН: прямое угнетение клеточных антиоксидантных систем

глюкозой и ее метаболитами, накопление конечных продуктов гликирования, активация протеинкиназы С, активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [2]. В почках активируется NADPH-оксидаза, катализирующая образование активных форм кислорода (АФК) [3]. При поиске новых эффективных методов медикаментозного лечения ДН нерешенным остается важный вопрос – какой из механизмов вносит наибольший вклад в развитие оксидативного стресса? Ответ на него поспособствовал бы целенаправленной, а значит, и более результативной разработке новых фармакологических подходов к лечению ДН.

Мы изучили влияние медикаментозного ингибирования системы РААС на картину оксидативного повреждения почек и течение ДН при экспериментальном сахарном диабете (СД). Для этого в качестве фармакологического «инструмента» был выбран препарат «Эплеренон» – нестероидный блокатор альдостероновых рецепторов, ранее уже исследованный в качестве нефропротектора при ДН [4].

Цель настоящего исследования – изучить влияние эплеренона на активность свободнорадикального окисления (СРО) и функции почек крыс при экспериментальном СД, вызванном стрептозотоцином.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 36 самцах крыс линии Вистар в возрасте 2–3 мес и массой тела 300–350 г. Исследование проводилось в соответствии с Директивой 86/609/ЕЕС, Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено локальным этическим комитетом АГМУ (протокол № 4 от 30.04.2020). Крыс помещали в индивидуальные метаболические клетки, приспособленные для сбора мочи. Животные находились в условиях режима естественного освещения, комнатной температуры, свободно потребляли воду и корм «Чара» (Ассортимент-Агро, Россия). Все манипуляции с животными проводили в период с 9.00 до 12.00.

В соответствии с дизайном эксперимента животные были разделены на три группы: контрольная группа и опытная группа по 13 особей в каждой и группа интактных крыс в количестве 10 особей. В контрольной и опытной группах для моделирования СД крысам внутрибрюшинно однократно вводили 1 мл раствора стрептозотоцина (Applichem, Германия) в дозе 65 мг/кг в цитратном буфере. Для более точного моделирования СД 2-го типа крысам предварительно внутрибрюшинно вводили раствор цитофлавина из расчета дозы никотинамида 115 мг/кг.

Введение никотинамида ослабляет повреждение островков Лангерганса стрептозотоцином и позволяет вызывать умеренную гипергликемию без массивного цитолиза клеток поджелудочной железы [5].

В опытной группе для лечения ДН в течение 3 нед вводили в желудок эплеренон (Польфарма, Польша) в дозе 50 мг/кг 1 раз/сут ежедневно, начиная с 5-й нед после инъекции стрептозотоцина. Доза эплеренона была выбрана по результатам предыдущих исследований нефропротекторного действия препарата при модели СД [4]. В предварительных исследованиях нами показано, что типичные признаки нефропатии у крыс развиваются только к исходу 4-й нед после введения стрептозотоцина [6].

Для оценки функций почек у крыс контрольной и опытной групп до начала моделирования СД, а затем еженедельно определяли концентрацию в моче глюкозы, белка и креатинина и рассчитывали их экскрецию с мочой. Содержание глюкозы, белка и креатинина в моче измеряли с помощью автоматического биохимического анализатора DIRUCS-T240 (Dirui Industrial Co., Китай) с использованием биохимических наборов (ДИАКОН-ДС, Россия).

По истечении 8 нед эксперимента животных подвергали эвтаназии под эфирным наркозом, почки извлекали и промывали изотоническим раствором натрия хлорида. Одну почку использовали для проведения морфологических исследований, вторую – для изучения активности СРО. Активность СРО оценивали согласно методам, приведенным в руководстве [7], по концентрации в почках тиобарбитуратреактивных продуктов окисления жирных кислот (ТБРП) и активности антиоксидантных ферментов: каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО).

Для проведения морфологических исследований использовали приборы фирмы Sakkura (Япония). Почки фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. Проводку материала осуществляли по изопропиловому спирту с помощью автомата карусельного типа TISSUE-TEK VIPTM6 (Япония). Материал заливали в парафин при помощи станции парафиновой заливки TISSUE-TEK TEC 5 (Япония). Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм получали на полуавтоматическом роторном микротоме Accu-Cut SRM (Нидерланды), окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван Гизона в автомате для автоматической окраски микропрепаратов TISSUE-TEK Prisma (Япония). Гистохимически определяли нейтральные гликозаминогликаны реактивом Шиффа по Мак-Манусу. Препараты заключали под пленку в аппарате TISSUE-TEK Film (Япония). Морфометрические исследования проводили с использованием

системы компьютерного анализа изображений, состоящей из микроскопа Leica DME (Германия), цифровой камеры Leica EC3 (Leica Microsystems AG, Германия), персонального компьютера и программного обеспечения ВидеоТест-Морфология 5.2. Измеряли площадь почечных клубочков и площадь просветов капилляров, а после специальной компьютерной обработки цифровых фотографий вычисляли в клубочке суммарную площадь сосудистого русла, площадь мезангия и количество подоцитов.

Результаты обрабатывали статистически с использованием компьютерной программы Statistica 13.3.1 (лицензия JPZ906I448517FAACD-K). Результаты биохимических исследований представлены медианой и интерквартильным размахом  $Me (Q_1; Q_3)$ . Результаты морфометрических исследований представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Статистические сравнения между группами проводили с использованием непараметрического  $U$ -критерия Манна – Уитни, сравнения внутри группы – с использованием непараметрического критерия Вилкоксона [8].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные эксперименты показали, что у крыс контрольной и опытной групп в течение 8 нед количество выделенной мочи, почечная экскреция глюко-

зы и креатинина статистически значимо превышали исходный уровень и не различались между группами (в табл. 1, 2 и на рис. 1–3 не представлены).

В контрольной и опытной группах на протяжении первых 28 сут моделирования СД почечная экскреция белка существенно возрастала (рис. 1): в контроле – с 2,7 (1,8; 8,7) мг/сут до 11,0 (5,9; 15,3) ( $p = 0,004$ ), в опытной группе – с 3,0 (0,6; 3,8) мг/сут до 10,2 (9,9; 13,4) ( $p = 0,002$ ). Статистически значимые различия между группами не регистрировались. С 5-й по 8-ю нед эксперимента экскреция белка в контроле продолжала увеличиваться и достигала максимума к концу эксперимента – до 36,0 (28,6; 43,2) мг/сут, что было в 13,3 раза больше, чем до эксперимента ( $p = 0,001$ ). После начала введения эплеренона рост почечной экскреции белка прекратился, и вплоть до конца эксперимента экскреция не изменялась относительно показателя, измеренного на 28-й день. Как следствие, на 6–8-ю нед на фоне введения эплеренона почечная экскреция белка была статистически значимо ниже, чем в контроле в указанные периоды времени: через 6 нед уменьшалась в 2,3 раза до 5,0 (3,2; 7,5) мг/сут против 11,6 (5,3; 14,8) мг/сут ( $p = 0,018$ ), через 7 нед – в 1,8 раза до 7,7 (2,6; 10,3) мг/сут против 13,8 (11,6; 16,0) мг/сут ( $p = 0,002$ ), через 8 нед – в 4 раза до 9,0 (3,5; 15,0) мг/сут против 36,0 (28,6; 43,2) мг/сут,  $p < 0,001$ ).

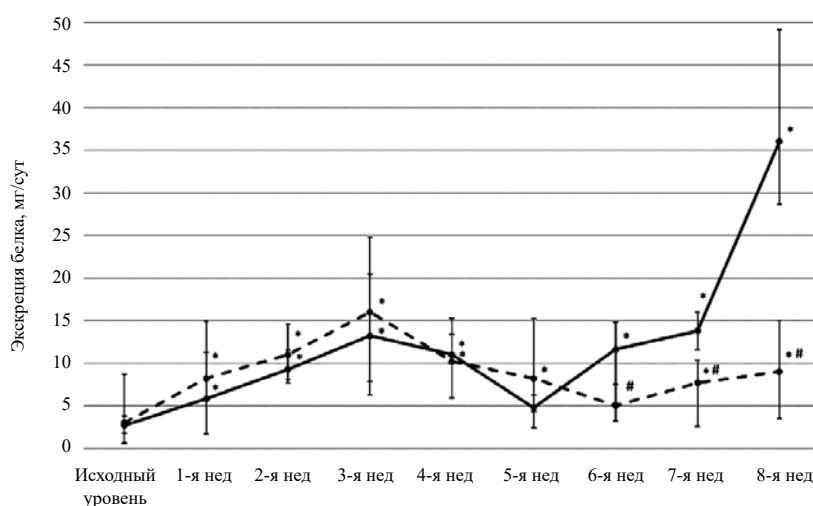
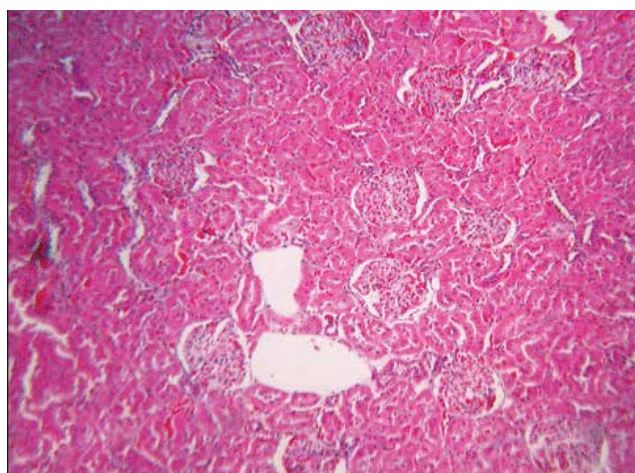


Рис. 1. Динамика экскреции белка с мочой. Статистически значимые различия: \* – по сравнению с исходным уровнем, # – между группами

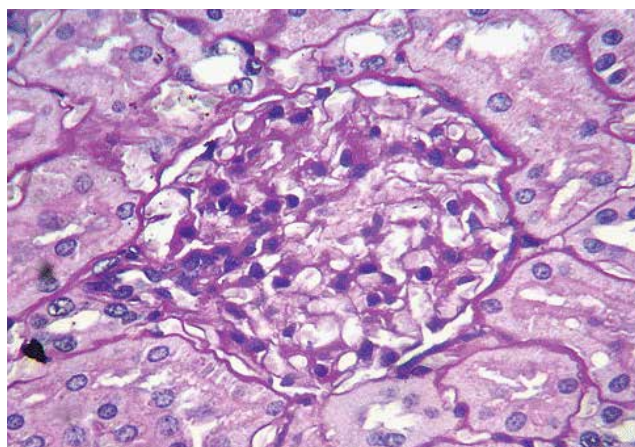
Морфологические исследования почек крыс экспериментальных групп позволили установить, что в контрольной группе почечные клубочки были увеличены в размерах, в клубочках расширилось межкапиллярное пространство за счет накопления ШИК-положительного материала в мезангии (рис. 2). Просветы капилляров клубочков были су-

жены, базальные мембраны капилляров и капсула клубочков – утолщены. Подоциты увеличивались в размерах, их ядра набухали. В интерстиции почки встречались очаги нефросклероза, в этих участках базальные мембраны канальцев становились утолщенными. Нефроциты канальцев были уплощены, просвет канальцев расширялся. Большинство неф-

роцитов находилось в состоянии гиалиново-капельной дистрофии. В некоторых участках определялась лимфоплазмочитарная инфильтрация.



*a*



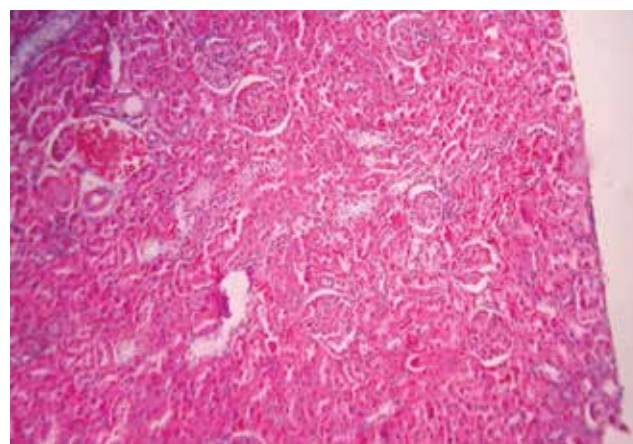
*b*

Рис. 2. Ткань почки крыс контрольной группы: *a* – увеличение размеров клубочков, окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ ; *b* – расширение межкапиллярного пространства и сужение просветов капилляров, окраска по Мак-Манусу,  $\times 1\ 200$

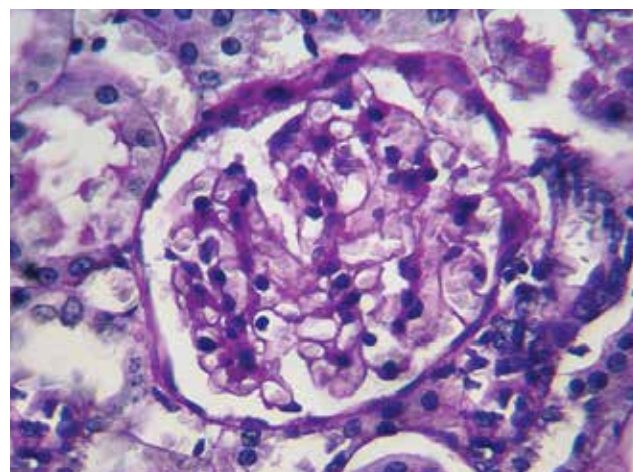
Очаговое расширение межкапиллярного пространства и отложение ШИК-позитивного материала были слабо выражены. Просветы капилляров клубочков преимущественно были широкими, отмечалось полнокровие капилляров. Подоциты были небольшого размера, с округлыми мелкими ядрами. В интерстиции почки явления нефросклероза были минимальными. Морфологическое строение нефроцитов приближалось к норме, явления гиалиново-капельной дистрофии на большинстве участков отсутствовали. Межгрупповое сравнение количественных показателей проведенной морфометрии представлено в табл. 1.

В почках крыс контрольной группы активность КАТ увеличивалась в 2,3 раза, ГПО – в 1,5 раза, ак-

У крыс опытной группы, получавших эплеренон, площадь почечных клубочков уменьшалась (рис. 3).



*a*



*b*

Рис. 3. Ткань почки крыс подопытной группы: *a* – уменьшение размеров клубочков, окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ ; *b* – уменьшение межкапиллярного пространства и расширение просветов капилляров, окраска по Мак-Манусу,  $\times 1\ 200$

тивность СОД снижалась в 2,1 раза относительно активности у интактных животных (табл. 2). Концентрация ТБРП при этом не изменялась.

В опытной группе, получавшей эплеренон, вопреки ожиданиям СРО усиливалось: концентрации ТБРП повышалась в 1,4 раза по сравнению с концентрацией у интактных и контрольных крыс. Активность КАТ становилась в 4,2 раза больше, чем у интактных крыс, и в 1,8 раза больше, чем в контроле. Активность СОД снижалась в 2,4 раза по сравнению с активностью в контроле, и была в 4,9 раза меньше, чем у интактных крыс. Активность ГПО была выше показателя интактных животных в 2,3 раза и превышала активность в контрольной группе в 1,5 раза.

Таблица 1

| Морфометрические показатели почечных клубочков у экспериментальных животных, $M \pm m$ |                    |                                                 |                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Параметр                                                                               | Интактные крысы    | Контрольная группа                              | Опытная группа                                                           |
| Площадь почечных клубочков, $\text{мкм}^2$                                             | $6174,7 \pm 257,5$ | $7758,65 \pm 329,5$<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$ | $4810,4 \pm 202,6$<br>$p_{\text{к}} < 0,001$<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$ |
| Суммарная площадь сосудов в клубочке, $\text{мкм}^2$                                   | $2900 \pm 27,4$    | $1148,5 \pm 107,65$<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$ | $1569,65 \pm 282,05$<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$                         |
| Площадь просвета капилляров клубочка, $\text{мкм}^2$                                   | $47,5 \pm 3,7$     | $24,25 \pm 1,65$<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$    | $31,4 \pm 2,4$<br>$p_{\text{к}} = 0,004, p_{\text{инт}} = 0,001$         |
| Площадь мезангия в клубочках, $\text{мкм}^2$                                           | $4738,7 \pm 43,3$  | $5609,9 \pm 823,1$                              | $3733,3 \pm 505,9$                                                       |
| Подоциты, ед.                                                                          | $10,2 \pm 0,20$    | $7,4 \pm 0,6$<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$       | $11,8 \pm 0,5$<br>$p_{\text{к}} < 0,001$                                 |

Примечание. Уровень статистической значимости относительно интактных крыс –  $p_{\text{инт}}$ , в подопытной группе относительно контрольной группы –  $p_{\text{к}}$  (здесь и в табл. 2).

Таблица 2

| Активность свободно радикального окисления в почках крыс экспериментальных групп, $Me (Q_1; Q_3)$ |                   |                                               |                                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Параметр                                                                                          | Интактные крысы   | Контрольная группа                            | Подопытная группа                                                       |
| Концентрация ТБРП, $\text{мкмоль/мг}$                                                             | 6,1 (5,4; 6,9)    | 6,0 (4,8; 6,6)                                | 8,5 (6,2; 9,9)<br>$p_{\text{инт}} = 0,005, p_{\text{к}} = 0,009$        |
| Активность КАТ, %                                                                                 | 14,4 (10,2; 15,6) | 32,7 (23,0; 37,7)<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$ | 60,1 (50,5; 64,0)<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$<br>$p_{\text{к}} < 0,001$ |
| Активность СОД, %                                                                                 | 18,2 (13,0; 18,5) | 8,8 (7,7; 10,3)<br>$p_{\text{инт}} = 0,003$   | 3,7 (3,4; 5,5)<br>$p_{\text{инт}} < 0,001, p_{\text{к}} = 0,002$        |
| Активность ГПО, %                                                                                 | 38,5 (25,2; 41,6) | 58,7 (57,5; 60,3)<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$ | 89,5 (88,4; 91,2)<br>$p_{\text{инт}} < 0,001$<br>$p_{\text{к}} < 0,001$ |

## ОБСУЖДЕНИЕ

У крыс с моделью ДН развивался оксидативный стресс. Через месяц после введения стрептозотоцина на фоне активации СРО повышалась активность основных антиоксидантных ферментов – ГПО и СОД [9]. Это, по-видимому, носит компенсаторный характер в ответ на образование АФК. Через 2 мес после моделирования СД активность СОД снижалась, а активность ГПО и КАТ возрастала. Не исключено, что по мере прогрессирующего роста интенсивности СРО ферментативная активность СОД истощается, а активность ГПО и КАТ подвергается субстратной стимуляции большим количеством АФК. Эплеренон при курсовом введении при экспериментальном СД усиливал оксидативный стресс в почках, но оказывал нефропротекторное действие. Это позволяет сделать вывод – ингибиторы РААС нормализуют функции почечных клубочков и их фильтрационного барьера независимо от влияния на активность СРО в почках при СД.

Усиление СРО в почках при введении эплеренона можно объяснить компенсаторным ростом продукции альдостерона и увеличением его количества в почках [10]. Альдостерон в условиях блокады мине-

ралокортикоидных рецепторов проявляет негеномную активность в виде мембранных эффектов [11]. Одним из таких эффектов, как известно, является активация протеинкиназы С [12]. Этот фермент запускает каскад реакций образования АФК [2].

Блокатор минералокортикоидных рецепторов эплеренон при длительном введении может ослаблять геномные эффекты альдостерона. Основная причина развития протеинурии при ДН – уменьшение количества и ослабление функций подоцитов [13]. Многочисленные исследования свидетельствуют о прямой связи активации минералокортикоидных рецепторов с повреждением подоцитов [14]. В нашем исследовании при модели ДН эплеренон нормализует количество подоцитов и их функциональное состояние и, следовательно, уменьшает протеинурию.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При модели ДН нефропротекторное действие эплеренона обусловлено блокадой геномных эффектов альдостерона и не связано с влиянием на активность СРО в почках. Эплеренон усиливает СРО в почках вследствие накопления альдостерона и его негеномного мембранного действия.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sagoo M.K., Gnudi L. Diabetic nephropathy: Is there a role for oxidative stress? *Free Radic. Biol. Med.* 2018; 116: 50–63. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.040.
2. Bhatti A.B., Usman M. Drug targets for oxidative podocyte injury in diabetic nephropathy. *Cureus.* 2015; 7 (12): e393. DOI: 10.7759/cureus.393.
3. Sharma K. Mitochondrial dysfunction in the diabetic kidney. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017; 982: 553–562. DOI: 10.1007/978-3-319-55330-6\_28.
4. Ahn J.H., Hong H.C., Cho M.J., Kim Y.J., Choi H.Y., Eun C.R., Yang S.J., Yoo H.J., Kim H.Y., Seo J.A., Kim S.G., Choi K.M., Baik S.H., Choi D.S., Kim N.H. Effect of eplerenone, a selective aldosterone blocker, on the development of diabetic nephropathy in type 2 diabetic rats. *Diabetes Metab. J.* 2012; 36 (2): 128–135. DOI: 10.4093/dmj.2012.36.2.128.
5. Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2. *Биомедицина.* 2011; (3): 12–18.
6. Филинова С.О., Жариков А.Ю., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г. Патоморфологическая картина диабетической нефропатии при экспериментальном сахарном диабете. *Казанский медицинский журнал.* 2019; 100 (1): 147–152. DOI: 10.17816/KMJ2019-147.
7. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. Жариков А.Ю., Талалаева О.С. Методы доклинического (экспериментального) исследования влияния лекарственных средств на функцию почек. Новосибирск: Гео, 2013: 84.
8. Хафизьянова Р.Х., Бурыкин И.М., Алеева Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии. Казань: Медицина, 2006: 374.
9. Филинова С.О., Жариков А.Ю., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Баландович Б.А. Показатели прооксидантного и антиоксидантного статусов в почках крыс при экспериментальном сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64 (1): 124–127. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.01.124-127.
10. Gupta G., Dahiya R., Singh Y., Mishra A., Verma A., Gothwal S.K., Aljabali A., Dureja H., Prasher P., Negi P., Kapoor D.N., Goyal R., Tambuwala M.M., Chellappan D.K., Dua K. Monotherapy of RAAS blockers and mobilization of aldosterone: A mechanistic perspective study in kidney disease. *Chemico-Biological Interactions.* 2020; 317: 108975. DOI: 10.1016/j.cbi.2020.108975.
11. Mihailidou A.S., Tzakos A.G., Ashton A.W. Non-genomic effects of aldosterone. *Vitam. Horm.* 2019; 109: 133–149. DOI: 10.1016/bs.vh.2018.12.001.
12. Eiam-Ong S., Chaipipat M., Manotham K., Eiam-Ong S. Aldosterone rapidly activates p-PKC delta and GPR30 but suppresses p-PKC epsilon protein levels in rat kidney. *Endocr. Regul.* 2019; 53 (3): 154–164. DOI: 10.2478/enr-2019-0016.
13. Podgórski P., Konieczny A., Lis Ł., Witkiewicz W., Hruby Z. Glomerular podocytes in diabetic renal disease. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2019; 28 (12): 1711–1715. DOI: 10.17219/acem/104534.
14. Bai M., Chen Y., Zhao M., Zhang Y., He J.C., Huang S., Jia Z., Zhang A. NLRP3 inflammasome activation contributes to aldosterone-induced podocyte injury. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2017; 312 (4): F556–F564. DOI: 10.1152/ajprenal.00332.2016.

## Вклад авторов

Жариков А.Ю. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение рукописи для публикации. Филинова С.О. – постановка экспериментальной модели. Мазко О.Н., Макарова О.Г. – постановка экспериментальной модели, проведение биохимических лабораторных исследований. Бобров И.П. – проведение морфологических исследований. Брюханов В.М. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

## Сведения об авторах

**Жариков Александр Юрьевич**, д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии, АГМУ, г. Барнаул; ст. науч. сотрудник, лаборатория физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, НИИИМФ, г. Новосибирск. ORCID 0000-0003-4884-220X.

**Филинова Светлана Олеговна**, преподаватель, кафедра фармакологии, АГМУ, г. Барнаул. ORCID 0000-0002-6405-701X.

**Мазко Олеся Николаевна**, канд. биол. наук, доцент, кафедра фармакологии, АГМУ, г. Барнаул. ORCID 0000-0001-7299-4516.

**Макарова Олеся Геннадьевна**, канд. фармацевт. наук, доцент, кафедра фармакологии, АГМУ, г. Барнаул. ORCID 0000-0001-7771-9468.

**Бобров Игорь Петрович**, д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, морфологическая лаборатория, Центр медико-биологических исследований, АГМУ, г. Барнаул. ORCID 0000-0001-9097-6733

**Брюханов Валерий Михайлович**, д-р мед. наук, профессор, кафедра фармакологии, АГМУ, г. Барнаул. ORCID 0000-0003-4689-7207. Поставить рамку

(✉) **Жариков Александр Юрьевич**, e-mail: zharikov\_a\_y@mail.ru

Поступила в редакцию 12.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Закономерности регенерации конъюнктивы и склеры после интраоперационной аппликации раствора циклоспорина А у кроликов со стероидной моделью глаукомы

Жигальская Т.А.<sup>1</sup>, Дзюман А.Н.<sup>1</sup>, Крылова А.А.<sup>1</sup>, Кривошеина О.И.<sup>1</sup>, Хлусов И.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** В эксперименте *in vivo* изучить влияние местной интраоперационной аппликации 0,05%-го раствора (р-ра) циклоспорина А на регенерацию конъюнктивы и склеры после операции на глазах кроликов со стероидной глаукомой.

**Материалы и методы.** На I этапе эксперимента 29 самцам кроликов калифорнийской породы моделировали стероидную глаукому путем введения под конъюнктиву обоих глаз 0,5 мл 0,4%-го р-ра дексаметазона 1 раз в нед в течение 3 мес (12 инъекций). На II этапе эксперимента, после развития стероидной глаукомы, кроликов разделили на основную группу, состоящую из подгруппы «а» ( $n = 8$ ) и подгруппы «б» ( $n = 8$ ), и группу сравнения ( $n = 8$ ). Всем животным выполняли сквозной разрез конъюнктивы и непроникающий надрез склеры одного из глаз. На область вмешательства в основной группе накладывали гемостатическую губку, пропитанную 0,05%-м р-ром циклоспорина А, в подгруппе «а» на 3 мин, в подгруппе «б» – на 6 мин. В группе сравнения цитостатик не использовали.

**Результаты.** Применение 0,05%-го р-ра циклоспорина А привело к уменьшению инфильтрации зоны хирургической травмы воспалительными клетками и фибробластами. На 4-е сут после операции клеточная плотность в области вмешательства в подгруппе «а» основной группы с трехминутной аппликацией р-ра цитостатика-антиметаболита была в 2,7 раза меньше ( $p = 0,043$ ), чем в группе сравнения, превышая при этом показатели подгруппы «б» в 3,2 раза ( $p = 0,036$ ). Численность фибробластов в подгруппах «а» и «б» была в 3,6 ( $p = 0,043$ ) и 12,8 раза ( $p = 0,031$ ) ниже, чем в группе сравнения. При этом сдвиг клеточного состава инфильтрата в сторону фибробластической популяции произошел только на 14-е сут после операции.

**Заключение.** Интраоперационная аппликация 0,05%-го р-ра циклоспорина А существенно замедляет течение воспалительно-репаративной регенерации, уменьшая инфильтративное воспаление в зоне вмешательства, что предотвращает излишнее рубцевание.

**Ключевые слова:** антиглаукомная операция, рубцевание путей оттока внутриглазной жидкости, антиметаболиты, циклоспорин А.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 4346 от 16.11.2015).

**Для цитирования:** Жигальская Т.А., Дзюман А.Н., Крылова А.А., Кривошеина О.И., Хлусов И.А. Закономерности регенерации конъюнктивы и склеры после интраоперационной аппликации раствора циклоспо-

рина А у кроликов со стероидной моделью глаукомы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 36–43. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-36-43>.

## Patterns of conjunctival and scleral regeneration after intraoperative application of cyclosporin A solution in rabbits with steroid-induced glaucoma

Zhigalskiaya T.A.<sup>1</sup>, Dzyman A.N.<sup>1</sup>, Krylova A.A.<sup>1</sup>, Krivosheina O.I.<sup>1</sup>, Khlusov I.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University (SSMU)  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> National Research Tomsk Polytechnic University (NR TPU)  
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** In an *in vivo* experiment, to study the effect of local intraoperative application of 0.05% cyclosporin A solution on the conjunctival and scleral regeneration after surgery on the rabbit eyes with steroid-induced glaucoma.

**Materials and methods.** At the first stage of the experiment, a model of steroid-induced glaucoma was reproduced for 29 male Californian rabbits by injecting 0.5 ml of a 0.4% solution of dexamethasone subconjunctivally in both eyes once a week for 3 months (12 subconjunctival injections for each rabbit). At the second stage of the experiment, after the development of steroid glaucoma, the rabbits were divided into the main group, consisting of the subgroup «a» ( $n = 8$ ) and the subgroup «b» ( $n = 8$ ), and the comparison group ( $n = 8$ ). All animals were performed a penetrating incision of the conjunctiva and a non-penetrating incision of the sclera of one of the eyes. A hemostatic sponge impregnated with 0.05% cyclosporin A solution was applied to the intervention area in the main group, in the subgroup «a» – for 3 minutes, in the subgroup «b» – for 6 minutes. In the comparison group, the cytosstatic was not used.

**Results.** The use of 0.05% cyclosporin A solution led to a decrease in the infiltration of fibroblasts and inflammatory cells into the area of surgical injury. On the 4th day after the surgery, cell density in the intervention area in the subgroup «a» with 3-minute application of cytosstatic-antimetabolite solution was 2.7 times lower ( $p = 0.043$ ) than in the comparison group, while exceeding the values in the subgroup «b» by 3.2 times ( $p = 0.036$ ). The number of fibroblasts in the subgroups «a» and «b» was 3.6 ( $p = 0.043$ ) and 12.8 times ( $p = 0.031$ ) less than in the comparison group, and a shift in the cellular composition of the infiltrate towards the fibroblastic population occurred only on the 14th day after the surgery.

**Conclusion.** Intraoperative application of 0.05% cyclosporin A solution significantly slows down the course of regeneration, reducing infiltrative inflammation in the intervention area, which prevents excessive scarring.

**Key words:** antiglaucoma surgery, scarring of the outflow pathways of the intraocular fluid, antimetabolites, cyclosporine A.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 4346 of 16.11.2015).

**For citation:** Zhigalskiaya T.A., Dzyman A.N., Krylova A.A., Krivosheina O.I., Khlusov I.A. Patterns of conjunctival and scleral regeneration after intraoperative application of cyclosporin A solution in rabbits with steroid-induced glaucoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 36–43. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-36-43>.

## ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям, глаукома – это группа заболеваний, характеризующихся внутриглазным давлением (ВГД) выше толерантного уровня с развитием оптической нейропатии и типичным снижением зрительных функций [1]. Несмотря на широкий выбор гипотензивных препаратов и применение различных лазерных вмешательств, хирургическое лечение данной патологии остается наиболее эффективным способом компенсации повышенного ВГД [1]. Успех фильтрующих операций определяется длительностью функционирования хирургически созданных путей оттока внутриглазной жидкости. Рубцевание в зоне операции приводит к значительному снижению гипотензивного эффекта [1, 2].

Для обеспечения стабильного и длительного гипотензивного эффекта после антиглаукомных операций нередко используются антиметаболические препараты (5-фторурацил, митомицин С), препятствующие пролиферации тканей в зоне вмешательства с рубцеванием искусственно созданных путей оттока внутриглазной жидкости [2–6]. Однако широкое применение антиметаболитов ограничено из-за риска развития в послеоперационном периоде таких осложнений, как вторичная макулопатия, кератопатия, прогрессирование катаракты, гипотония глаза [2].

Исходя из вышеизложенного, поиск препарата, обладающего антипролиферативным действием с минимальными токсическими свойствами и препятствующего рубцеванию хирургически созданных путей оттока внутриглазной жидкости после антиглаукомных операций, является одной из актуальных проблем современной офтальмохирургии.

Цель работы: в эксперименте *in vivo* изучить влияние местной интраоперационной аппликации 0,05%-го раствора циклоспорина А на регенерацию конъюнктивы и склеры после хирургического вмешательства на глазах кроликов с индуцированной моделью глаукомы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе лаборатории биологических моделей (руководитель – канд. биол. наук В.В. Иванов) СибГМУ. Протокол проведения эксперимента утвержден локальным этическим комитетом СибГМУ (№ 4346 от 16.11.2015). Эксперимент *in vivo* выполнен на 29 самцах кроликов калифорнийской породы массой 3,5–4,0 кг, которых предварительно в течение 1 нед выдерживали на карантине в условиях вивария на обычном пищевом режиме. На I этапе эксперимента у всех кроликов воспроизводили модель стероид-индуцированной

глаукомы путем введения под конъюнктиву обоих глаз животных по 0,5 мл 0,4%-го раствора (р-ра) дексаметазона (Белмедпрепараты, Республика Беларусь) 1 раз в нед в течение 3 мес (всего по 12 субконъюнктивальных инъекций каждому кролику) [7]. Уровень ВГД кроликов измеряли с помощью тонометра Маклакова массой 7,5 г еженедельно. Через 2 нед после выполнения 12-й инъекции р-ра стероида из эксперимента вывели пять животных, отобранных случайным образом, с последующей энуклеацией глазных яблок. Полученный материал фиксировали для световой микроскопии.

II этап эксперимента *in vivo* выполнен на 24 кроликах со стероидной моделью глаукомы. Через 4 нед после выполнения последней субконъюнктивальной инъекции 0,4%-го р-ра дексаметазона всем животным в условиях операционной с соблюдением правил асептики и антисептики под общим наркозом севофлураном (Baxter Healthcare SA, Пуэрто Рико, США) в верхнем отделе правого глазного яблока выполняли сквозной разрез конъюнктивы склеры и несквозной надрез поверхностных слоев склеры. Парный глаз животных оставался интактным.

В зависимости от хода операции оставшихся кроликов разделили на две группы: основную группу (16 животных) и группу сравнения (8 животных). Кроликам основной группы в ходе операции, после выполнения разреза конъюнктивы глаза и поверхностных слоев склеры, на зону вмешательства накладывали гемостатическую губку, пропитанную 0,05%-м р-ром циклоспорина А (Allergan, США). В зависимости от продолжительности аппликации антиметаболита животных основной группы разделили на две подгруппы: подгруппа «а» (8 кроликов) – длительность аппликации препарата составила 3 мин; подгруппа «б» (8 кроликов) – 6 мин.

Кроликам группы сравнения (8 животных) на зону вмешательства на 3 мин накладывали гемостатическую губку без р-ра циклоспорина А. По окончании аппликации гемостатическую губку у кроликов всех групп удаляли, на разрез конъюнктивы склеры накладывали два узловых шва, закапывали р-р тобрекса. В послеоперационном периоде всем животным однократно внутримышечно вводили р-р гентамицина сульфата (НПО «Микроген», Россия) из расчета 5 мг/кг массы тела животного, в конъюнктивальную полость оперированного глаза закапывали р-р тобрекса 3 раза/сут. На 4, 10, 14, 21-е сут после операции из эксперимента выводили по два кролика из каждой группы с последующей энуклеацией глазных яблок.

Умерщвление животных на всех этапах эксперимента осуществляли с соблюдением правил и норм

Европейского общества (86/609ЕЕС), Хельсинкской декларации и приказов Министерства здравоохранения СССР (№ 742 от 13.11.1984 и № 48 от 23.01.1985). Выведение кроликов из эксперимента выполняли при помощи ингаляции углекислого газа. Материал фиксировали с последующей окраской гематоксилином и эозином и по методу Маллори для световой микроскопии под 100- и 200-кратным увеличением. При помощи цифровой фотокамеры Canon Power Shot G10 (Япония) для каждого среза выполняли фоторегистрацию 10 случайных полей зрения. Цифровые фотографии подвергали морфометрии с использованием программы ImageJ 1.46 (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) и плагина Cell Counter, с помощью которых подсчитывали абсолютное и относительное содержание клеток в конъюнктиве и склере глаз кроликов в области операции.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программы IBM SPSS Statistics 20. Для оценки нормальности распределения результатов исследования применяли тест Колмогорова – Смирнова. При несоответствии распределения показателей нормальному закону распределения использовали *U*-критерий Манна – Уитни. Результаты представлены как  $M \pm SD$ , где  $M$  – среднее выборочное,  $SD$  – стандартное отклонение. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исходный уровень ВГД у всех кроликов (100%) был в пределах нормы для животных данного вида, составляя  $13,7 \pm 4$  мм рт. ст. [8]. После моделирования стероидной глаукомы у всех экспериментальных животных отмечено повышение уровня ВГД обоих глаз в 3,5 раза от первоначального значения – до  $47 \pm 6$  мм рт. ст. ( $p = 0,041$ ). При осмотре глазного дна у всех кроликов отмечалось постепенное расширение и углубление физиологической экскавации диска зрительного нерва с формированием к концу

3-го мес эксперимента глаукомной экскавации, что подтверждалось результатами световой микроскопии. Со стороны структур угла передней камеры у экспериментальных животных, по данным световой микроскопии, обнаруживались характерные для глаукомы патоморфологические изменения в виде частичного лизиса трабекулярных пластин дренажной системы глаз кроликов с образованием плотных конгломератов между пластинами и облитерацией щелей между ними. Обнаруживались зоны локальной эктазии Шлеммова канала, чередовавшиеся с участками его полной облитерации.

После инструментального и морфологического подтверждения развития стероидной глаукомы у кроликов приступили к анализу II этапа эксперимента *in vivo* – изучению влияния интраоперационной аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорина А на регенерацию конъюнктивы и склеры кроликов с индуцированной глаукомой.

По данным световой микроскопии, на 4-е сут после операции у кроликов подгруппы «а» основной группы с интраоперационной аппликацией 0,05%-го р-ра циклоспорина А в течение 3 мин в области вмешательства обнаруживались локальные участки деструкции эпителия конъюнктивы, в строме – отек и фрагментация пучков коллагеновых волокон, между которыми формировались множественные пространства. В склере в области операционной раны пучки коллагеновых волокон располагались во взаимно перпендикулярных направлениях, однако волокна были гомогенными и достаточно плотно прилегали друг к другу, промежутки между ними практически отсутствовали. Единичные сосуды склеры были расширены, полнокровны (рис. 1, а). В клеточном составе в области вмешательства преобладали мононуклеарные лейкоциты (МНЛ) –  $819 \pm 54$  клетки (53,9%) в поле зрения, численность полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЛ) и фибробластов составляла  $182 \pm 24$  (12,2%) и  $516 \pm 57$  клеток (33,9%) в поле зрения соответственно.

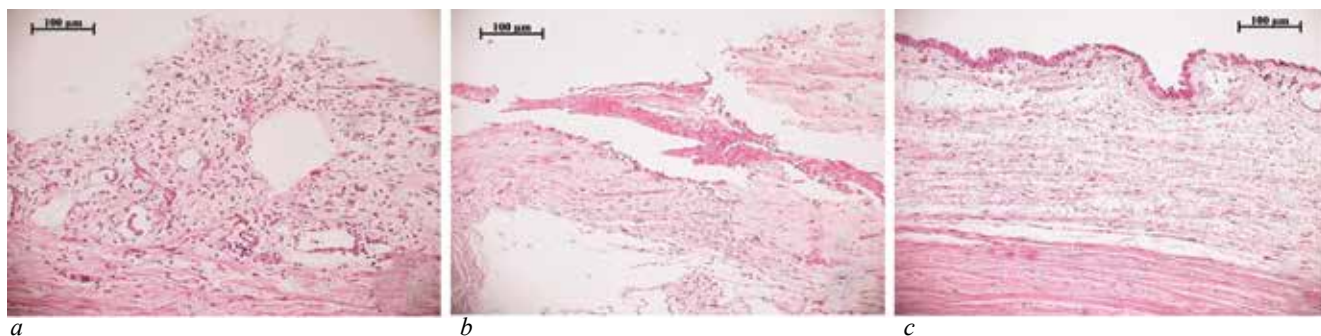


Рис. 1. Состояние конъюнктивы и склеры глаз экспериментальных животных в области вмешательства на 4-е сут после операции: а – после 3-минутной аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорина А, б – после 6-минутной аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорина А, в – без аппликации р-ра антимагнетита. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$

У животных подгруппы «b» основной группы на 4-е сут после операции в области вмешательства с аппликацией р-ра антиметаболита длительностью 6 мин обнаруживались выраженная деструкция эпителия конъюнктивы, в строме – значительный отек, фрагментация коллагеновых волокон, множественные экстравазальные скопления эритроцитов, в склере – отек, геморрагии, сгустки фибрина (см. рис. 1, b). В клеточном составе преобладали МНЛ –  $283 \pm 51$  клетка (59,1%). Количество ПМЛ составляло  $53 \pm 4$  клетки (33,9%) в поле зрения. Численность фибробластов –  $143 \pm 22$  клетки (29,8%), что в 3,6 раза ниже уровня у кроликов подгруппы «a» основной группы ( $p = 0,038$ ).

У кроликов группы сравнения на 4-е сут после операции в зоне вмешательства без аппликации р-ра антиметаболита обнаруживались истончение и уплощение эпителия конъюнктивы, в склере – отек и расслоение коллагеновых фибрилл (см. рис. 1, c). В клеточном составе преобладали МНЛ –  $1\,961 \pm 236$  клеток (47,0%) и фибробласты –  $1\,836 \pm 218$  клеток (44,1%) в поле зрения. Численность фибробластов превышала таковую у кроликов подгрупп «a» и «b» основной группы в 3,6 раза ( $p = 0,043$ ) и в 12,8 раза ( $p = 0,031$ ) соответственно. Плотность ПМЛ составляла  $375 \pm 15$  клеток (8,9%) в поле зрения.

На 10-е сут у животных подгруппы «a» основной группы в области вмешательства с аппликацией 0,05%-го р-ра циклоспорино А длительностью 3 мин локальные дефекты конъюнктивы были полностью эпителизированы за счет многослойного плоского эпителия. Строма конъюнктивы глаза была рыхлой, утолщенной за счет диффузного отека, ближе к склере в ней обнаруживались продольно расположенные полости, выстланные однослойным плоским эпителием. В склере в области вмешательства наблюдалось расслоение пучков коллагеновых волокон, однако сами пучки выглядели структурированными. В клеточном составе преобладали фибробласты –  $948 \pm 49$  клеток (68,4%) в поле зрения, при этом их количество увеличилось в 1,8 раза по сравнению с уровнем на 4-е сут после операции ( $p = 0,038$ ). Численность ПМЛ составляла  $21 \pm 4$  клетки (1,5%) в поле зрения, что в 8,9 раза ( $p = 0,046$ ) меньше уровня на 4-е сут после операции. Плотность МНЛ сократилась в 2,0 раза ( $p = 0,037$ ) по сравнению с показателем на 4-е сут после операции, составив  $417 \pm 36$  клеток (30,1%) в поле зрения.

У кроликов подгруппы «b» основной группы на 10-е сут после оперативного вмешательства с аппликацией 0,05%-го р-ра циклоспорино А в течение 6 мин в области хирургической травмы участки деструкции эпителия конъюнктивы уменьшились по

площади, строма оболочки была резко истончена. Сосуды конъюнктивы оперированного глаза были умеренно расширены. В склере пучки коллагеновых волокон были ориентированы параллельно друг другу, однако имели разную толщину. В клеточном составе преобладали фибробласты –  $779 \pm 35$  клеток (68,2%) в поле зрения, что в 5,4 раза ( $p = 0,045$ ) превышало уровень на 4-е сут после операции. При этом численная плотность клеток фибробластической популяции была 1,2 раза меньше, чем у кроликов подгруппы «a» основной группы на 10-е сут после вмешательства ( $p = 0,035$ ). Количество ПМЛ уменьшилось в 2,2 раза ( $p = 0,042$ ) по сравнению с показателем у животных подгруппы «b» основной группы на 4-е сут после операции, составив  $24 \pm 3$  клетки (2,1%) в поле зрения. Численность МНЛ увеличилась до  $340 \pm 17$  клеток (29,7%) в поле зрения, что в 1,2 раза ( $p = 0,039$ ) превышало уровень у кроликов подгруппы «b» основной группы на 4-е сут после операции.

У кроликов группы сравнения на 10-е сут после операции без аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорино А в области хирургической травмы конъюнктивa имела нормальное строение, в склере пучки коллагена были толстыми и плотно прилегали друг к другу. В клеточном составе преобладали фибробласты –  $3\,174 \pm 149$  клеток (80,0%) в поле зрения, что в 1,7 раза ( $p = 0,034$ ) превышало их уровень на 4-е сут после вмешательства, а также в 3,3 раза ( $p = 0,031$ ) и 4,1 раза ( $p = 0,027$ ) – показатель у кроликов подгрупп «a» и «b» основной группы на 10-е сут после операции соответственно. Плотность ПМЛ уменьшилась в 2,4 раза ( $p = 0,031$ ) по сравнению с уровнем на 4-е сут после операции, составив  $159 \pm 8$  клеток (4%) в поле зрения. Число МНЛ равнялось  $634 \pm 31$  клетка (16%) в поле зрения, сократившись в 3,1 раза ( $p = 0,043$ ) по сравнению с их уровнем на 4-е сут.

На 14-е сут после операции у животных подгруппы «a» основной группы с аппликацией р-ра антиметаболита в течение 3 мин в зоне вмешательства эпителий конъюнктивы имел нормальное строение, однако на отдельных участках обнаруживались зоны истончения поверхностных слоев и утолщение стромы за счет остаточного отека. Ближе к склере в строме конъюнктивы выявлялись продольно расположенные каналы, выстланные однослойным плоским эпителием. В склере в области операционной раны наблюдалось расслоение пучков коллагеновых волокон. В клеточном составе преобладали фибробласты –  $1\,311 \pm 124$  клетки (69,5%) в поле зрения, и их численность увеличилась в 1,4 раза ( $p = 0,035$ ) по сравнению с уровнем у кроликов подгруппы «a» основной группы на 10-е сут после операции. Плотность ПМЛ составляла  $84 \pm 5$  клеток (4,4%) в

поле зрения, и их количество увеличилось в 4,1 раза ( $p = 0,039$ ) по сравнению с показателем у животных подгруппы «а» основной группы на 10-е сут. Уровень МНЛ уменьшился до  $492 \pm 20$  клеток (26,1%) в поле зрения, при этом не выявлено статистически значимых отличий с уровнем показателя у кроликов подгруппы «а» основной группы на 10-е сут после операции ( $p = 0,062$ ).

У кроликов подгруппы «b» основной группы на 14-е сут после вмешательства с аппликацией р-ра антиметаболита в течение 6 мин в зоне хирургической травмы конъюнктивы была покрыта многослойным плоским эпителием, субэпителиально обнаруживался незначительный отек. Строма конъюнктивы была рыхлой. Пучки коллагеновых волокон склеры в области вмешательства располагались рыхло. В клеточном составе преобладали фибробласты –  $867 \pm 44$  клетки (65%) в поле зрения, при этом не выявлено статистически значимого отличия ( $p = 0,053$ ) с их численной плотностью у животных подгруппы «b» основной группы на 10-е сут после хирургической манипуляции. Уровень МНЛ составлял  $413 \pm 32$  клетки (31%) в поле зрения, статистически значимой разницы ( $p = 0,057$ ) при сравнении с показателем кроликов подгруппы «b» основной группы на 10-е сут после операции не выявлено. Численность ПМЛ увеличилась до  $53 \pm 2$  клеток (4%) в поле зрения, превысив в 2,2 раза ( $p = 0,029$ ) показатель у кроликов подгруппы «b» основной группы на 10-е сут.

У кроликов группы сравнения на 14-е сут после операции без аппликации р-ра антиметаболита конъюнктивы

глаза в зоне вмешательства имела нормальное строение и была плотно сращена с поверхностными слоями склеры. Волокна склеры располагались плотно друг к другу. Среди клеток в зоне хирургической травмы преобладали фибробласты –  $1\,972 \pm 112$  клеток (84%) в поле зрения, что превышало показатель в подгруппах «а» и «b» основной группы на 14-е сут в 1,5 раза ( $p = 0,047$ ) и в 2,3 раза ( $p = 0,038$ ) соответственно. Плотность ПМЛ уменьшилась до  $117 \pm 5$  клеток (5%) в поле зрения, что в 1,4 раза ( $p = 0,047$ ) было меньше такового на 10-е сут. Уровень МНЛ составлял  $258 \pm 14$  клеток (11%) в поле зрения, уменьшившись в 2,5 раза ( $p = 0,038$ ) по сравнению с показателем на 10-е сут.

На 21-е сут у животных подгруппы «а» основной группы после операции с аппликацией 0,05%-го р-ра циклоспорина А в течение 3 мин конъюнктивы глаза в зоне хирургической травмы имела нормальное строение и была отделена от подлежащей склеры узким щелевидным пространством. Коллагеновые волокна склеры располагались упорядоченно (рис. 2, а). В клеточном составе преобладали фибробласты –  $839 \pm 44$  клетки (69,7%) в поле зрения, что было в 1,6 раза ( $p = 0,036$ ) меньше по сравнению с уровнем на 14-е сут после операции. Количество ПМЛ и МНЛ составляло  $20 \pm 2$  клетки (1,7%) и  $344 \pm 11$  клеток (28,6%) в поле зрения соответственно. При этом уровень ПМЛ уменьшился в 4,3 раза ( $p = 0,042$ ), МНЛ – в 1,4 раза ( $p = 0,031$ ) по сравнению с таковыми показателями на 14-е сут.

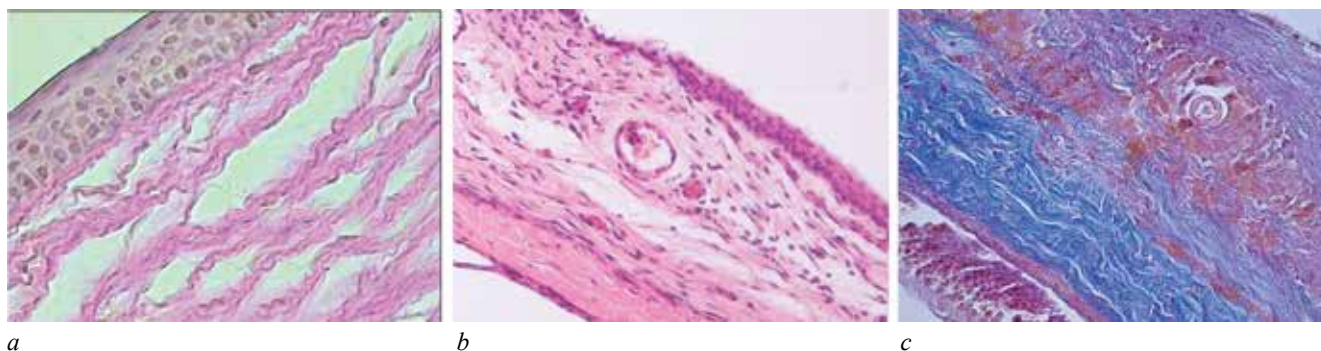


Рис. 2. Состояние конъюнктивы и склеры глаз экспериментальных животных в области вмешательства на 21-е сут после операции: а – после 3-минутной аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорина А, б – после 6-минутной аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорина А, с – без аппликации р-ра антиметаболита. Окраска: а, б – гематоксилином и эозином,  $\times 100$ ; с – по Маллори,  $\times 100$

У животных подгруппы «b» основной группы на 21-е сут после операции с аппликацией 0,05%-го р-ра циклоспорина А в течение 6 мин конъюнктивы глаза в зоне хирургической травмы имела нормальное строение и была отделена от подлежащей склеры узким щелевидным пространством. В строме

конъюнктивы выявлялись сформированные каналы, выстланные однослойным плоским эпителием. В склере в области вмешательства пучки коллагеновых волокон располагались рыхло, однако были ориентированы параллельно друг другу (см. рис. 2, б). В клеточном составе преобладали фибробласты –

799 ± 13 клеток (69,3%) в поле зрения, при этом не выявлено статистически значимых отличий ( $p = 0,058$ ) при сравнении с данным показателем на 14-е сут. Количество МНЛ уменьшилось в 1,3 раза по сравнению с 14-ми сут, составив 320 ± 14 клеток (27,7%) в поле зрения ( $p = 0,044$ ). Численность ПМЛ сократилась до 35 ± 3 клеток (3%) в поле зрения, уменьшившись в 1,5 раза ( $p = 0,042$ ).

У кроликов группы сравнения на 21-е сут после операции без местного применения 0,05%-го р-ра циклоспорина А конъюнктура глаза в зоне хирургической травмы имела нормальное строение и была плотно спаяна с подлежащей склерой (см. рис. 2, с). В клеточном составе преобладали фибробласты – 1 209 ± 132 клетки (83%) в поле зрения. Плотность клеток данной популяции уменьшилась по сравнению с 14-ми сут в 1,6 раза ( $p = 0,045$ ), однако в 1,4 раза ( $p = 0,048$ ) превышала данный показатель в подгруппе «а» основной группы и в 1,5 раза ( $p = 0,046$ ) в подгруппе «б» основной группы. Количество ПМЛ составляло 116 ± 5 клеток (8%) в поле зрения, при этом статистически значимого отличия от показателя на 21-е сут не выявлено ( $p = 0,059$ ). Численность МНЛ сократилась в 2,0 раза ( $p = 0,037$ ) от уровня на 14-е сут, составив 131 ± 7 клеток (9%) в поле зрения.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам эксперимента, течение воспалительно-репаративной реакции в конъюнктиве и склере после операции на глазах кроликов со стероидной моделью глаукомы группы сравнения характеризуется последовательной сменой клеточных фаз в зоне хирургического вмешательства с формированием на 21-е сут конъюнктивно-склерального рубца. Применение в ходе вмешательства местной аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорина А оказало существенное влияние на течение послеоперационного периода, зависящее от длительности экспозиции.

Так, например, выявлено уменьшение миграции в зону хирургической травмы клеток, ответственных за интенсивность воспаления. На 4-е сут после операции клеточная плотность в области вмешательства в подгруппе «а» основной группы была в 2,7 раза меньше ( $p = 0,043$ ), чем в группе сравнения, превышая при этом показатели подгруппы «б» в 3,2 раза ( $p = 0,036$ ). Подобная динамика наблюдалась вплоть до 14-х сут (таблица).

Интраоперационная аппликация антимагнетина оказала выраженное ингибирующее влияние и на миграцию фибробластов в зону хирургической травмы. На 4-е сут после операции плотность фибробла-

стов в зоне вмешательства в подгруппе «а» была в 3,6 раза меньше ( $p = 0,043$ ), чем в группе сравнения, в то время как в подгруппе «б» – в 12,8 раза меньше ( $p = 0,031$ ), чем в группе сравнения.

Таблица

| Динамика клеточной плотности инфильтрата в 1 мм <sup>2</sup> среза у кроликов экспериментальных групп со стероидной моделью глаукомы, $M \pm SD$ |                          |               |                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------------|------------------|
| Срок наблюдения, сут                                                                                                                             | Экспериментальные группы |               |                  |
|                                                                                                                                                  | Основная группа          |               | Группа сравнения |
|                                                                                                                                                  | Подгруппа «а»            | Подгруппа «б» |                  |
| 4                                                                                                                                                | 1 518 ± 51***            | 479 ± 22*     | 4 172 ± 181      |
| 10                                                                                                                                               | 1 386 ± 43*              | 1 143 ± 47*   | 3 967 ± 172      |
| 14                                                                                                                                               | 1 887 ± 84               | 1 333 ± 78*   | 2 347 ± 124      |
| 21                                                                                                                                               | 1 203 ± 54               | 1 154 ± 56    | 1 456 ± 97       |

\*  $p < 0,05$  при сопоставлении с показателями у кроликов, прооперированных без применения местной аппликации 0,05%-го р-ра циклоспорина А (группа сравнения); \*\*  $p < 0,05$  при сравнении показателей подгруппы «а» (аппликация антимагнетина 3 мин) с показателями подгруппы «б» (аппликация антимагнетина 6 мин) основной группы.

На 10-е сут количество фибробластов в зоне хирургической травмы в группе сравнения увеличилось в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). В подгруппах «а» и «б» основной группы сдвиг клеточного состава в зоне вмешательства в сторону фибробластической популяции произошел только на 14-е сут после операции.

Как следствие, на 21-е сут после операции у кроликов подгруппы «а» основной группы в зоне хирургической травмы сформировалось лишь частичное, в отличие от животных группы сравнения, конъюнктивно-склеральное сращение. У кроликов же подгруппы «б» основной группы даже на 21-е сут в зоне вмешательства сохранялось щелевидное пространство между конъюнктивой глаза и подлежащей склерой. Вероятно, подавление циклоспорином А активации Т-лимфоцитов за счет образования связей с циклофилинами в цитоплазме клеток, а также блокировки каталитической и регуляторной субъединиц кальцинеурина приводит к снижению синтеза провоспалительных цитокинов. Это, в свою очередь, замедляет течение воспалительно-репаративной реакции в зоне вмешательства [9].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Локальная аппликация 0,05%-го р-ра циклоспорина А в ходе операции на конъюнктиве и склере глаз кроликов со стероидной моделью глаукомы существенно замедляет течение воспалительно-репаративной реакции в зоне вмешательства, уменьшая клеточную плотность в 2,9–3,5 раза и препятствуя рубцеванию тканей. Выраженность антипролифе-

ративного эффекта препарата зависит от длительности аппликации: при экспозиции в течение 3 мин плотность распределения фибробластов в области операции в 3,6 раза меньше показателя у кроликов группы сравнения, при экспозиции в течение 6 мин – в 12,8 раза. Полученные результаты представляют интерес при разработке методов профилактики рубцевания после антиглаукомных операций.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Национальное руководство по глаукоме: для практикующих врачей; под ред. Е.А. Егорова, Ю.С. Астахова, В.П. Еричева. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015: 456.
2. Белоусова Н.Ю., Полтанова Т.И. Возможности применения цитостатиков в офтальмологии. *Казанский медицинский журнал*. 2019; 100 (4): 673–679. DOI: 10.17816/KMJ2019-673.
3. Lindemann F., Plange N., Kuerten D. et al. Three-year follow-up of trabeculectomy with 5-fluorouracil. *Ophthalmic Res*. 2017; 58 (2): 74–80. DOI: 10.1159/000464446.
4. Fiscella R., Leiter C.W., Massoomi F., Noecker R., Sheybani A. Adjunctive antifibrotic therapy with mitomycin c and 5-fluorouracil: a review of their use in glaucoma surgery and considerations around ophthalmic compounding. *Current Trends in Ophthalmology*. 2019; 2 (1): 154–169. DOI: 10.18314/ctoy.v2i1.1670.
5. Amoozgar B., Lin S. C., Han Y. A role for antimetabolites in glaucoma tube surgery: current evidence and future directions. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2016; 27 (2): 164–169. DOI: 10.1097/ICU.0000000000000244.
6. Бикбов М.М., Хуснитдинов И.И., Маннанова Р.Ф. Применение дренажей из дигеля и ксеноколлагена в хирургии глаукомы. Обзор литературы. *Практическая медицина*. 2017; 1 (110): 131–134.
7. Газизова И.Р., Алексеев В.Н., Никитин Д.Н. Экспериментальное воспроизведение глаукомного процесса. *Офтальмологические ведомости*. 2013; 6 (3): 43–50.
8. Порфильев И.А., Гончар О.П. Внутриглазное давление у кроликов. Методы определения. Нормальные показатели. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Сельскохозяйственные науки. Животноводство*. 2005; 12: 73–75.
9. Matsuda S., Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology*. 2000; 47 (2-3): 119–125. DOI: 10.1016/s0162-3109(00)00192-2.

### Вклад авторов

Жигальская Т.А. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, Дзюман А.Н., Хлусов И.А. – анализ и интерпретация данных. Крылова А.А. – анализ и интерпретация данных, написание текста статьи. Кривошеина О.И. – написание текста статьи, обоснование ее текста и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

### Сведения об авторах

**Жигальская Татьяна Александровна**, врач-офтальмолог, офтальмологическая клиника, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3110-4112.

**Дзюман Анна Николаевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0795-0987.

**Крылова Анна Андреевна**, канд. мед. наук, ассистент, кафедра офтальмологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-8009-6302.

**Кривошеина Ольга Ивановна**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой офтальмологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7509-5858.

**Хлусов Игорь Альбертович**, д-р мед. наук, профессор, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ; профессор, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3465-8452.

(✉) **Крылова Анна Андреевна**, e-mail: krilovane@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.07.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Различные популяции ЕрСам-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза

Кайгородова Е.В.<sup>1,2</sup>, Очиров М.О.<sup>1</sup>, Молчанов С.В.<sup>1</sup>, Рогачев Р.Р.<sup>2</sup>, Дьяков Д.Д.<sup>2</sup>, Чернышова А.Л.<sup>1</sup>, Шпилёва О.В.<sup>1</sup>, Ковалев О.В.<sup>2</sup>, Вторушин С.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Канцероматоз брюшины является одним из наиболее неблагоприятных факторов прогрессирования рака яичников. Он часто сопровождается накоплением жидкости в брюшной полости – асцитом. Прогностические факторы, связанные со злокачественным асцитом, изучены недостаточно.

**Цель.** Оценка различных популяций ЕрСам-положительных опухолевых клеток в асцитической жидкости, их связь с наличием перитонеальных «инвазивных» имплантатов и степенью распространенности канцероматоза по шкале Predictive Index Value (PIV) у больных раком яичников.

**Материалы и методы.** В проспективное исследование включены 22 больных с впервые диагностированным раком яичников, с Ic–IV стадиями по системе FIGO, в возрасте 36–76 лет, поступившие на лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Материалом для исследования служила асцитическая жидкость, стабилизированная ЭДТА, взятая во время лапароскопии. Количество различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости определяли методом многоцветной проточной цитометрии и проточной цитометрии с визуализацией. Степень канцероматоза определяли по шкале PIV.

**Результаты.** Показано, что клеточный состав асцитической жидкости больных раком яичников представляет собой гетерогенную популяцию. Положительная корреляционная связь с PIV, характеризующим степень распространенности канцероматоза, наблюдалась у асцитических клеток с фенотипом ЕрСам+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ ( $r = 0,58$ ;  $p = 0,004$ ) и у атипичных/гибридных форм клеток ЕрСам+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/- ( $r = 0,51$ ;  $p = 0,01$ ).

**Заключение.** Полученные результаты показывают большую гетерогенность опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников. Обнаруженный факт наличия атипичных (гибридных форм) ЕрСам-положительных клеток представляет интерес для клеточной биологии и требует дальнейших исследований.

**Ключевые слова:** гетерогенность опухолевых клеток, канцероматоз, Predictive Index Value, асцитическая жидкость, рак яичников, жидкостная биопсия.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Президента РФ (грант № МД-2017.2020.7).

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 4 от 02.04.2018).

**Для цитирования:** Кайгородова Е.В., Очиров М.О., Молчанов С.В., Рогачев Р.Р., Дьяков Д.Д., Чернышова А.Л., Шпилёва О.В., Ковалев О.В., Вторушин С.В. Различные популяции ЕрСам-положительных

клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 44–53. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-44-53>.

## Dissimilar populations of EpCam-positive cells in ascitic fluid of ovarian cancer patients: a relationship with the degree of carcinomatosis

Kaigorodova E.V.<sup>1,2</sup>, Ochirov M.O.<sup>1</sup>, Molchanov S.V.<sup>1</sup>, Rogachev R.R.<sup>2</sup>, Dyakov D.A.<sup>2</sup>, Chernyshova A.L.<sup>1</sup>, Shpileva O.V.<sup>1</sup>, Kovalev O.I.<sup>2</sup>, Vtorushin S.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS) 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University (SSMU) 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Background.** Peritoneal carcinomatosis (PC) is one of the most unfavorable factors of ovarian cancer progression. It is often accompanied by accumulation of fluid in the abdominal cavity, which is called ascites. However, prognostic factors associated with malignant ascites are not well understood.

**The aim** of this study was to evaluate dissimilar populations of EpCAM-positive cells in ascitic fluid and their relationship with the presence of invasive peritoneal implants and the prevalence of carcinomatosis on the Predictive Index Value (PIV) scale in ovarian cancer patients.

**Materials and methods.** The prospective study included 22 patients aged 36–76 years with newly diagnosed FIGO stage Ic–IV ovarian cancer, who were admitted for treatment to Cancer Research Institute of Tomsk NRMC. The study material included EDTA-stabilized ascitic fluid sampled during laparoscopy.

Various populations of ascites tumor cells were identified by laser multicolor flow cytometry. The degree of carcinomatosis was determined according to the PIV scale.

**Results.** The study identified twelve populations of EpCAM-positive cells in the ascitic fluid of ovarian cancer patients. Epcam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ cells ( $r = 0.58$ ;  $p = 0.004$ ) and atypical (hybrid) EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/- cells ( $r = 0.51$ ;  $p = 0.01$ ) had a positive correlation with the PIV index.

**Conclusion.** The obtained results show a high degree of heterogeneity of tumor cells in the ascitic fluid of ovarian cancer patients. Identified atypical (hybrid) forms of EpCam-positive cells are of great interest for cell biology and require further investigation.

**Key words:** heterogeneity of tumor cells, carcinomatosis, Predictive Index Value (PIV), ascitic fluid, ovarian cancer, liquid biopsy.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the President of the Russian Federation (grant No. MD-2017.2020.7).

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Cancer Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 4 of 02.04.2018).

**For citation:** Kaigorodova E.V., Ochirov M.O., Molchanov S.V., Rogachev R.R., Dyakov D.A., Chernyshova A.L., Shpileva O.V., Kovalev O.I., Vtorushin S.V. Dissimilar populations of EpCam-positive cells in ascitic fluid of ovarian cancer patients: a relationship with the degree of carcinomatosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 44–53. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-44-53>.

## ВВЕДЕНИЕ

Рак яичников характеризуется уникальным метастатическим процессом. Самый ранний и наиболее

распространенный путь метастазирования — имплантационный. Он часто сопровождается накоплением жидкости в брюшной полости — асцитом. До 38% случаев асцитов, ассоциированных со злокачественными

опухолями у женщин, приходится на рак яичников. Асцитическая жидкость является перспективным биологическим материалом для получения информации о характере опухолевого процесса. В отличие от сыворотки, она является более информативной, особенно на ранней стадии злокачественного процесса [1].

В целом асцит – это многокомпонентная, динамическая система, где все элементы в совокупности способствуют формированию провоспалительной и иммуносупрессивной среды. Он состоит из сложной смеси клеточных популяций и богатого цитокинового профиля [2]. Разнообразие клеток обусловлено несколькими факторами. Во-первых, фенотипической пластичностью, возникающей под влиянием сигналов микроокружения от иммунных, стромальных клеток, а также растворимых факторов. Во-вторых, гетерогенность появляется под действием гидродинамических сил, которые значительно изменяют морфологию клеток [3]. В-третьих, источником опухолевых клеток в асцитической жидкости является сама опухоль, в частности рак яичников, который представляет собой гетерогенную популяцию клеток [4].

В настоящее время гетерогенность опухолевых клеток определяют по их антигенным свойствам, спектру различных маркеров клеточной поверхности, активности ключевых сигнальных путей. При обнаружении циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в качестве специфического биомаркера, широко используют молекулу адгезии эпителиальных клеток (ЕрСам), так как она сверхэкспрессируется в более чем 70% случаев рака яичников, и ее уровень тесно связан со злокачественным асцитом, химиорезистентностью и снижением выживаемости у пациентов. Роль ЕрСам не ограничивается клеточной адгезией, есть многочисленные данные об ее участии в эпителиально-мезенхимальном переходе (ЭМП) [5]. Известно, что ЭМП позволяет клеткам разделяться, терять свою апико-базальную полярность, типичную для эпителиальных клеток, демонстрировать повышенную устойчивость к апоптозу и возвращаться к более подвижному мезенхимальному фенотипу, способствующему перитонеальной диссеминации. Эту молекулу также используют в качестве маркера стволовых опухолевых клеток (CSCs) [6].

В дополнение к ЕрСам для идентификации ЦОК используется рецептор CD44, широко представленный на поверхности опухолевых клеток. Он опосредует прикрепление опухолевых клеток яичника к перитонеальному мезотелию за счет связывания с гиалуроновой кислотой (НА). CD44, как биомаркер, имеет несколько преимуществ. Во-первых, нормальные клетки имеют низкий уровень экспрессии CD44

и плохую адгезию к НА. Во-вторых, НА является одним из основных компонентов внеклеточного матрикса опухоли, который помимо связывания с ЦОК поддерживает целостность клеток [7].

Еще одним маркером опухолевых клеток в асцитической жидкости выступает CD24, который экспрессируется в 70,1% случаев рака яичников и является независимым предиктором выживания. CD24 увеличивает метастатический потенциал опухолевых клеток, так как является лигандом для Р-селектина, рецептора адгезии на активированных эндотелиальных клетках. Кроме того, CD24 индуцирует ЭМП, который приводит к формированию высокопролиферативного фенотипа, устойчивости к химиотерапии, посредством активации PI3K/Akt, NF-κB и ERK сигнальных каскадов [8].

Общей чертой ЭМП является уменьшение экспрессии эпителиального кадгерина (Е-кадгерина) и сопутствующее увеличение или экспрессия *de novo* нейронного кадгерина (N-кадгерина). Это так называемое переключение кадгерина связано с усилением миграционного и инвазивного поведения опухолевых клеток. Повышенная экспрессия N-кадгерина в солидных опухолях способствует «коллективной» миграции клеток, усилению передачи сигналов фактора роста фибробластов и модулирует канонический путь Wnt, что приводит к формированию агрессивного фенотипа [9].

CD133 – наиболее часто используемый антиген клеточной поверхности для обнаружения и выделения стволовых опухолевых клеток при различных злокачественных заболеваниях, включая рак яичников. Высокая экспрессия CD133 в опухолях считается прогностическим маркером прогрессирования заболевания. Несмотря на то, что функциональная роль CD133 при злокачественных новообразованиях до конца не раскрыта, большинство исследований предполагают, что CD133 обладает значительной прогностической ценностью для оценки общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования при различных видах рака [10].

Перитонеальная диссеминация, обусловленная асцитом, является одним из наиболее неблагоприятных факторов прогрессирования злокачественных опухолей. В 2006 г. итальянскими авторами предложена шкала Predictive Index Value (PIV) для оценки распространенности канцероматоза, учитывающая состояние париетальной брюшины, диафрагмальной поверхности брюшины, брыжейки кишки, сальника, стенки кишки, желудка, печени. Авторами показано, что при  $PIV \geq 8$  вероятность резекции R0 практически равна 0, соответственно, рекомендовано проведение неоадьювантной химиотерапии [11].

Учитывая вышеизложенное, актуальным представляется исследование различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников, их связь с наличием перитонеальных «инвазивных» имплантатов и степенью распространенности карциноматоза по шкале PIV.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. В проспективное исследование включены 22 больные с впервые диагностированным раком яичников, с Ic–IV стадиями по системе FIGO, в возрасте 36–76 лет, поступившие на лечение в отделение гинекологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Всем женщинам с целью

хирургического стадирования была проведена лапароскопия с помощью стойки Karl Storz (Германия) с последующим морфологическим исследованием биоптатов и асцитической жидкости. Также оценена распространенность процесса по шкале PIV. Материалом для исследования служили 5 мл стабилизированной ЭДТА асцитической жидкости, взятой во время лапароскопии.

*Определение Predictive Index Value.* PIV у больных раком яичников был подсчитан при использовании видеоматериалов, полученных во время лапароскопии с помощью стойки Karl Storz. Шкала PIV (Fagotti score, range 0–14) позволяет оценить распространенность канцероматоза, учитывая состояние париетальной брюшины, диафрагмальной поверхности брюшины, брыжейки кишки, сальника, стенки кишки, желудка, печени (табл. 1) [11].

Таблица 1

| Определение Predictive Index Value для оценки распространенности канцероматоза |                                                                                                                         |                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Показатель                                                                     | Баллы = 2                                                                                                               | Баллы = 0                                                                       |
| Перитонеальный канцероматоз                                                    | Нерезектабельное массивное поражение брюшины                                                                            | Канцероматоз изолированных областей, хирургически удалимый при перитонеумэктоми |
| Диафрагмальная поверхность брюшины                                             | Распространенный инфильтрирующий канцероматоз или сливающиеся узлы различных отделов диафрагмальной поверхности брюшины | Изолированное поражение брюшины                                                 |
| Брыжейка кишки                                                                 | Большие инфильтрирующие узлы или вовлечение корня брыжейки                                                              | Малые узлы, потенциально резектабельные с помощью аргонно-плазменной коагуляции |
| Сальник                                                                        | Распространение опухоли до большой кривизны желудка                                                                     | Изолированное поражение сальника                                                |
| Инфильтрация кишечника                                                         | Предполагается резекция кишки или милиарный канцероматоз                                                                | –                                                                               |
| Инфильтрация желудка                                                           | Неопластическое поражение стенки желудка                                                                                | –                                                                               |
| Поражение печени                                                               | Поражение любой поверхности печени                                                                                      | –                                                                               |

*Оценка различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости методом многоцветной проточной цитометрии.* Методом многоцветной проточной лазерной цитометрии на аппарате BDFACSCanto (США) с помощью программного обеспечения BD FACSDiva и NovoExpress определяли различные популяции асцитических опухолевых клеток (с признаками стволовости, признаком ЭМП, без признаков стволовости и ЭМП, с сочетанием этих признаков), а также атипичные/гибридные популяции опухолевых клеток.

Для этого асцитическую жидкость инкубировали с мечеными различными флуорохромами моноклональными антителами к CD45: клон HI30 (APC/Cy7) (Biolegend, США), EpCam клон 9C4 (PE) (Biolegend, США), CD44 клон BJ18 (FITC) (Biolegend, США), CD24 клон ML5 (PE/Cy7) (Biolegend, США), N-Cadherin клон 8C11 (PerCP/Cy5.5) (Biolegend, США), CD133 клон AC-133 (APC) (Miltenyi Biotec,

США). После чего эритроциты, находящиеся в образце, лизировали раствором BD FACS lysing solution и дважды отмывали CellWash буфером, затем к клеточному осадку добавляли 1 мл BD Flow. Все образцы хранились в темноте при 4 °C и были проанализированы на проточном цитофлуориметре в течение часа. Уровень клеток выражали в количестве клеток в 1 мл асцитической жидкости.

*Проточная цитометрия с визуализацией.* Для визуализации выявленных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости применялась проточная цитометрия высокого разрешения с функцией микроскопии. Клетки инкубировали с мечеными флуорохромом моноклональными антителами к CD45: клон HI30 EpCam клон 9C4 (PE) (Biolegend, США), CD44 клон BJ18 (FITC) (Biolegend, США), CD24 клон ML5 (PE/Cy7) (Biolegend, США), N-Cadherin клон 8C11 (PerCP/Cy5.5) (Biolegend, США), CD133 клон AC-133 (APC) (Miltenyi Biotec, США) и DAPI

(ZytoVision, Германия). Аликвоты анализировали с помощью проточного цитометра Amnis ImageStream Mk II Imaging (Luminex, Польша). Все данные были сохранены в виде необработанных файлов изображений для анализа в программе IDEAS (версия 6.2).

**Статистический анализ.** Полученные данные обработаны методами вариационной статистики с использованием Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Значимость различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни (для независимых выборок). Также применяли корреляционный анализ Спирмена ( $r$ ). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_1-Q_3)$ . Различия считались статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате исследования с помощью многоцветной проточной цитометрии в асцитической жидкости больных раком яичников было выявлено 12 популяций EpCam-положительных клеток. Асцитические опухолевые клетки без признаков стволовости и без признаков ЭМП (AC1) – EpCam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin-; асцитические опухолевые клетки без признаков стволовости с признаком ЭМП (AC-2) – EpCam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin+; асцитические опухолевые клетки с признаком стволовости без признаков ЭМП с фенотипами EpCam+CD45-CD44+CD24-

CD133+/-Ncadherin- (AC-3), EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin- (AC-6), EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133+/-Ncadherin- (AC-8); асцитические опухолевые клетки с признаками стволовости и с ЭМП – EpCam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadherin+ (AC-4), EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133+Ncadherin+ (AC-5), EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133+Ncadherin+ (AC-7), EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133-Ncadherin+ (AC-9), EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ (AC-10), а также атипичные/гибридные формы клеток без признаков стволовости – EpCam+CD45+CD44-CD24-CD133-Ncadh+/- (AC-11) и атипичные/гибридные формы клеток с признаками стволовости – EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadh+/- (AC-12).

Показано, что у пациенток с наличием перитонеальных «инвазивных» имплантатов количество опухолевых клеток в асцитической жидкости с фенотипами EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133-Ncadherin+ и EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ значимо превышало количество данных клеток в асцитической жидкости у больных с неинвазивными перитонеальными имплантами ( $p = 0,025$  и  $p = 0,003$  соответственно). Стоит отметить, что уровень атипичных/гибридных форм клеток с признаками стволовости (EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/-) также был выше в асцитической жидкости у больных с наличием перитонеальных «инвазивных» имплантатов ( $p = 0,016$ ) (табл. 2).

Таблица 2

| Количество различных популяций EpCam-положительных клеток в асцитической жидкости у больных с наличием инвазивных и неинвазивных перитонеальных имплантатов, клеток/мл, $Me (Q_1-Q_3)$ |                                                         |                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Фенотип асцитических клеток                                                                                                                                                            | Наличие перитонеальных инвазивных имплантатов, $n = 13$ | Наличие перитонеальных неинвазивных имплантатов, $n = 9$ |
| AC-1<br>EpCam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin-                                                                                                                                          | 290 (110–4 270)                                         | 55 (0–420)<br>$p_{1-2} = 0,082$                          |
| AC-2<br>EpCam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin+                                                                                                                                          | 40 (0–1 220)                                            | 170 (0–320)<br>$p_{1-2} = 0,84$                          |
| AC-3<br>EpCam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadherin-                                                                                                                                        | 10 (0–530)                                              | 0 (0–80)<br>$p_{1-2} = 0,35$                             |
| AC-4<br>EpCam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadherin+                                                                                                                                        | 300 (30–720)                                            | 40 (0–90)<br>$p_{1-2} = 0,126$                           |
| AC-5<br>EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133+Ncadherin+                                                                                                                                          | 360 (160–740)                                           | 110 (0–283)<br>$p_{1-2} = 0,160$                         |
| AC-6<br>EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin-                                                                                                                                        | 50 (0,00–1 100)                                         | 0 (0–140)<br>$p_{1-2} = 0,640$                           |
| AC-7<br>EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133+Ncadherin+                                                                                                                                          | 312 (20–940)                                            | 0 (0–10)<br>$p_{1-2} = 0,064$                            |
| AC-8<br>EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133+/-Ncadherin-                                                                                                                                        | 170 (0–1 030)                                           | 0 (0–30)<br>$p_{1-2} = 0,194$                            |
| AC-9<br>EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133-Ncadherin+                                                                                                                                          | 2 030 (520–11 420)                                      | 150 (0–540)<br>$p_{1-2} = 0,025$                         |
| AC-10<br>EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+                                                                                                                                         | 1 640 (260–3 870)                                       | 10 (0–50)<br>$p_{1-2} = 0,003$                           |

| Фенотип асцитических клеток                          | Наличие перитонеальных инвазивных имплантов, $n = 13$ | Наличие перитонеальных неинвазивных имплантов, $n = 9$ |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| AC-11<br>EpCam+CD45+CD44-CD24-CD133-Ncadherin+/-     | 185 (29–716)                                          | 219 (18–436)<br>$p_{1-2} = 0,940$                      |
| AC-12<br>EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/- | 2 476 (813–3835)                                      | 907<br>(216–1 032)<br>$p_{1-2} = 0016$                 |

На рис. 1 и 2 показаны часть протокола многоцветной проточной цитометрии при оценке различных популяций EpCam-положительных клеток в асцитической жидкости больной раком яичников (рис. 1) и фотографии брюшной полости данной пациентки, полученные во время проведения лапароскопии (рис. 2).

На фотографиях брюшной полости виден распространенный инфильтрирующий канцероматоз и сливающиеся узлы различных отделов диафрагмальной поверхности брюшины, а также большие инфильтрирующие узлы.

В данном исследовании была проведена оценка степени канцероматоза с помощью шкалы PIV.

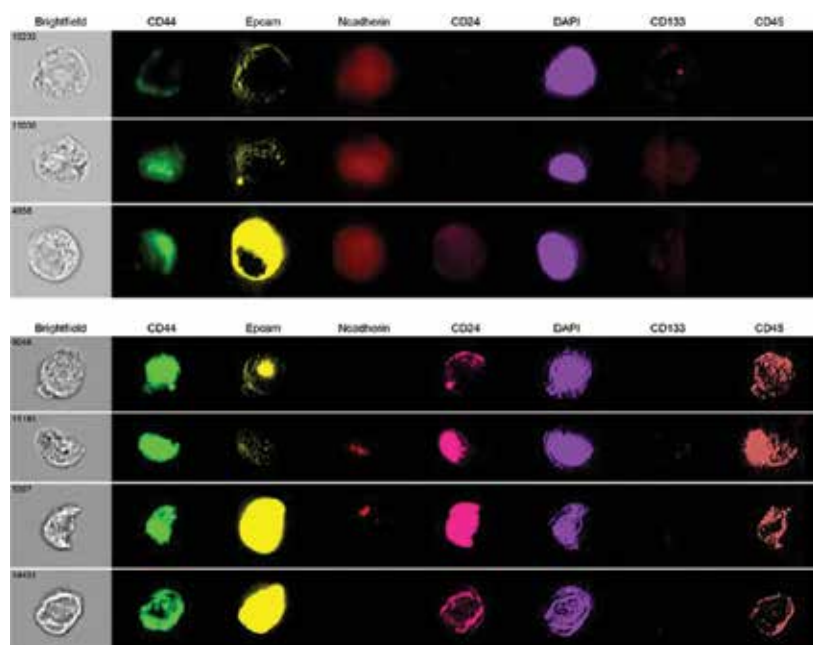


Рис. 1. Различные популяции EpCam-положительных клеток в асцитической жидкости у больной раком яичников, проточная цитометрия с визуализацией Amnis ImageStreamX (Luminex, Польша)

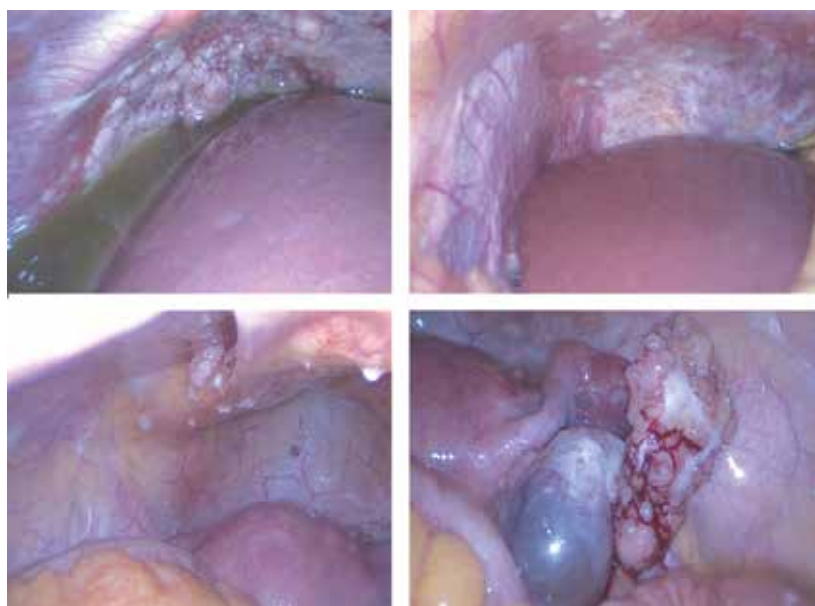


Рис. 2. Брюшная полость больной раком яичников В., 50 лет,  $T_{3c}N_xM_0$ , лапароскопия с помощью стойки Karl Storz (Германия). PIV = 8

Диапазон PIV у пациенток, вошедших в исследование, варьировал от 0 до 11. Проведенный корреляционный анализ показал, что статистически значимая положительная связь с индексом PIV наблюдалась у асцитических клеток AC-9 с фенотипом EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ ( $r = -0,58$ ;  $p = 0,004$ ) и у атипичных/гибридных форм клеток с признаками стволовости EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/- ( $r = -0,51$ ;  $p = 0,01$ ) (табл. 3).

Таблица 3

| Корреляционная связь между количеством различных популяций EpCam-положительных клеток в асцитической жидкости больных раком яичников и PIV |       |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|
| Пара показателей                                                                                                                           | $r$   | $p$   |
| AC1-PIV                                                                                                                                    | 0,32  | 0,137 |
| AC2-PIV                                                                                                                                    | -0,02 | 0,92  |
| AC3-PIV                                                                                                                                    | 0,20  | 0,35  |
| AC4-PIV                                                                                                                                    | 0,19  | 0,38  |
| AC5-PIV                                                                                                                                    | 0,29  | 0,27  |
| AC6-PIV                                                                                                                                    | 0,12  | 0,64  |
| AC7-PIV                                                                                                                                    | 0,46  | 0,07  |
| AC8-PIV                                                                                                                                    | 0,21  | 0,42  |
| AC9-PIV                                                                                                                                    | 0,34  | 0,11  |
| AC10-PIV                                                                                                                                   | 0,58  | 0,004 |
| AC11-PIV                                                                                                                                   | 0,15  | 0,49  |
| AC12-PIV                                                                                                                                   | 0,51  | 0,01  |

## ОБСУЖДЕНИЕ

В основном метастатическое распространение рака яичников происходит в результате отделения клеток от первичной опухоли в брюшную полость, заполненную злокачественным асцитом. С током жидкости клетки широко распространяются и становятся причиной вторичного роста опухоли. На всех этапах этого уникального процесса опухолевые клетки изменяют свой фенотип, коэволюционируют вместе с окружающими их фибробластами, макрофагами, адипоцитами, эндотелиальными и другими клетками.

В результате проведенного исследования в асцитической жидкости были обнаружены различные популяции опухолевых клеток: атипичные формы (гибридные клетки), как с признаками стволовости, так и без них, с признаками ЭМП и сочетанием этих признаков, стромальные и иммунные клеточные популяции, идентификация и характеристика которых могут стать полезным инструментом в прогнозировании течения заболевания и ответа на химиотерапию.

Литературные данные показывают, что из 150 различных комбинаций маркеров наиболее распространена панель из трех – CD44, CD24 и EpCam. Экспрессия этих молекул в линиях OVCAR-5, SKOV-3

и IGROV-1 соответствовала клеткам с большей колониеобразующей способностью. Эти клетки продемонстрировали короткий безрецидивный интервал *in vivo* после ксенотрансплантации и большую миграционную способность в исследовании инвазии *in vitro* по сравнению с CD44-CD24-EpCam-клетками. Кроме того, доксорубин, цисплатин и паклитаксел способствовали увеличению этой популяции, что говорит о лекарственной устойчивости, но антимюллеров гормон эффективно подавлял ее рост [12].

В нашем исследовании мы показали, что концентрации опухолевых клеток с фенотипами EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133-Ncadherin+ и EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ были значимо выше в асцитической жидкости больных с наличием перитонеальных инвазивных имплантатов, по сравнению с уровнем данных клеток в асцитической жидкости у больных с неинвазивными перитонеальными имплантатами. Следует отметить, что указанные популяции опухолевых клеток положительны по маркеру CD24. В исследовании, направленном на изучение механизмов приобретенной лекарственной резистентности, показано, что CD24+ фракция, полученная из образцов опухолевой ткани пациента с раком яичника, была относительно устойчива к цисплатину *in vitro*, по сравнению с его CD24- клетками. Кроме того, туморогенность CD24+ также превосходит таковую у CD24- клеток, о чем свидетельствует более короткий период до появления опухолей у мышей (Nude mice), которым вводили равное число CD24+ и CD24- клеток. Также обнаружено, что клетки CD24+ экспрессируют более высокие уровни мРНК некоторых генов «стволовости», включая Nestin,  $\beta$ -catenin, Bmi-1, Oct4, Oct3/4, Notch1 и Notch4, которые участвуют в модулировании многих функций стволовых клеток, и более низкий уровень мРНК Е-кадгерина, чем у CD24- клеток [13].

Полученные нами результаты клинического исследования согласуются с данными литературы. Так, многочисленные экспериментальные исследования показали, что популяция EpCam+CD44+CD24+CD133+CD117+ обладает повышенной способностью инициировать рак и (или) стимулировать метастазирование *in vivo* [13, 14]. На модели мышей (NOD/Shi-scid/IL-2R $\gamma$  null mice) продемонстрировано, что клетки CD24+ и CD133+ обладают большей способностью к сферообразованию, распространению и инициации опухоли *in vivo*. Кроме того, CD24+ клетки демонстрировали более «мезенхимальный» фенотип с более высокой экспрессией Twist1, Snail и Vimentin, что связывает маркер CD24 с фенотипом ЭМП. Интересно, что CD24- клетки также способны инициировать опухолевый рост,

хотя и в меньшей степени, чем CD24+. Вероятно, это связано с тем, что подмножество CD24- клеток со стволовыми свойствами имеют более низкую скорость пролиферации, чем клетки CD24+ [15].

Гибридные клетки и многоклеточные агрегаты, значение которых показаны при раке [16–18], также были обнаружены в нашем исследовании. Другие ученые выявили слияние клеток крови и эпителиальных клеток при карциноме легких Льюиса, а также при метастазировании эпителиальной карциномы яичника [19]. Подобные результаты были также получены для колоректального рака А.Е. Powell и соавт. [20]. В другом исследовании утверждалось, что их образование и форма зависят от профиля экспрессии кадгерина, например клетки Ncadherin+ образовывали стабильные и плотные сферические структуры, а клетки Ecad+ – кластеры с более низкой адгезионной способностью (по сравнению с Ncadherin+) [21].

В нашем исследовании мы показали, что количество EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ опухолевых клеток и атипичных/гибридных клеток EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/- имеет прямую корреляционную связь с PIV, который характеризует степень распространенности канцероматоза. Данный индекс учитывает состояние париетальной брюшины, диафрагмальной поверхности брюшины, брыжейки кишки, сальника, стенки кишки, желудка, печени [11, 22–24]. Так, А. Fagotti и соавт. (2006) было показано, что при PIV  $\geq 8$  вероятность резекции R0 практически равна 0, соответственно, рекомендовано проведение неoadъювантной химиотерапии. Эффективность данного подхода в последующем была подтверждена рядом рандомизированных исследований.

В 2017 г. опубликованы данные голландского многоцентрового рандомизированного исследования, включающего анализ лечения 201 больной распространенным раком яичников [24]. Для оценки возможности проведения первичной оптимальной циторедуктивной операции 102 пациенткам проведена лапароскопия с определением PIV (основная, лапароскопическая группа), 99 пациенткам – первичная циторедуктивная операция без лапароскопической оценки (контрольная группа). Одним из основных плюсов предлагаемой методики авторы считают снижение неоправданных лапаротомий (диагностических операций, субоптимальных циторедукций), ослабляющих эффективность лечения данной категории больных [24].

Полученные в нашем исследовании результаты показали прямую корреляционную связь PIV с уровнем асцитических опухолевых клеток с признаками ЭПМ (АС-10) и с атипичными (ги-

бридными клетками) с признаками стволовости (АС-12). Можно предположить, что определение EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ и EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/- клеток в асцитической жидкости совместно с PIV будет полезно для уточнения стратегии лечения больных раком яичников.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты показывают большую гетерогенность опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников. Обнаруженный факт наличия атипичных/гибридных форм EpCam-положительных клеток представляет интерес для клеточной биологии и требует дальнейших исследований. Выявленные в нашем исследовании популяции клеток (EpCam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ и EpCam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/-) и обнаружение их в асцитической жидкости могут быть полезны для определения стратегии лечения больных раком яичников.

Дальнейшее исследование различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости, их связь с клиническим течением и эффективностью химиотерапии больных раком яичников является весьма целесообразным направлением и открывает большие перспективы для практических разработок в области жидкостной биопсии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В., Иванова А.А. Асцит как предмет исследований при раке яичников. *Сибирский онкологический журнал*. 2019; 18 (1): 116–123. DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-116-123.
2. Weinberg R.A. Coevolution in the tumor microenvironment. *Nat. Genet.* 2008; 40: 494–495. DOI: 10.1038/ng0508-494.
3. Hyler A.R., Baudoin N.C., Brown M.S., Stremmler M.A., Cimini D., Davalos R.V., Schmelz, E.M. Fluid shear stress impacts ovarian cancer cell viability, subcellular organization, and promotes genomic instability. *PLoS One*. 2018; 13 (3): e0194170. DOI: 10.1371/journal.pone.
4. Кайгородова Е.В., Федулова Н.В., Очиров М.О., Дьяков Д.А., Молчанов С.В., Часовских Н.Ю. Различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 50–59. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-50-58.
5. Kaigorodova E.V., Savelieva O.E., Tashireva L.A., Tarabonovskaya N.A., Simolina E.I., Denisov E.V., Slonimskaya E.M., Choyznzonov E.L., Perelmutter V.M. Heterogeneity of circulating tumor cells in neoadjuvant chemotherapy of breast cancer. *Molecules*. 2018; 23 (4): 727–737. DOI: 10.3390/molecules23040727.
6. Tayama S., Motohara T., Narantuya D., Li C., Fujimoto K., Sakaguchi I., Tashiro H., Saya H., Nagano O., Katabuchi H.

- The impact of EpCAM expression on response to chemotherapy and clinical outcomes in patients with epithelial ovarian cancer. *Oncotarget*. 2017; 8 (27): 44312–44325. DOI: 10.18632/oncotarget.17871.
7. Zheng J., Zhao S., Yu X., Huang S., Liu H.Y. Simultaneous targeting of CD44 and EpCAM with a bispecific aptamer effectively inhibits intraperitoneal ovarian cancer growth. *Theranostics*. 2017; 7 (5): 373–1388. DOI: 10.7150/thno.17826.
  8. Nakamura K., Terai Y., Tanabe A., Ono Y.J., Hayashi M., Maeda K., Fujiwara S., Ashihara K., Nakamura M., Tanaka Y. et al. CD24 expression is a marker for predicting clinical outcome and regulates the epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer via both the Akt and ERK pathways. *Oncol. Rep.* 2017; 37 (6): 3189–3200. DOI: 10.3892/or.2017.5583.
  9. Mrozik K.M., Blaschuk O.W., Cheong C.M., Zannettino A.C., Vandyke W.K. N-cadherin in cancer metastasis, its emerging role in haematological malignancies and potential as a therapeutic target in cancer. *BMC Cancer*. 2018; 18 (1): 939. DOI: 10.1186/s12885-018-4845-0.
  10. Glumac P.M., LeBeau A.M. The role of CD133 in cancer: A concise review. *Clin. Transl. Med.* 2018; 7 (1): 18. DOI: 10.1186/s40169-018-0198-1.
  11. Fagotti A., Ferrandina G., Fanfani F., Ercoli A., Lorusso D., Rossi M., Scambia G. A laparoscopy-based score to predict surgical outcome in patients with advanced ovarian carcinoma: A pilot study. *Ann. Surg. Oncol.* 2006; 13 (8): 1156–1161.
  12. Wei X., Dombkowski D., Meirelles K., Pieretti-Vanmarcke R., Szotek P.P., Chang H.L., Preffer F.L., Mueller P.R., Teixeira J., MacLaughlin D.T. et al. Mullerian inhibiting substance preferentially inhibits stem/progenitors in human ovarian cancer cell lines compared with chemotherapeutics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (44): 18874–18879. DOI: 10.1073/pnas.1012667107.
  13. Gao M.Q., Choi Y.P., Kang S., Youn J.H., Cho N.H. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene*. 2010; 29 (18): 2672–2680. DOI: 10.1038/ncr.2010.35.
  14. Burgos-Ojeda D., Rueda B.R., Buckanovich R.J. Ovarian cancer stem cell markers: Prognostic and therapeutic implications. *Cancer Lett.* 2012; 322 (1): 1–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2012.02.002.
  15. Burgos-Ojeda D., Wu R., McLean K., Chen Y.C., Talpaz M., Yoon E., Cho K.R., Buckanovich R.J. CD24+ Ovarian cancer cells are enriched for cancer-initiating cells and dependent on jak2 signaling for growth and metastasis. *Mol. Cancer Ther.* 2015; 14 (7): 1717–1727. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0607.
  16. Gast C.E., Silk A.D., Zarour L. et al. Cell fusion potentiates tumor heterogeneity and reveals circulating hybrid cells that correlate with stage and survival. *Sci. Adv.* 2018; 4 (9): e7828. Published 2018 Sept. 12. DOI: 10.1126/sciadv.aat7828.
  17. Carter A. Cell fusion theory: can it explain what triggers metastasis? *J. Natl. Cancer Inst.* 2008; 100 (18): 1279–1281. DOI: 10.1093/jnci/djn336.
  18. Larizza L., Schirmacher V., Pflüger E. Acquisition of high metastatic capacity after *in vitro* fusion of a nonmetastatic tumor line with a bone marrow-derived macrophage. *J. Exp. Med.* 1984; 160 (5): 1579–1584. DOI: 10.1084/jem.160.5.1579.
  19. Ramakrishnan M., Mathur S.R., Mukhopadhyay A. Fusion-derived epithelial cancer cells express hematopoietic markers and contribute to stem cell and migratory phenotype in ovarian carcinoma. *Cancer Res.* 2013; 73 (17): 5360–5370. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0896.
  20. Powell A.E., Anderson E.C., Davies P.S. et al. Fusion between Intestinal epithelial cells and macrophages in a cancer context results in nuclear reprogramming. *Cancer Res.* 2011; 71 (4): 1497–1505. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3223.
  21. Klymenko Y., Johnson J., Bos B., Lombard R., Campbell L., Loughran E., Stack M.S. Heterogeneous cadherin expression and multicellular aggregate dynamics in ovarian cancer dissemination. *Neoplasia*. 2017; 19 (7): 549–563. DOI: 10.1016/j.neo.2017.04.002.
  22. Vizzielli G., Costantini B., Tortorella L., Pitruzzella I., Gallotta V., Fanfani F., Gueli Alletti S., Cosentino F., Nero C., Scambia G. et al. A laparoscopic risk-adjusted model to predict major complications after primary debulking surgery in ovarian cancer: A single-institution assessment. *Gynecol. Oncol.* 2016; 142 (1): 19–24. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.04.020.
  23. Feng Z., Wen H., Jiang Z., Liu S., Ju X., Chen X., Xia L., Xu J., Bi R., Wu X. A triage strategy in advanced ovarian cancer management based on multiple predictive models for R0 resection: A prospective cohort study. *J. Gynecol. Oncol.* 2018; 29 (5): e65. DOI: 10.3802/jgo.2018.29.e65.
  24. Rutten M.J., Van Meurs H.S., Van De Vrie R., Naaktgeboeren C.A., Fons G., Opmeer B.C., Spijkerboer A., Bossuyt P.M., Kenter G.G., Buist M.R. et al. Laparoscopy to predict the result of primary cytoreductive surgery in patients with advanced ovarian cancer: a randomized controlled trial. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35 (6): 613–621. DOI: 10.1200/JCO.2016.69.2962.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность руководителю отделения патологической анатомии и цитологии НИИ онкологии Томского НИМЦ д-ру мед. наук С.В. Вторушину, профессору В.М. Перельмутеру и зав. гинекологическим отделением НИИ онкологии Томского НИМЦ профессору Л.А. Коломиец за консультацию в подборе пациенток для исследования. Также авторы благодарят Григория Марченко, сотрудника компании Luminex Corporation в России и СНГ, за помощь в организации эксперимента с использованием проточного цитометра с визуализацией ImageStreamX (Luminex, Польша).

## Вклад авторов

Кайгородова Е.В., Очиров М.О., Молчанов С.В., Дьяков Д.А., Рогачев Р.Р., Ковалев О.В., Вторушин С.В. – проведение исследований, анализ и интерпретация данных. Очиров М.О., Молчанов С.В., Чернышова А.Л., Шпилёва О.В. – выполнение ди-

агностики и лечение больных раком яичников. Кайгородова Е.В. — разработка концепции и дизайна исследования, написание рукописи статьи.

## Сведения об авторах

**Кайгородова Евгения Викторовна**, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4378-6915.

**Очиров Максим Олегович**, аспирант, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6628-2918.

**Молчанов Сергей Валериевич**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение гинекологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0522-1772.

**Рогачев Роман Романович**, студент, медико-биологический факультет, СибГМУ, г. Томск.

**Дьяков Денис Александрович**, ассистент, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-8667-9306.

**Чернышова Алена Леонидовна**, д-р мед. наук, профессор РАН, вед. науч. сотрудник, отделение гинекологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-8194-2811.

**Шпилёва Ольга Владимировна**, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, отделение гинекологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-0617-4688.

**Ковалев Олег Игоревич**, ординатор, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6826-725X.

**Вторушин Сергей Владимирович**, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии, СибГМУ; руководитель отделения общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1195-4008.

(✉) **Кайгородова Евгения Викторовна**, e-mail: zlobinae@mail.ru

Поступила в редакцию 06.07.2020

Подписана в печать 28.12. 2020

## Оценка эффективности локальной стероидной терапии у детей с олигоартикулярным вариантом ювенильного артрита: результаты ретроспективного исследования

Кожевников А.Н.<sup>1,2</sup>, Поздеева Н.А.<sup>1</sup>, Никитин М.С.<sup>1</sup>, Маричева О.Н.<sup>1</sup>, Мурашко Т.В.<sup>1</sup>, Орлова Н.Ю.<sup>1</sup>, Богданова С.Л.<sup>1</sup>, Новик Г.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера*

*Россия, 196603, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Парковая, 64-68*

<sup>2</sup> *Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ)*

*Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская 2*

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Несмотря на большой прогресс в диагностике и лечении ревматических заболеваний у детей, все еще остается актуальным вопрос выбора противовоспалительной терапии в случае дебюта хронического олигоартрита. Единого мнения на этот счет у детских ревматологов нет и по настоящий день.

**Цель.** Поиск предикторов ранней неэффективности и оценка целесообразности локальной стероидной монотерапии у пациентов с дебютом олигоартикулярного варианта ювенильного артрита.

**Материалы и методы.** Основу ретроспективного исследования составили 92 ребенка в возрасте от 11 мес до 9 лет с хроническим олигоартритом без экстраартикулярных проявлений (олиго-ЮА). Были изучены особенности клинико-инструментальной и лабораторной диагностики в дебюте заболевания, динамика суставного синдрома и эффективность внутрисуставного введения глюкокортикостероидного препарата.

**Результаты.** Проанализированы данные 92 детей со 164 «активными» суставами, которые получили 218 изолированных внутрисуставных манипуляций по введению стероидного препарата (триамцинолон ацетонид). Триамцинолон ацетонид вводился внутрисуставно в дозе 20–40 мг с интервалом 3, 6, 12 мес в зависимости от активности заболевания. Около одной трети детей с олиго-ЮА достигли неактивной стадии болезни в среднем после двукратного введения данного препарата. Исследование не позволило выявить предикторов ранней неэффективности монотерапии локальными стероидными препаратами у детей. Не выявлено достоверных клинико-инструментальных и лабораторных признаков, которые напрямую указывали бы на необходимость начала ранней терапии препаратом «Метотрексат».

**Заключение.** Триамцинолон ацетонид является эффективным и безопасным препаратом у детей с олигоартикулярным вариантом ювенильного артрита. Несмотря на популяризацию генно-инженерной биологической терапии, не следует пренебрегать лечением локальными стероидными препаратами как первой линией противоревматической терапии у детей.

**Ключевые слова:** ювенильный артрит, хронический олигоартрит, триамцинолон ацетонид.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Все законные представители подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Науч-

но-исследовательского детского ортопедического института им. Г.И. Турнера (протокол № 1 от 20.01.2014).

**Для цитирования:** Кожевников А.Н., Поздеева Н.А., Никитин М.С., Маричева О.Н., Мурашко Т.В., Орлова Н.Ю., Богданова С.Л., Новик Г.А. Оценка эффективности локальной стероидной терапии у детей с олигоарткулярным вариантом ювенильного артрита: результаты ретроспективного исследования. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 54–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-54-64>.

## Retrospective analysis of the effectiveness of local corticosteroid therapy in children with oligoarticular juvenile idiopathic arthritis

Kozhevnikov A.N.<sup>1,2</sup>, Pozdeeva N.A.<sup>1</sup>, Nikitin M.S.<sup>1</sup>, Maricheva O.N.<sup>1</sup>, Murashko T.V.<sup>1</sup>, Orlova N.Yu.<sup>1</sup>, Bogdanova S.L.<sup>1</sup>, Novik G.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery  
64–68, Str. Parkovaya, Pushkin, Saint-Petersburg, 196603, Russian Federation

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University  
2, Str. Litovskaya, Saint-Petersburg, 194100, Russian Federation

### ABSTRACT

**Background.** Despite the progress in diagnosis and treatment of chronic rheumatic diseases in children, the choice of anti-inflammatory drugs in case of the onset of oligoarticular juvenile idiopathic arthritis (JIA) still remains relevant. Till present, pediatric rheumatologists have not reached a consensus on this issue yet.

**The aim** of this study was to search for predictors of early failure of local steroid therapy and assessment of its feasibility in patients with oligoarticular JIA.

**Materials and methods.** In a retrospective study, 92 children aged 11 months – 9 years with chronic oligoarticular JIA without extra-articular manifestations were monitored. The features of the clinical, instrumental and laboratory diagnosis during the disease onset were studied, along with the dynamics of the articular syndrome and the effectiveness of intra-articular administration of corticosteroid drugs.

**Results and discussion.** The data on 92 children with 164 active joints who received 218 local intra-articular injections of triamcinolone acetonide at the onset of the disease were analyzed. Intra-articular injections of triamcinolone acetonide at a dose of 20–40 mg were performed with an interval of 3, 6, and 12 months, depending on the intensity of the disease. In about one third of children with oligoarticular JIA, arthritis became inactive on average after two intra-articular injections of triamcinolone acetonide. The study did not reveal the predictors of early ineffective topical corticosteroid monotherapy in children. No clinical, instrumental, and laboratory signs were identified that would directly indicate the need for early therapy with methotrexate.

**Conclusion.** Triamcinolone acetonide is an effective and safe drug for children with oligoarticular JIA. Despite the widespread use of biological, gene, and other innovative therapies, application of local corticosteroids as the first-line therapy in children with oligoarticular JIA should not be neglected.

**Key words:** oligoarticular juvenile idiopathic arthritis, local steroid therapy, triamcinolone acetonide.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** All the representatives signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery (Protocol No. 1 of 20.01.2014).

**For citation:** Kozhevnikov A.N., Pozdeeva N.A., Nikitin M.S., Maricheva O.N., Murashko T.V., Orlova N.Yu., Bogdanova S.L., Novik G.A. Retrospective analysis of the effectiveness of local corticosteroid therapy in children with oligoarticular juvenile idiopathic arthritis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 54–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-54-64>.

## ВВЕДЕНИЕ

Ювенильный артрит (ЮА) причислен к одному из наиболее часто встречаемых и тяжелых воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата детского возраста, течение которого характеризуется как неуклонно прогрессирующее, приводящее к развитию контрактур и потере функций суставов. Прогрессивный рост заболеваемости среди населения детского возраста, стойкие функциональные ограничения подвижности суставов уже на ранней стадии болезни и высокая частота инвалидизации определяют актуальность совершенствования методов диагностики и лечения данного заболевания.

Непрерывный аутоиммунный воспалительный процесс синовиальной оболочки сустава является тем самым движущим механизмом, который неминуемо приводит к формированию такого исхода как, артроз-артрит [1, 2]. Поэтому быстрое достижение неактивной стадии артрита считается приоритетной целью медикаментозной терапии ЮА, средствами которой являются как системные, так и локальные (внутрисуставные) лекарственные препараты. Поводом для изучения данной проблемы послужила высокая частота прямо противоположных точек зрения относительно терапии дебюта ювенильного олигоартрита.

Термин «ювенильный артрит» объединяет группу первично-хронических воспалительных заболеваний суставов детского возраста, ведущим симптомом которых является фиксированный артрит неустановленной причины длительностью более 6 нед. Некая неоднородность группы ЮА обусловлена включением различных по своему характеру течения клинических форм артропатий, в том числе с экстраартикулярными проявлениями. Вариант суставного поражения по типу хронического олигоартрита (ювенильный олигоартрит, олиго-ЮА), при котором имеет место одномоментное поражение не более четырех суставов, превалирует у детей с ювенильным артритом [3].

Олигоартрит в структуре ЮА может быть персистирующим (артрит не более четырех суставов на всем протяжении болезни), распространившимся (по сути, несимметричный полиартрит, преобразованный из олигоартрита через 6 мес после дебюта), или, реже, иметь кратковременный (абортный) вариант течения. Наиболее частым проявлением олигоартрита является асимметричный вариант поражения суставов нижних конечностей (за исключением поражения тазобедренного сустава).

Данный подтип встречается преимущественно у девочек с дебютом в возрасте до 6–8 лет (пик в 2–4 года). Помимо коленного и голеностопного суставов, нередко дистанционно могут вовлекаться локте-

вой, лучезапястный или один-два мелких сустава кисти и (или) стопы. Несколько реже олигоартрит может приобретать симметричный характер суставного поражения или вовсе клинически проявляться стойким поражением одного сустава (моноартрит). Особенностью олиго-ЮА у детей, помимо высокого риска поражения глаз, является нередко «немое» лабораторное сопровождение суставного воспалительного синдрома, а также вариабельность клинических симптомов, характеризующих проявления артрита [4, 5].

В настоящее время большинством детских ревматологов одобрена и признана успешной ступенчатая схема терапии ювенильного артрита, в том числе и олиго-ЮА. Суть данной методики лечения заключается в поэтапной необходимости усиления противоревматической терапии, которая продиктована сохранением признаков активного артрита, прогрессированием суставного синдрома или явлениями наличия увеита (исключение составляют дети с системным артритом).

Данный подход в лечении позволяет быстро достичь неактивного артрита и в последующем осуществлять контроль над течением заболевания [6, 7]. Стратегия лечения ювенильного артрита без системных проявлений может быть представлена тремя основными направлениями: первое, наиболее частое, – это терапия «на опережение» болезни; второе – фактическое лечение проявлений артрита; третье – ортопедо-хирургическое устранение последствий заболевания.

Несмотря на убедительность данных о высокой агрессивности воспалительного процесса ревматического происхождения, остается ряд нерешенных вопросов относительно стратегии терапии олиго-ЮА. Хорошо известно, что у части детей с увеит-негативным хроническим олигоартритом имеется опыт контроля над течением заболевания, с выходом в неактивную стадию болезни, без применения системной противоревматической терапии. Именно относительно данного подтипа ювенильного олигоартрита мнения специалистов в большинстве случаев разделяются.

Цель исследования – сравнительный анализ результатов лечения с применением локальных глюкокортикостероидов (ГКС) пациентов с ювенильным олигоартритом без экстраартикулярных проявлений и выявление ранних предикторов неэффективности данной терапии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 92 ребенка (85% – девочки) со 164 активными суставами, которые получали лечение в ортопедо-ревмато-

логическом отделении № 7 НМИЦ детской травматологии и ортопедии им. Г.И. Турнера в период 2012–2018 гг. Все дети полностью соответствовали критериям олигоартicularного варианта ювенильного артрита и не имели экстраартикулярных проявлений (ILAR 1997; 2001; the Edmonton revision 2004). Все представители добровольно подписали информированное согласие на участие в исследовании.

На момент включения в исследование никто из пациентов не обладал опытом терапии болезнью-модифицирующими противоревматическими препаратами (рис. 1). Возраст детей варьировал от 11 мес до 9 лет (средний возраст  $(4,2 \pm 2,6)$  года). Из них пациенты до 2 лет составили 32,7% случаев (30/92; все девочки), группу от 2 до 6 лет – 54,3% (50/92; 40 девочек и 10 мальчиков) и 13% (12/92; все девочки) – группу более старшего возраста.

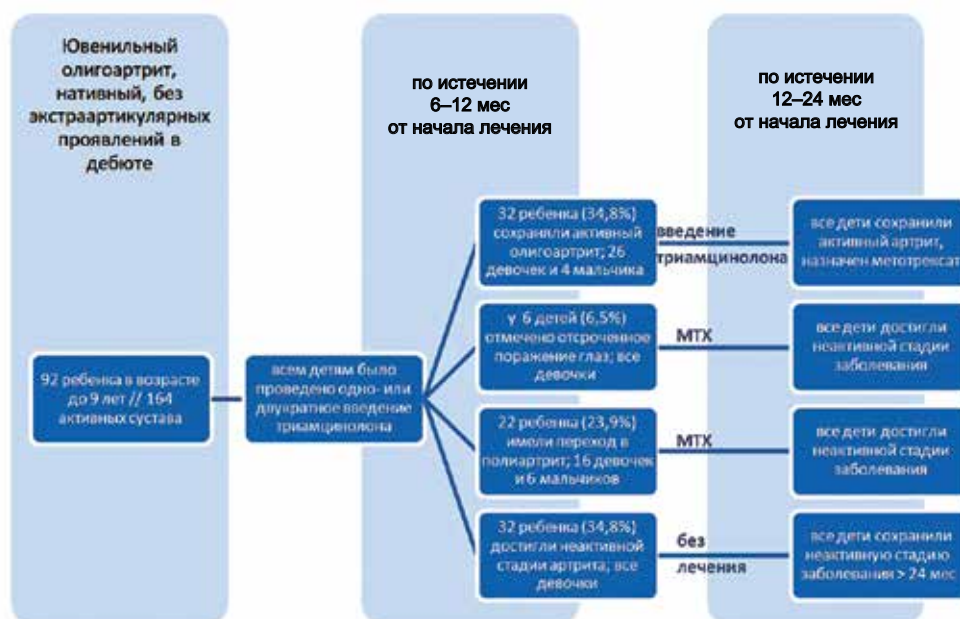


Рис. 1. Дизайн исследования: MTX – терапия препаратом «Метотрексат»

В лечении применялся ГКС-препарат «Триамцинолон ацетонид». Манипуляции по внутрисуставному введению триамцинолона получили все дети. ГКС-препарат вводился внутрисуставно без ультразвуковой навигации с предварительным разведением в дозе 20–40 мг/сустав, не более чем в три сустава одновременно. Не допускалось экстраартикулярной инъекции препарата. Максимально допустимое количество изолированных поэтапных внутрисуставных инъекций в один сустав не превышало четырех, интервал между введениями варьировал от 2 до 12 мес.

В зависимости от активности заболевания все пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили дети с неактивной стадией заболевания, которая была достигнута на фоне изолированного внутрисуставного введения ГКС-препарата; вторую – дети, которым была назначена болезнью-модифицирующая противоревматическая терапия в связи с малой эффективностью локальных инъекций стероидных средств. Присоединение поражения глаз и (или) последующее увеличение числа активных суставов на два и более на этапе лечения считались

основаниями для старта парентеральной терапии препаратом «Метотрексат» (из расчета 15 мг/м<sup>2</sup>/нед), равно как и неэффективность трех или четырех последующих внутрисуставных инъекций ГКС-препарата в один сустав.

В ходе исследования оценивались степень активности заболевания и динамика числа активных суставов на фоне лечения, маркеры активного воспаления сыворотки крови и синовиальной жидкости, а также характер суставного поражения по данным инструментальной картины на момент первичного обращения. Достижение и поддержание неактивной стадии ЮА оценивались по критериям C. Wallace и соавт., 2011 (достоверным считалась неактивная фаза заболевания, длительность которой была не менее 24 мес). Для оценки характера рентгеноанатомических изменений при ювенильном артрите использовались модифицированные критерии ревматоидного артрита по Штейнброкеру (2000).

Для оценки степени активности заболевания и эффективности проводимого лечения были применены шкалы Disease activity levels of oligo-JIA и

clinical JADAS10, адаптированные для педиатрической ревматологической практики [7]. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с применением специализированного пакета Excel (Microsoft, США). Сравнительный анализ эмпирических данных наглядно представлен в форме таблиц. Абсолютные количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха *Me* [25;75], относительные – в процентных соотношениях.

Иммунологическое исследование проводили в клинико-диагностической лаборатории НМИЦ детской травматологии и ортопедии им. Г.И. Турнера (зав. лабораторией – С.Л. Богланова) и лаборатории аутоиммунных заболеваний СПбГМУ (зав. лабораторией – канд. мед. наук С.В. Лапин). Проводился комплекс иммунологических исследований, который включал определение в сыворотке крови и синовиальной жидкости концентрации фактора некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ) (методом твердофазного иммуноферментного анализа тест-системы альфа-ФНО-ИФА-Бест; Вектор-Бест, Россия) и интерлейкина (IL) 6 (электрохемилюминесцентным методом на анализаторе Cobas e411; Roche, Швейцария). Определение титра антинуклеарного фактора (АНФ) сыворотки крови проводилось методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием в качестве субстрата перевиваемой клеточной линии аденокарциномы гортани человека HEp-2 (лаборатория СПбГМУ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Было проведено исследование эффективности терапии 92 детей с олиго-ЮА и представлены результирующие данные. Стаж заболевания к моменту установки диагноза «ювенильный артрит» в среднем составил 4–5 [3;8] мес. Средняя продолжительность наблюдения за пациентом составила 48 [38;62] мес, максимальная продолжительность была равна 98 мес. Всего проведено 218 манипуляций по внутрисуставному введению триамцинолона, из них 156 инъекций в коленные суставы и 62 – в голеностопные. При этом процедура по одномоментному введению ГКС-препарата в два и более сустава была применена практически у трети детей (одномоментное введение в два и более сустава – одна манипуляция). Одно- или двукратное введение триамцинолона было проведено у 65,2% (60/92) пациентов, трехкратное и более – у 34,8% (32/92). У 43,5% (40/92) пациентов был подвергнут лечебной пункции один сустав, у 39,1% (36/92) – два разных сустава, у 17,4% (16/92) – три и более сустава.

Неактивная стадия заболевания после внутрисуставного введения ГКС-препарата была достигнута

у 34,8% пациентов (32/92; все девочки). Из них у 21,7% (20/92) суставной синдром протекал в форме моноартрита, у 8,7% (8/92) – как вариант асимметричного олигоартрита, остальные 4,4% (4/92) имели симметричный артрит контралатеральных суставов нижних конечностей (табл. 1). Медиана количества внутрисуставных инъекций у детей данной группы составила 2 [1,75;2], а средняя продолжительность неактивной фазы заболевания между двумя последовательными инъекциями была равна 7 [5,25;10] мес.

Таблица 1

Клиническая характеристика вариантов дебюта олиго-ЮА у детей, абс. (%)

| Показатель                 | Первая группа, n = 32  | Вторая группа, n = 60    | p              |
|----------------------------|------------------------|--------------------------|----------------|
| Моноартрит                 | 20♀ (62,5%)<br>0♂ (0%) | 20♀ (33,3%)<br>4♂ (6,7%) | <0,01<br>>0,05 |
| Асимметричный олигоартрит  | 8♀ (25%)               | 16♀ (26,7%)              | >0,05          |
| Симметричный олигоартрит   | 4♀ (12,5%)<br>♂ (0%)   | 12♀ (20%)<br>4♂ (6,7%)   | >0,05<br>>0,05 |
| Псориатический олигоартрит | 0♀ (0%)<br>0♂ (0%)     | 2♀ (3,3%)<br>2♂ (3,3%)   | >0,05<br>>0,05 |

Примечание. ♀ – девочки, ♂ – мальчики.

Всем остальным 65,2% (60/92) детей не удалось достичь ремиссии заболевания на фоне изолированных локальных инъекций триамцинолона, что потребовало применения базисной противоревматической терапии. Из них 23,9% детей (22/92; 16 девочек и шесть мальчиков) имели прогрессирование заболевания с переходом в полиартрит после двукратного введения триамцинолона, у 6,5% (6/92; все девочки) отмечено отсроченное поражение глаз, остальные 34,8% (32/92; 26 девочек и четыре мальчика) сохраняли активный олигоартрит после неоднократного ( $\geq 3$ ) внутрисуставного введения ГКС-препарата. Медиана количества внутрисуставных инъекций у детей второй группы составила 3 [2;4]. Средняя продолжительность неактивной фазы артрита между первыми двумя последовательными инъекциями была равна 5,5 [4,25;7] мес, а между последующими манипуляциями – 2 [2;3] мес.

Основными проявлениями нежелательных реакций, обусловленных терапией, были постинъекционные обратимые (транзиторные) явления локальной атрофии и гипопигментации кожи, которые встречались с одинаковой частотой в обеих группах, и в случае пункции коленного и голеностопного суставов не превышали 10%. Иных осложнений отмечено не было. Сравнительный анализ числа активных суставов и клинической шкалы активности заболевания (cJADAS10 – Juvenile Arthritis Disease Activity Score)

у детей обеих групп с олиго-ЮА не выявил достоверных различий в дебюте заболевания.

Основные лабораторные показатели воспаления (скорость оседания эритроцитов (СОЭ), С-реактивный белок (СРБ), уровень тромбоцитов и лейкоцитов)

у детей двух групп в дебюте олиго-ЮА были идентичны. Концентрация основных провоспалительных цитокинов сыворотки крови (TNF $\alpha$  и IL-6), а также степень агрессивности заболевания, которая определялась по титру АНФ, были сопоставимы (табл. 2).

Таблица 2

| Клинико-лабораторная характеристика детей с дебютом олиго-ЮА |                         |                         |       |
|--------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|
| Показатель                                                   | Первая группа, $n = 32$ | Вторая группа, $n = 60$ | $p$   |
| Девочки, абс. (%)                                            | 20 (83,3%)              | 50 (92,6%)              | <0,01 |
| Возраст дебюта ЮА, лет, $Me [25;75]$                         | 2 [2;3]                 | 4 [3;7]                 | >0,05 |
| Число активных суставов, $Me [25;75]$                        | 1 [1;2]                 | 1 [1;2]                 | >0,05 |
| JADAS, $Me [25;75]$                                          | 10 [8;12]               | 11 [8,5;14]             | >0,05 |
| СОЭ, мм/ч, $Me [25;75]$                                      | 14 [6;28]               | 17 [10;25]              | >0,05 |
| СРБ, мг/л, $Me [25;75]$                                      | 2,7 [1,3;4,5]           | 2,2 [1,8;9,3]           | >0,05 |
| Гемоглобин, г/л, $Me [25;75]$                                | 114 [110;128]           | 112 [108;124]           | >0,05 |
| Лейкоциты, $10^9/л$ , $Me [25;75]$                           | 8,0 [6,8;10,6]          | 7,4 [6,2;10,8]          | >0,05 |
| Тромбоциты, $10^9/л$ , $Me [25;75]$                          | 442 [416;476]           | 438 [408;466]           | >0,05 |
| Гаммаглобулины, %, $Me [25;75]$                              | 21,6 [19,6;22,3]        | 22,3 [20,4;23,5]        | >0,05 |
| IL-6, пг/мл, $Me [25;75]$                                    | 4,1 [2,5;6,75]          | 5,8 [3,4;10,5]          | >0,05 |
| TNF $\alpha$ сыворотки, пг/мл, $Me [25;75]$                  | 0,65 [0,2;0,85]         | 0,6 [0,1;0,9]           | >0,05 |
| АНФ в титре $\geq 1/160$ , абс. (%)                          | 26 (81,25%)             | 45 (75%)                | >0,05 |
| АНФ в титре $\geq 1/1280$ , абс. (%)                         | 12 (37,5%)              | 14 (23,3%)              | >0,05 |

Примечание. Здесь и в табл. 5: СОЭ – скорость оседания эритроцитов; СРБ – С-реактивный белок; IL-6 – интерлейкин 6; АНФ – антинуклеарный фактор, JADAS (Juvenile Arthritis Disease Activity Score) – педиатрическая шкала оценки активности заболевания на фоне лечения.

Анализ синовиальной жидкости, который включал оценку цитологического состава и определение концентрации основных провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-6) в дебюте заболевания, также не выявил статистически значимых различий (табл. 3).

Таблица 3

| Цитологический анализ и иммунологическая характеристика синовиальной жидкости у детей в дебюте олиго-ЮА, $Me [25;75]$ |                         |                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Показатель                                                                                                            | Первая группа, $n = 32$ | Вторая группа, $n = 60$ |
| Цитоз, $10^9/л$                                                                                                       | 4,3 [3,5;7]             | 4,35 [3,7;6,35]         |
| Лимфоциты, %                                                                                                          | 54 [31,75;66,5]         | 32 [26,5;53,5]          |
| Нейтрофилы, %                                                                                                         | 18 [12,7;37,5]          | 40 [6;57,3]             |
| Моноциты, %                                                                                                           | 16 [10;21,75]           | 14 [9,2;19,3]           |
| Синовиоциты, %                                                                                                        | 1 [0;7]                 | 1 [0;4]                 |
| Рагоциты, %                                                                                                           | 3 [2;4]                 | 3 [2;7]                 |
| IL-6 синовию, пг/мл                                                                                                   | 2 208 [710;4 564]       | 3 234 [1 265;16 902]    |
| TNF $\alpha$ синовию, пг/мл                                                                                           | 3,3 [2,5;3,8]           | 1,1 [0,6;3,7]           |

Примечание. Рагоциты – клетки (макрофаги, нейтрофилы), содержащие крупные гранулы – фаголизомы, включающие иммунные комплексы, различные иммуноглобулины, в том числе ревматоидный фактор;  $p > 0,05$ .

Кроме того, характер суставного поражения и частота встречаемости раннего эрозивного процесса также не имели достоверных отличий, несмотря на раз-

личные исходы заболевания. При этом считающийся весьма агрессивным такой вариант суставного поражения, как «сухой» синовит, встречался практически с одинаковой частотой в обеих группах (табл. 4).

Таблица 4

| Клинико-инструментальная характеристика синовита у детей в дебюте олиго-ЮА, абс. (%) |                         |                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Показатель                                                                           | Первая группа, $n = 32$ | Вторая группа, $n = 60$ |
| Эксудативный синовит                                                                 | 16 (50%)                | 28 (46,7%)              |
| Эксудативно-пролиферативный неэрозивный синовит                                      | 9 (28,125%)             | 18 (30,0%)              |
| Эксудативно-пролиферативный эрозивный синовит                                        | 1 (3,125%)              | 2 (3,3%)                |
| Сухой неэрозивный синовит                                                            | 4 (12,5%)               | 8 (13,3%)               |
| Сухой эрозивный синовит                                                              | 2 (6,25%)               | 4 (6,7%)                |

Примечание. Уровень значимости  $p > 0,05$ .

Проведена попытка поиска вариантов суставного поражения в дебюте олигоартрита, при которых возможно было бы спрогнозировать высокую эффективность и выход в неактивную стадию артрита на фоне несистемной стероидной терапии у детей. На первый взгляд, сравнительный анализ выявил статистически значимые различия у детей с некоторыми подвариантами ювенильного артрита. Выяснилось, что в группе детей с неактивной стадией олиго-ЮА

преобладали девочки с моноартритом (20/62,5% – неактивный артрит и 20/33,3% – активный;  $p = 0,0087$ ;  $\chi^2 = 2,8$ ). Методом корреляционно-регрессионного анализа, однако, не получено достоверных данных, которые бы напрямую указывали на наличие сцепленности моноартрита и неактивной стадии болезни на фоне локальной стероидной терапии ( $R^2$  (коэффициент детерминации) 0,158; Т 1,23; отношение шансов (OR) 4,01; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 0,57–27,69;  $p = 0,227$ ).

Методом логистической и множественной линейной регрессии у детей с ЮА не было выявлено информативных прогностических признаков вероят-

ности формирования неактивного артрита в зависимости от уровня основных воспалительных лабораторных показателей (табл. 5). В ходе исследования методом линейного регрессионного анализа выявлена прямая связь между уровнем СОЭ (мм/ч) и IL-6 синовиальной жидкости ( $p < 0,001$ ; рис. 2).

Учитывая различный период продолжительности неактивной фазы заболевания у детей двух исследуемых групп между последовательными внутрисуставными инъекциями ГКС-препаратов, методом корреляционно-регрессионного анализа была произведена попытка оценки сцепленности данного временного промежутка с активностью артрита (табл. 6).

Таблица 5

| Результаты построения модели «неактивный артрит» методом логистической и множественной линейной регрессии у детей с ЮА на основании лабораторных данных |              |                    |            |        |               |        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------|------------|--------|---------------|--------|
| Показатель                                                                                                                                              | $R^2$        | Стандартная ошибка | Т-критерий | OR     | 95%-й ДИ      | $p$    |
| СРБ, мг/л                                                                                                                                               | –0,003841    | 0,009596           | –0,400     | 0,9913 | 0,8934–1,0998 | 0,8638 |
| IL-6 сыворотки, пг/мл                                                                                                                                   | –0,01390     | 0,02447            | –0,568     | 0,9443 | 0,7508–1,1878 | 0,6246 |
| TNF $\alpha$ сыворотки, пг/мл                                                                                                                           | –0,03193     | 0,02386            | –1,338     | 0,8366 | 0,6151–1,1379 | 0,2557 |
| IL-6 синови, пг/мл                                                                                                                                      | 0,1144       | 0,06898            | 1,659      | 2,2208 | 0,7480–6,5938 | 0,1507 |
| TNF $\alpha$ синови, пг/мл                                                                                                                              | –0,000009239 | 0,00000764         | –1,209     | 0,999  | 0,9997–1,0001 | 0,2913 |
| TNF $\alpha$ синови, пг/мл                                                                                                                              | 0,02611      | 0,01474            | –1,772     | 1,1221 | 0,6138–1,1007 | 0,1882 |

Таблица 6

| Результаты построения модели «активный артрит» методом логистической и множественной линейной регрессии у детей с ЮА на основании длительности неактивной стадии между внутрисуставными инъекциями препарата «Триамцинолон ацетонид» |         |                    |            |      |             |         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------------|------------|------|-------------|---------|
| Срок, мес                                                                                                                                                                                                                            | $R^2$   | Стандартная ошибка | Т-критерий | OR   | 95%-й ДИ    | $p$     |
| Более 6                                                                                                                                                                                                                              | –0,7745 | 0,04702            | –16,470    | 5,09 | 0,956–1,000 | < 0,001 |
| 3–5                                                                                                                                                                                                                                  | 0,1311  | 0,09810            | 1,337      | 2,03 | 0,393–4,643 | 0,1312  |
| Менее 3                                                                                                                                                                                                                              | 0,5849  | 0,1249             | 4,683      | 2,09 | 0,534–0,749 | < 0,001 |
| Менее 2                                                                                                                                                                                                                              | 0,5849  | 0,1151             | 5,081      | 8,9  | 0,680–0,868 | < 0,001 |

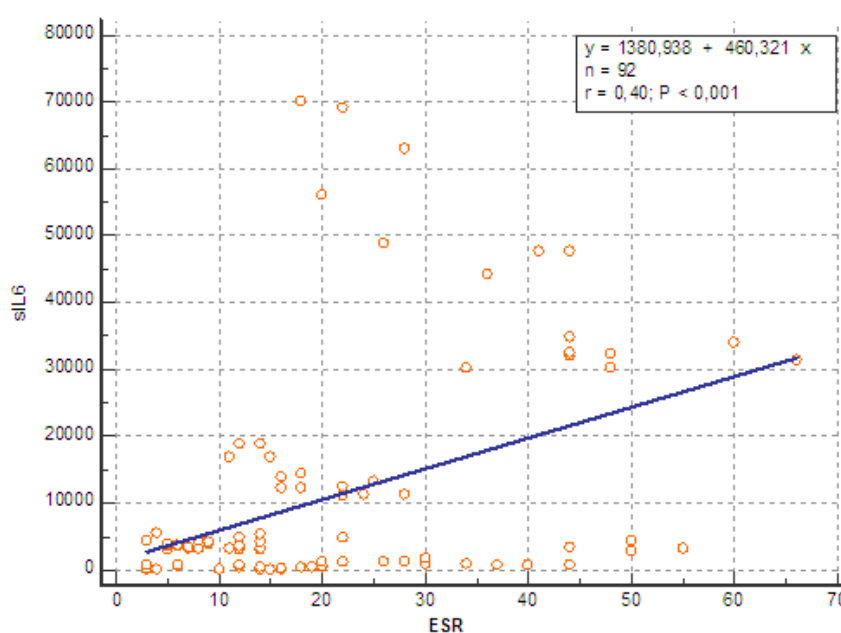


Рис. 2. Линейный регрессионный анализ прямой связи уровня СОЭ (мм/ч) и IL-6 синовиальной жидкости (пг/мл)

В ходе анализа обнаружена прямая регрессионная связь между коротким промежутком неактивной фазы заболевания при последовательных внутрисуставных инъекциях и риском формирования активного артрита (при неактивной фазе заболевания менее 3 мес  $OR = 2,09$ ;  $p < 0,001$ ; при неактивной фазе менее 2 мес –  $OR = 8,9$ ;  $p < 0,001$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании была проанализирована эффективность внутрисуставного введения ГКС-препарата (триамцинолон ацетонид) у детей с дебютом олиго-ЮА. Приоритетной задачей исследования был поиск возможных предикторов (клинических, инструментальных, лабораторных) ранней неэффективности локальной ГКС-терапии у детей с хроническим олигоартритом. Однородность выборки, объем лабораторной и инструментальной диагностики, а также наблюдение в одном медицинском учреждении были факторами, которые позволили более подробно изучить характер дебюта и динамику суставного синдрома у большого числа детей, равно как и эффективность монотерапии ГКС-препаратами.

Кроме того, ход исследования, помимо научно-практической составляющей, имел большой родительский интерес. Не секрет, что родители не всегда охотно соглашались на раннюю агрессивную терапию препаратом «Метотрексат» в случае выявления у ребенка хронического олигоартрита. Эта позиция, как правило, опирается на большое количество общедоступной информации из интернет-источников о пагубном влиянии метотрексата на организм, мнениях врачей неревматологического профиля и страхе пожизненной терапии. Кроме того, небольшое число пораженных суставов и кажущаяся невысокая степень агрессивности заболевания оставляют надежду на относительно благоприятный исход заболевания или, возможно, ошибочный диагноз, по мнению большинства родителей. Детским ревматологам хорошо известна ситуация, при которой часто бывает проще от законного представителя ребенка добиться согласия на очередное внутрисуставное введение ГКС-препарата, чем на старт терапии препаратом «Метотрексат».

Поэтому данное исследование было направлено на поиск тех клинико-инструментальных и лабораторных предикторов, опираясь на которые можно было бы заранее спрогнозировать раннюю неэффективность локальной стероидной терапии. Однако следует учитывать, что выводы и заключения никак не отражают степень агрессивности самого заболева-

ния, возможные риски прогрессирования суставного синдрома и вовлечение глаз, равно как и собственно неблагоприятные исходы болезни.

В русскоязычной литературе необходимость применения локальной ГКС-терапии у детей с ювенильным артритом в основном освещена в публикациях, датированных до 2010 гг., несмотря на то, что данный вариант лечения присутствует в отечественных клинических руководствах и федеральных рекомендациях по профилю «ревматология» [8, 9]. В своих работах И.М. Воронцов и Н.Н. Кузьмина указывали на наличие относительно доброкачественных вариантов течения хронического олигоартрита у детей, и, иногда, с возможностью полного выздоровления [10, 11]. Метаанализ, объединивший данные различных рандимизированных исследований, продемонстрировал высокую эффективность ГКС-терапии как метода локального воздействия.

О данных результатах ретроспективных исследований эффективности несистемной ГКС-терапии у детей можно ознакомиться в основном в англоязычных публикациях [12–14]. В настоящее время препаратом, одобренным для внутрисуставного введения у детей с ЮА в странах континентальной Европы и США, является триамцинолон гексацетонид. Аналогом данной формы лекарственного средства, зарегистрированной и допустимой для внутрисуставного введения, в том числе и детям, на территории Российской Федерации является триамцинолон ацетонид (Регистр лекарственных средств России).

Триамцинолон – это синтетический кристаллоидный кортикостероид, обладающий выраженным противовоспалительным эффектом. Фармакологическая композиция в форме суспензии с замедленным высвобождением является плохорастворимой, что позволяет депонироваться препарату в полости сустава и обеспечивать длительное воздействие вещества непосредственно на воспаленную синовию. Уменьшение клеточной инфильтрации за счет торможения миграции клеток (Т-лимфоцитов, моноцитов и макрофагов), подавление экспрессии провоспалительных цитокинов ( $TNF\alpha$ ,  $IL\beta$ ,  $IL-6$ ), хемоаттрактантов и некоторых факторов роста (эндотелиальный, тромбоцитарный, колониестимулирующий, инсулиноподобный), а также блокирование секреции агрессивных ферментов группы матриксных металлопротеиназ (ММР-2, ММР-3, ММР-9) являются ключевыми механизмами редукции локальной воспалительной реакции. Кроме того, триамцинолон обратимо ингибирует пролиферативную активность клеток синовиальной оболочки без цитотоксического эффекта, за счет снижения внутриклеточной концентрации NF- $\kappa$ B [15–17].

В большинстве многоцентровых исследований были продемонстрированы высокая эффективность, хорошая переносимость, безопасность, а главное, преимущество формы триамцинолон гексацетонид. Препарат «Триамцинолон ацетонид» в исследованиях позиционировался как альтернативная форма, допустимая для внутрисуставных инъекций с хорошим клиническим эффектом [18–20]. Пролонгированная эффективность ранней локальной ГКС-терапии препаратом «Триамцинолон» форм гексацетонид/ацетонид при ЮА также нашла отражение и в более современных исследованиях, однако предпочтение отдавалось препарату «Триамцинолон гексацетонид» [21–23].

В нашем исследовании высокая эффективность несистемной кортикостероидной терапии была достигнута благодаря ряду определяющих факторов. Ключевыми из них можно считать введение триамцинолона в ранние сроки с момента установки диагноза, исключительно внутрисуставная инъекция лекарственного препарата с предварительным его разведением и «постинъекционный» режим. Обсуждая оптимальные сроки наиболее эффективного применения изолированной локальной стероидной терапии, можно отметить, что «терапевтическое окно» строго ограничено 6–12 мес с момента дебюта заболевания. Последующие инъекции целесообразно проводить при условии отсутствия признаков прогрессирования суставного синдрома [24].

Предварительное разведение триамцинолона и принудительный режим с применением активных/пассивных движений в суставе увеличивают площадь воздействия на воспалительную синовиальную оболочку и способствуют более глубокому проникновению лекарственного средства. Ограниченная осевая нагрузка на конечность уменьшает риски развития асептических некрозов и способствует уменьшению резорбции препарата из полости сустава [25]. Пролонгированная эффективность внутрисуставного введения триамцинолона у детей, кроме антипролиферативной и противовоспалительной активности, основана на способности вызывать атрофию и в конечном итоге склероз синовиальной оболочки. «Обжигающий» механизм данного воздействия на синовиальную ткань триамцинолона не совсем ясен. Не исключены влияние эффекта вазоконстрикции сосудов субсиновиального слоя и возврат чувствительности клеток к проапоптотическим механизмам [26].

Настоящее исследование показало эффективность и состоятельность «терапевтической ступени» несистемной стероидной терапии препаратом «Триамцинолон ацетонид» у детей с дебютом хронического олигоартрита. Проведенное исследование

не позволило выявить тех предикторов в структуре олиго-ЮА, которые заранее напрямую указывали о возможной неэффективности ГКС-терапии. Однако отмечено, что степень агрессивности заболевания обратно пропорциональна длительности неактивной фазы артрита между последовательными внутрисуставными инъекциями ГКС-препаратов. В ходе исследования выявлена прямая взаимосвязь между уровнем СОЭ и концентрацией IL-6 синовиальной жидкости. Обобщая полученные данные 7-летнего периода наблюдения за детьми с олигоартрикулярным вариантом ЮА, можно с уверенностью утверждать, что около трети пациентов достигают стойкой ремиссии артрита на фоне локальной стероидной терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение топических кортикостероидных препаратов у детей с дебютом олиго-ЮА и определение чувствительности артрита к данной терапии позволяют оценить степень агрессивности заболевания. Современная популяризация и внедрение терапевтических схем с ранним применением противоревматических болезньюмодифицирующих препаратов искусственно несколько уменьшают эффективность ГКС-терапии для практического применения в детской ревматологии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Е.И., Бзарова Т.М. Алгоритм диагностики и лечения ювенильного артрита. *Вопросы современной педиатрии*. 2010; 9 (6): 78–104.
2. Кожевников А.Н., Поздеева Н.А., Конев М.А., Маричева О.Н., Афоничев К.А., Новик Г.А. Рентгенодиагностика хронического олигоартрита у детей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 224–234. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-224-234.
3. Young Dae Kim, Alan V Job, Woojin Cho. Differential diagnosis of juvenile idiopathic arthritis. *J. Rheum. Dis.* 2017; 24 (3): 131–137. DOI: 10.4078/jrd.2017.24.3.131.
4. Petty R.E., Southwood T.R., Manners P., Baum J., Glass D.N., Goldenberg J., He X., Maldonado-Cocco J., Orozco-Alcala J., Priour A.M., Suarez-Almazor M.E., Woo P. International League of Associations for R. International league of associations for rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton. 2001. *J. Rheumatol.* 2004; 31 (2): 390–392.
5. Цурикова Н.А., Лигостаева Е.А., Жолобова Е.С. Олигоартрикулярный вариант ювенильного идиопатического артрита на ранних этапах заболевания: путь к верификации диагноза. *Вопросы практической педиатрии*. 2017; 2: 33–38. DOI: 10.20953/1817-7646-2017-2-33-38.
6. Ringold S., Angeles-Han Sh.T., Beukelman T., Lovell D., Cuello C.A., Becker M.L., Colbert R.A., Feldman B.M., Ferguson P.J., Gewanter H., Guzman J., Horonjeff J., Nigro-

- vic P.A., Ombrello M.J., Passo M.H., Stoll M.L., Rabinovich C.E., Schneider R., Halyabar O., Hays K., Shah A.A., Sullivan N., Szymanski A.M., Turgunbaev M., Turner A., Reston J. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: therapeutic approaches for non-systemic polyarthritis, sacroiliitis, and enthesitis. *Arthritis & Rheumatology*. 2019; 71 (6): 846–863. DOI: 10.1002/art.40884doi:10.1002/art.40884.
7. Beukelman T., Patkar N.M., Saag K.G., Tolleson-Rinehart S., Cron R.Q., DeWitt E.M., Ilowite N.T., Kimura Y., Laxer R.M., Lovell D.J., Martini A., Rabinovich C.E., Ruperto N. 2011 American college of rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. *Arthritis Care & Research*. 2011; 63 (4): 465–482. DOI: 10.1002/acr.20460.
  8. Каледа М.И., Никишина И.П. Современный взгляд на внутрисуставное применение глюкокортикоидов в комплексной терапии ювенильных артритов. *Педиатрия*. 2016; 95 (3): 55–64.
  9. Баранов А.А., Алексеева Е.И., Бзарова Т.М., Валиева С.И., Денисова Р.В., Исаева К.Б., Карагулян Н.А., Литвицкий П.Ф., Митенко Е.В., Слепцова Т.В., Фетисова А.Н., Чистякова Е.Г., Тайбулатов Н.И., Морев С.Ю. Протокол ведения пациентов с ювенильным артритом. *Вопросы современной педиатрии*. 2013; 12 (1): 37–56. DOI: 10.15690/vsp.v12i1.557.
  10. Кузьмина Н.Н., Шелепина Т.А. Реабилитационная и медикаментозная терапия ювенильных хронических артритов. *Медицинский совет*. 2007; 3: 36–42.
  11. Новик Г.А., Абакумова Л.Н., Летенкова Н.М., Слизовский Н.В., Слизовская Н.Н. Ювенильные артриты – опыт диагностики и лечения. *Лечащий врач*. 2008; 4: 23–27.
  12. Ravelli A., Davi S., Bracciolini G., Pistorio A., Consolaro A., van Dijkhuizen E.H.P., Lattanzi B., Filocamo G., Verazza S., Gerloni V., Gattinara M., Pontikaki I., Insalaco A., De Benedetti F., Civino A., Presta G., Breda L., Marzetta V., Pastore S., Magni-Manzoni S., Maggio M.C., Garofalo F., Rigante D., Gattorno M., Malattia C., Picco P., Viola S., Lanni S., Ruperto N., Martini A., Italian Pediatric Rheumatology Study Group. Intra-articular corticosteroids versus intra-articular corticosteroids plus methotrexate in oligoarticular juvenile idiopathic arthritis: a multicentre, prospective, randomised, open-label trial. *Lancet* 2017; 389 (10072): 909–916. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30065-X.
  13. Nieto-González J.C., Monteagudo I. Intra-articular joint injections in juvenile idiopathic arthritis: state of the art. *Reumatol. Clin.* 2019; 15 (2): 69–72. DOI: 10.1016/j.reuma.2018.07.015.
  14. Jennings H., Hennessy K., Hendry G.J. The clinical effectiveness of intra-articular corticosteroids for arthritis of the lower limb in juvenile idiopathic arthritis: a systematic review. *Pediatr. Rheumatol. Online J.* 2014; 12: 23. DOI: 10.1186/1546-0096-12-23.
  15. Олюнин Ю.А. Внутрисуставные инъекции лекарственных препаратов в комплексном лечении ревматических заболеваний. *Современная ревматология*. 2015; 9 (1): 78–83. DOI: 10.14412/1996-7012-2015-1-78-83.
  16. Решетняк Т.М., Середавкина Н.В., Дыдыкина И.С., Насонов Е.Л. Глюкокортикоиды в терапии системной красной волчанки. *Клиницист*. 2013; 7 (3-4): 14–26. DOI: 10.17650/1818-8338-2013-3-4-14-26.
  17. Konai M.S., Vilar Furtado R.N., dos Santos M.F., Natour J. Monoarticular corticosteroid injection versus systemic administration in the treatment of rheumatoid arthritis patients: a randomized double-blind controlled study. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2009; 27 (2): 214–221.
  18. Cleary A.G., Murphy H.D., Davidson J.E. Intra-articular corticosteroid injections in juvenile idiopathic arthritis. *Arch. Dis. Child.* 2003; 88 (3): 192–196. DOI: 10.1136/adc.88.3.192.
  19. Zulian F., Martini G., Gobber D., Plebani M., Zaccarello F., Manners P. Triamcinolone acetonide and hexacetonide intra-articular treatment of symmetrical joints in juvenile idiopathic arthritis: a double-blind trial. *Rheumatology*. 2004; 43 (10): 1288–1291. DOI: 10.1093/rheumatology/keh313/
  20. Marti P., Molinari L., Bolt I.B., Seger R., Saurenmann R.K. Factors Influencing the efficacy of intra-articular steroid injections in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Eur. J. Pediatr.* 2008; 167 (4): 425–430. DOI: 10.1007/s00431-007-0525-9.
  21. Cunha A.L., Miotto E.S.V.B., Osaku F.M., Niemxski L.B., Furtado R.N., Natour J., Sande M.T., Terreri L.R. Intra-articular injection in patients with juvenile idiopathic arthritis: factors associated with a good response. *Rev. Bras. Reumatol. Engl. Ed.* 2016; 56 (6): 490–496. DOI: 10.1016/j.rbre.2016.01.001.
  22. Leow O.M.Y., Lim L.K., Ooi P.L., Shek L.P.C., Ang E.Y.N., Son M.B. Intra-articular glucocorticoid injections in patients with juvenile idiopathic arthritis in a Singapore hospital. *Singapore Med. J.* 2014; 55 (5): 248–252. DOI: 10.11622/smedj.2014066.
  23. Papadopoulou C., Kostik M., Gonzalez-Fernandez M.I., Bohm M., Nieto Gonzalez J.C., Pistorio A., Lanni S., Consolaro A., Martini A., Ravelli A. Delineating the role of multiple intraarticular corticosteroid injections in the management of juvenile idiopathic arthritis in the biologic era. *Arthritis Care Res.* 2013; 65 (7): 1112–1120. DOI: 10.1002/acr.21947.
  24. Gotte A.C. Intra-articular corticosteroids in the treatment of juvenile idiopathic arthritis: Safety, efficacy, and features affecting outcome. A comprehensive review of the literature. *Open Access. Rheumatol.* 2009; 1: 37–49. DOI: 10.2147/oarr.s5103.
  25. Lanni S., Bertamino M., Consolaro A., Pistorio A., Magni-Manzoni S., Galasso R., Lattanzi B., Calvo-Aranda B., Martini A., Ravelli A. Outcome and predicting factors of single and multiple intra-articular corticosteroid injections in children with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology*. 2011; 50 (9): 1627–1634. DOI: 10.1093/rheumatology/ker165.
  26. Furtado R.N.V., Machado F.S., Luz K.R.D., Santos M.F.D., Konai M.S., Lopes R.V., Natour J. Intra-articular injection with triamcinolone hexacetonide in patients with rheumatoid arthritis: prospective assessment of goniometry and joint inflammation parameters. *Rev. Bras. Reumatol. Engl. Ed.* 2017; 57 (2): 115–121. DOI: 10.1016/j.rbre.2016.08.001.

## Сведения об авторах

**Кожевников Алексей Николаевич**, канд. мед. наук, врач-ревматолог, отделение последствий травм и ревматоидного артрита, НМИЦ детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-0509-6198.

**Поздеева Нина Анатольевна**, канд. мед. наук, врач-ревматолог, зам. гл. врача по лечебной работе, НМИЦ детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-7324-3332.

**Никитин Максим Сергеевич**, зав. отделением последствий травм и ревматоидного артрита, НМИЦ детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0001-8987-3489.

**Маричева Ольга Николаевна**, канд. мед. наук, врач-рентгенолог, зав. отделением лучевой диагностики, НМИЦ детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-1688-7569.

**Мурашко Татьяна Валерьевна**, врач-рентгенолог, отделение лучевой диагностики, НМИЦ детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-0596-3741.

**Орлова Наталья Юрьевна**, врач ультразвуковой диагностики, отделение лучевой диагностики, НМИЦ детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-1467-202X.

**Богданова Светлана Леонидовна**, зав. отделением лабораторной диагностики, НМИЦ детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0001-9948-3345.

(✉) **Кожевников Алексей Николаевич**, e-mail: Infant\_doc@mail.ru

Поступила в редакцию 30.04.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Возможности выявления и коррекции сниженной вариабельности ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с депрессиями в условиях кардиологического отделения

Нонка Т.Г.<sup>1</sup>, Лебедева Е.В.<sup>1,2</sup>, Репин А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Выявить наличие и способ коррекции сниженной вариабельности ритма сердца (ВРС) у больных с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с депрессивными расстройствами (ДР).

**Материалы и методы.** Больные с ИБС ( $n = 79$ , со стенокардией напряжения II–III функциональных классов и перенесенным инфарктом миокарда давностью более 6 мес), распределены на две группы: 50 больных ИБС с депрессивными расстройствами (первая группа) и 29 больных ИБС без депрессивной симптоматики (вторая группа). Антидепрессант агомелатин получали 17 больных (1-я подгруппа), 12 больных – флувоксамин, флуоксетин (2-я подгруппа). От приема антидепрессантов отказался 21 больной (3-я подгруппа). Исходно и через 6 мес проведена оценка параметров ВРС с помощью аппарата SCHILLER MT-200 Holter-ECG (Швейцария).

**Результаты.** У пациентов с депрессией в сравнении с пациентами без нее выявлено значимое снижение ВРС: SDNN (96 [83; 117] мс vs 110 [98; 127] мс,  $p = 0,02$ ), SDANN (80,5 [67; 94] мс vs 91 [79; 102] мс,  $p = 0,03$ ), SDNNindx (46,5 [38; 56] мс vs 55 [48; 66] мс,  $p = 0,006$ ), rMSSD (29 [23; 38] мс vs 33 [29; 45] мс,  $p = 0,04$ ), pNN50% (3,9 [2,4; 5,7] vs 5,7 [2,9; 12,6],  $p = 0,03$ ). Исходно 1, 2, 3-я подгруппы по всем параметрам ВРС не различались. На фоне терапии антидепрессантами между 2-й и 3-й подгруппами появились существенные отличия по SDNN (110 [96; 140] мс vs 85,5 [75; 103] мс,  $p = 0,008$ ), SDANN (93,7 ± 22,9 мс vs 72,7 ± 21,4 мс,  $p = 0,02$ ), SDNNindx (55,8 ± 16,4 мс vs 42,4 ± 10,8 мс,  $p = 0,01$ ) и pNN50% (7,8 ± 6,7 vs 3,6 ± 1,8,  $p = 0,02$ ), а также между 1-й и 3-й подгруппами (SDANN 93,6 ± 28,5 мс vs 72,7 ± 21,4 мс,  $p = 0,03$ ), rMSSD (36,5 [28,5; 51] мс vs 26,5 [25; 32] мс,  $p = 0,02$ )).

**Заключение.** У больных ИБС при наличии ДР возникает серьезное нарушение регуляции сердечного ритма вследствие выраженного снижения показателей ВРС, что может серьезно повлиять на течение и прогноз коронарной болезни. Назначение современных антидепрессантов можно использовать в качестве способа коррекции вегетативной дисфункции у больных ИБС в сочетании с депрессией.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, депрессивные расстройства, инфаркт миокарда, вариабельность ритма сердца, антидепрессанты.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

**Для цитирования:** Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н. Возможности выявления и коррекции сниженной variability ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с депрессиями в условиях кардиологического отделения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 65–70. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-65-70>.

## Possibilities of detecting and correcting decreased heart rate variability in patients with coronary artery disease in combination with depressive disorders in a cardiology department

Nonka T.G.<sup>1</sup>, Lebedeva E.V.<sup>1,2</sup>, Repin A.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

<sup>2</sup> Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To identify the presence and the correction method of decreased heart rate variability (HRV) in patients with chronic coronary artery disease (CAD) and comorbid depressive disorders (DD).

**Materials and methods.** 79 patients with CAD (with class II–III angina pectoris and myocardial infarction that occurred more than 6 months ago) were divided into two groups. The first group included 50 CAD patients with depression, and the second – 29 CAD patients without depression. 17 patients received agomelatine (1st subgroup), 12 patients received fluvoxamine and fluoxetine (2nd subgroup), and 21 patients refused to take antidepressants (3rd subgroup). Initially and after 6 months, the HRV parameters were evaluated using the SCHILLER MT-200 Holter-ECG apparatus (Switzerland).

**Results.** A significant decrease in HRV was revealed in the patients with depression compared to the patients without it: SDNN (96 [83; 117] ms vs. 110 [98; 127] ms;  $p = 0.02$ ), SDANN (80.5 [67; 94] ms vs. 91 [79; 102] ms;  $p = 0.03$ ), SDNNindex (46.5 [38; 56] ms vs. 55 [48; 66] ms;  $p = 0.006$ ), rMSSD (29 [23; 38] ms vs. 33 [29; 45] ms;  $p = 0.04$ ), pNN50% (3.9 [2.4; 5.7] vs. 5.7 [2.9; 12.6];  $p = 0.03$ ). Initially, the 1st, 2nd, and 3rd subgroups did not differ in all HRV parameters. Against the background of antidepressant therapy, there were significant differences between the 2nd and 3rd subgroups in SDNN (110 [96; 140] ms vs. 85.5 [75; 103] ms;  $p = 0.008$ ), SDANN (93.7 ± 22.9 ms vs. 72.7 ± 21.4 ms;  $p = 0.02$ ), SDNNindex (55.8 ± 16.4 ms vs. 42.4 ± 10.8 ms;  $p = 0.01$ ) and pNN50% (7.8 ± 6.7 vs. 3.6 ± 1.8;  $p = 0.02$ ), as well as between the 1st and 3rd subgroups (SDANN (93.6 ± 28.5 ms vs. 72.7 ± 21.4 ms;  $p = 0.03$ ), rMSSD (36.5 [28.5; 51] ms vs. 26.5 [25; 32] ms;  $p = 0.02$ )).

**Conclusion.** In patients with CAD with comorbid DD, significant impairment of heart rhythm regulation occurs due to a pronounced decrease in HRV, which can seriously affect the course and prognosis of CAD. Prescribing modern antidepressants can be used as a method of correcting autonomic dysfunction in patients with CAD with comorbid depression.

**Key words:** coronary artery disease, depressive disorders, myocardial infarction, heart rate variability, antidepressants.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee Cardiology Research Institute NRMC.

**For citation:** Nonka T.G., Lebedeva E.V., Repin A.N. Possibilities of detecting and correcting decreased heart rate variability in patients with coronary artery disease in combination with depressive disorders in a cardiology department. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 65–70. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-65-70>.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время существует очень высокая коморбидность двух таких распространенных патологий, как сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и депрессивные расстройства (ДР). Согласно прогнозам Всемирной организации здравоохранения, к 2030 г. ишемическая болезнь сердца (ИБС) и депрессия станут ведущими причинами нетрудоспособности, инвалидизации в странах с высоким уровнем доходов во всем мире [1, 2]. Известно, что, с одной стороны, депрессия повышает риск возникновения ИБС, с другой – является сильным предиктором плохого прогноза у больных с ССЗ. Выраженная депрессивная симптоматика ассоциирована с риском смерти у больных с сердечно-сосудистой патологией [3–5]. Смертность у больных, перенесших инфаркт миокарда и страдающих депрессией, в 3–6 раз выше, чем у больных без расстройства психики, при этом ДР выявляются у 35–40% пациентов после инфаркта миокарда [4].

Доказано значительное ухудшение клинической картины коронарной болезни сердца на фоне ДР, что проявляется ухудшением класса стенокардии, значительным снижением толерантности к физической нагрузке, пациенты имеют более низкое качество жизни [6]. Следует учитывать, что лишь 30% пациентов предъявляют жалобы психологического характера, ведущие в дальнейшем к развитию депрессивных расстройств, что способствует гиподиагностике ДР и несвоевременному назначению соответствующей терапии [7, 8]. Такая ситуация приводит к тому, что больные чаще обращаются за врачебной помощью в поликлинику, вызывают скорую помощь, чаще госпитализируются [9].

Важнейшим механизмом влияния депрессии на прогноз ИБС является активация симпатико-адреналовой системы. Это вызывает дисфункцию в регуляции ритма сердца, снижая его вариабельность, что повышает риск развития нарушений ритма [10, 11]. Представленные данные диктуют необходимость своевременного распознавания депрессии, коррекции психоэмоциональных факторов [12], назначение в дополнение к основной терапии хронической ИБС еще и современных антидепрессантов. Доказано благоприятное влияние терапии антидепрессантами на клиническое течение ИБС [4, 5, 11]. Однако мало опыта изучения влияния антидепрессантов на вегетативную дисфункцию у больных с ИБС после перенесенного инфаркта миокарда в сочетании с ДР. В свою очередь, именно вегетативная дисфункция определяет важную роль в прогнозе ИБС.

Цель исследования – выявить наличие и определить способ коррекции сниженной ВРС у больных с хронической ИБС в сочетании с ДР.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В отделении кардиологического профиля обследовано и включено в исследование 79 больных с хронической ИБС (стенокардия напряжения II–III функциональных классов), перенесших острый инфаркт миокарда давностью более 6 мес. Все пациенты подписали информированное согласие на проведение исследования. После они были распределены на две группы: 50 больных ИБС с депрессивными расстройствами (первая группа) и 29 больных ИБС без депрессивной симптоматики (вторая группа). Средний возраст в группах составил  $(57,5 \pm 6,4)$  и  $(57,5 \pm 7,4)$  лет соответственно.

Во время обследования основной патологии (ИБС) всем пациентам предлагалось тестирование специальными шкалами для выявления депрессии (Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) и Шкала депрессии Бека (BDI)). При выявлении повышенного уровня депрессии (более 8 баллов по HADS или более 19 по BDI), пациенты консультировались психиатром. Диагноз «депрессивные расстройства» подтверждался психиатром, последующее наблюдение больных также проводилось совместно с врачом-психиатром в рамках мультидисциплинарной команды. При подтверждении диагноза ДР больным назначались антидепрессанты.

Таким образом, 29 больных с ДР лечились антидепрессантами: из них 17 человек получали агонист мелатонинергических рецепторов МТ<sub>1</sub>, МТ<sub>2</sub>-агоме-латин (1-я подгруппа), 12 больных – препараты из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (флувоксамин, флуоксетин) (2-я подгруппа) в течение 6 мес. Подбор дозы осуществлялся психиатром индивидуально для каждого пациента. По разным причинам 21 больной от приема антидепрессантов отказался (3-я подгруппа). При обследовании всем больным исходно и через 6 мес проведено суточное мониторирование электрокардиограммы по Холтеру с помощью аппарата SCHILLER MT-200 Holter-ECG (Швейцария).

Нами были проанализированы следующие параметры временного анализа ВРС: процент последовательных интервалов, различающихся более чем на 50 мс (pNN50, %); стандартное отклонение интервала RR (SDNN, мс); корень квадратный из средней суммы квадратов разниц между соседними нормальными RR-интервалами (r-MSSD, мс); стандартное отклонение средних значений RR-интервалов за все 5-минутные фрагменты (SDANN, мс); среднее значение стандартных отклонений по всем 5-минутным участкам (SDNNindex, мс). ВРС определялась только на синусовом ритме. За нормальные показатели ВРС были взяты временные параметры для здоровых лиц

(Bigger J.T. и соавт., 1995): pNN50 –  $9 \pm 7\%$ , SDNN –  $141 \pm 38$  мс, SDNN index –  $54 \pm 15$  мс, rMSSD –  $27 \pm 12$  мс, SDANN –  $127 \pm 35$  мс.

Для статистической обработки материалов использована программа Statistica for Windows v. 10.0 (StatSoft Inc., США). Представление полученных данных в виде  $M \pm SD$ ;  $n$  (%); медианы и интерквартильного размаха  $Me$  [25%; 75%]. Уровень статистической значимости различий  $p < 0,05$ . Для проверки на нормальность распределения фактических данных использован критерий Шапиро – Уилка. При нормальном распределении выборки проверку достоверности различий оценивали с помощью  $t$ -критерия. При непараметрическом распределении и количестве групп, равном двум, применяли критерий Манна – Уитни. При количестве выборок более двух, во избежание эффекта множественных сравнений, использовали непараметрический аналог дисперсионного анализа –  $H$ -критерий Краскела – Уоллиса. Для сравнения двух зависимых выборок по какому-либо признаку применялся  $t$ -критерий Стьюдента (при нормальном распределении выборки) и критерий Вилкоксона (при ненормальном распределении выборки). Для проверки достоверности различий качественных переменных использовался анализ таблиц сопряженности и критерия  $\chi^2$  Пирсона (при малых частотах – с поправкой Йетса на непрерывность).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

По основным клинко-демографическим характеристикам, функциональному классу стенокардии напряжения, гемодинамическим показателям, уровню холестерина и триглицеридов группы были сопоставимы (табл. 1).

У всех больных достигнуты целевые значения артериального давления и пульса. Пациенты получали основные группы препаратов терапии стабильной стенокардии без достоверных различий между первой и второй группами (табл. 2).

При анализе параметров ВРС исходно получены значимые различия между первой и второй группами по всем показателям (табл. 3). Кроме того, в обеих группах в сравнении со здоровыми лицами отмечалось снижением SDNN и SDANN.

Исходно больные с коморбидными ИБС и ДР (1, 2, 3-я подгруппы) по всем параметрам ВРС не различались ( $p > 0,05$ ). Пациенты на протяжении 6 мес принимали подобранную базовую терапию ИБС. У больных 2-й подгруппы в сравнении с больными 3-й подгруппы через 6 мес отмечено значительное повышение параметров ВРС (SDNN, SDANN, SDNNindx и pNN50%) (табл. 4).

Таблица 1

| Клинко-демографическая характеристика групп          |                              |                                |           |
|------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------|
| Показатель                                           | Группа                       |                                | $p$       |
|                                                      | первая, $n = 50$             | вторая, $n = 29$               |           |
| Средний возраст, лет, $M \pm SD$                     | $57,5 \pm 6,4$               | $57,5 \pm 7,4$                 | 0,4       |
| Мужчины, абс. (%)                                    | 45 (90)                      | 26 (90)                        | 1         |
| Женщины, абс. (%)                                    | 5 (10)                       | 3 (10)                         | 1         |
| Передний инфаркт миокарда, абс. (%)                  | 26 (52)                      | 18 (62)                        | 1         |
| Задний инфаркт миокарда, абс. (%)                    | 24 (48)                      | 16 (55)                        | 0,9       |
| Коронарный стаж, мес, $Me$ [25%; 75%]                | 48,0 [20,5; 96]              | 30,0 [12; 84]                  | 0,2       |
| Давность инфаркта миокарда, мес, $Me$ [25%; 75%]     | 20,5 [7; 96]                 | 24 [7; 72]                     | 0,7       |
| Гипертоническая болезнь, абс. (%)                    | 50 (100)                     | 29 (100)                       | 1,0       |
| Стаж гипертонической болезни, мес, $Me$ [25%; 75%]   | 90 [24; 162]                 | 90 [36; 132]                   | 0,8       |
| Курение, абс. (%)                                    | 25 (50)                      | 15 (52)                        | 0,9       |
| ИМТ, $кг/м^2$ , $M \pm SD$                           | $28,4 \pm 4,3$               | $28,5 \pm 3,5$                 | 1,0       |
| Ожирение (ИМТ $> 29,9$ ), абс. (%)                   | 17 (34)                      | 11 (38)                        | 0,7       |
| ЧКВ в анамнезе, абс. (%)                             | 40 (80)                      | 27 (93)                        | 0,1       |
| Однососудистое поражение коронарного русла, абс. (%) | 15 (30)                      | 9 (31)                         | 0,9       |
| Двухсосудистое поражение коронарного русла, абс. (%) | 20 (40)                      | 12 (41)                        | 0,9       |
| Трехсосудистое поражение коронарного русла, абс. (%) | 15 (30)                      | 8 (28)                         | 0,9       |
| ФК стенокардии, абс. (%):                            |                              |                                |           |
| – ФК II                                              | 38 (76)                      | 24 (83)                        | 0,5       |
| – ФК III                                             | 12 (24)                      | 5 (17)                         | 0,5       |
| Общий холестерин, ммоль/л, $Me$ [25%; 75%]           | 5,3 [4,4; 6,4]               | 5,3 [4,6; 6,3]                 | 1,0       |
| Триглицериды, ммоль/л, $Me$ [25%; 75%]               | 1,9 [1,3 2,3]                | 1,6 [1,4; 2,0]                 | 0,3       |
| ФВ, В-режим, %, $M \pm SD$                           | $60,9 \pm 10,4$              | $61,2 \pm 7,7$                 | 0,9       |
| КДР/КСР, мм, $M \pm SD$ , $Me$ [25%; 75%]            | $48,7 \pm 6,2$ / 31 [28; 37] | $49,4 \pm 4,4$ / 32,7 [29; 37] | 0,1/0,4   |
| КДО/КСО, мл, $Me$ [25%; 75%]                         | 105 [97; 137]/40 [33; 55]    | 116 [100; 135]/44 [35; 56]     | 0,4/0,5   |
| Среднее САД, мм рт. ст., $M \pm SD$                  | $121 \pm 12,4$               | $120,5 \pm 8,43$               | 1         |
| Среднее ДАД, мм рт. ст., $Me$ [25%; 75%]             | 76 [70; 82]                  | 75 [73; 78]                    | 0,7       |
| Среднесуточная ЧСС в мин, $Me$ [25%; 75%]            | 65 [61; 71]                  | 64 [61; 67]                    | $p = 0,3$ |

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство, ФК – функциональный класс, ФВ – фракция выброса, КДР – конечно-диастолический размер, КСР – конечно-систолический размер, КДО – конечно-диастолический объем, КСО – конечно-систолический объем, САД – систолическое давление, ДАД – диастолическое давление, ЧСС – частота сердечных сокращений.

Таблица 2

| Сравнительная характеристика терапии исследуемых групп, абс. (%) |                |                |     |
|------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|-----|
| Показатель                                                       | Группа         |                | p   |
|                                                                  | первая, n = 50 | вторая, n = 29 |     |
| Бета-адреноблокаторы                                             | 47 (94)        | 27 (93)        | 0,9 |
| Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента                     | 40 (80)        | 26 (89)        | 0,3 |
| Дезагреганты                                                     | 50 (100)       | 29 (100)       | 1,0 |
| Статины                                                          | 50 (100)       | 29 (100)       | 1,0 |
| Антагонисты кальция                                              | 15 (30)        | 7 (24)         | 0,6 |
| Нитраты                                                          | 1 (2)          | 1 (3,4)        | 0,2 |
| Диуретики                                                        | 14 (28)        | 5 (17)         | 0,3 |

Таблица 3

| Сравнение показателей ВРС исходно у больных первой и второй групп, мс, Me [25%; 75%] |                |                 |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------|-------|
| Показатель                                                                           | Группа         |                 | p     |
|                                                                                      | первая, n = 50 | вторая, n = 29  |       |
| SDNN                                                                                 | 96 [83; 117]   | 110 [98; 127]   | 0,02  |
| SDANN                                                                                | 80,5 [67; 94]  | 91 [79; 102]    | 0,03  |
| SDNNindx                                                                             | 46,5 [38; 56]  | 55 [48; 66]     | 0,006 |
| rMSSD                                                                                | 29 [23; 38]    | 33 [29; 45]     | 0,04  |
| pNN, 50%                                                                             | 3,9 [2,4; 5,7] | 5,7 [2,9; 12,6] | 0,03  |

*Примечание.* Здесь и в табл. 4: pNN50% – доля (%) последовательных интервалов, различающихся более чем на 50 мс; r-MSSD – корень квадратный из средней суммы квадратов разниц между соседними нормальными RR-интервалами, SDANN – стандартное отклонение средних значений RR-интервалов за все 5-минутные фрагменты, SDNN – стандартное отклонение интервала RR, SDNNindex – среднее значение стандартных отклонений по всем 5-минутным участкам.

Таблица 4

| Сравнение показателей ВРС у больных 2-й и 3-й подгрупп через 6 мес |                 |                 |       |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-------|
| Показатель                                                         | Подгруппа       |                 | p     |
|                                                                    | вторая, n = 12  | третья, n = 21  |       |
| SDNN, мс, Me [25%; 75%]                                            | 110 [96; 140]   | 85,5 [75; 103]  | 0,008 |
| SDANN, мс, $M \pm SD$                                              | 93,7 $\pm$ 22,9 | 72,7 $\pm$ 21,4 | 0,02  |
| SDNNindx, мс, $M \pm SD$                                           | 55,8 $\pm$ 16,4 | 42,4 $\pm$ 10,8 | 0,01  |
| rMSSD, мс, Me [25%; 75%]                                           | 31 [24; 51]     | 26,5 [25; 32]   | 0,4   |
| pNN50%, мс, $M \pm SD$                                             | 7,8 $\pm$ 6,7   | 3,6 $\pm$ 1,8   | 0,02  |

Также существенное повышение двух параметров ВРС отмечено у пациентов 1-й подгруппы в сравнении с пациентами 3-й подгруппы, не получавших антидепрессанты (SDANN (93,6  $\pm$  28,5 мс против 72,7  $\pm$  21,4 мс;  $p = 0,03$ ); rMSSD (36,5 [28,5; 51] мс против 26,5 [25; 32] мс;  $p = 0,02$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Мы изучили один из серьезных механизмов влияние аффективных расстройств на течение ИБС. Наше исследование подтвердило, что у больных ИБС

и диагностированной депрессией отмечается низкая ВРС [10, 11]. У больных ИБС как с депрессией, так и без нее наблюдалось снижение параметров SDNN, SDANN в сравнении со здоровыми людьми, что свидетельствует о ригидности ритма у больных с постинфарктным кардиосклерозом. Снижение SDNN говорит об уменьшении общей активности ВРС, снижение SDANN отражает активацию симпатического тонуса и подавление парасимпатического влияния.

Пациенты ИБС с депрессией и без расстройства психики не различались по основным клинико-демографическим параметрам и сопутствующей терапии, что исключало их влияние на параметры ВРС. При присоединении ДР к ИБС происходит повышение симпто-адреналовой активности, влияющее на регуляцию сердечного ритма и приводящее к еще большему снижению основных параметров ВРС (SDNN, SDANN SDNNindx, rMSSD, pNN50%). Таким образом, пациенты, страдающие одновременно ИБС и ДР, имеют более худший прогноз, что неоднократно доказано во многих исследованиях [3–5].

Это связано с тем, что низкая ВРС является предиктором внезапной смерти из-за возможного развития жизнеугрожающих аритмий. Конечно, такие больные требуют наиболее пристального внимания и наблюдения, а также своевременного назначения современных антидепрессантов. Наши пациенты получали антидепрессанты двух групп – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (флувоксамин, флуоксетин) и агонист мелатонинергических рецепторов МТ<sub>1</sub>, МТ<sub>2</sub> (агомелатин). Выбор такой группы антидепрессантов связан с их хорошей эффективностью и безопасностью у больных кардиологического профиля по данным литературы [4–6, 11].

Для оценки вегетативной дисфункции использован временной метод анализа ВРС, обладающий высокой прогностической значимостью и воспроизводимостью показателей. В нашем исследовании наибольшим благоприятным влиянием на вегетативную дисфункцию обладали селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, на фоне шестимесячного курса отмечалось повышение большинства анализируемых параметров ВРС (SDNN, SDANN, SDNNindx и pNN50%). Шестимесячный курс агомелатином привел к повышению таких временных параметров ВРС, как SDANN и rMSSD. Таким образом, назначение антидепрессантов обеих групп в дополнение к основной терапии ИБС позволяет повысить общий вегетативный тонус, парасимпатическую активность и подавить симпатическую активность, что может значительно снизить риск развития нарушений ритма сердца и улучшить клиническое течение коронарной болезни сердца.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клиническая картина больных ИБС сопровождается неблагоприятным прогностическим расстройством: снижением показателей ВРС при наличии коморбидного ДР. Полученные нами результаты показали, что назначение современных антидепрессантов можно использовать в качестве способа коррекции вегетативной дисфункции у больных коронарной болезнью в сочетании с депрессией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Khandaker G.M., Zuber V., Rees J.M.B., Carvalho L., Mason A.M., Foley C.N., Gkatzionis A., Jones P.B., Burgess S. Shared mechanisms between coronary heart disease and depression: findings from a large UK general population-based cohort. *Molecular. Psychiatr.* 2020; 25 (7): 1477–1486. DOI: 10.1038/s41380-019-0395-3.
2. Patel H., Mazur W., Williams K.A. Sr, Kalra D.K. Myocardial viability-state of the art: is it still relevant and how to best assess it with imaging? *Trends Cardiovasc. Med.* 2018; 28 (1): 24–37. DOI: 10.1016/j.tcm.2017.07.001.
3. Пушкарев Г.С., Кузнецов В.А., Фишер Я.А. и др. Влияние депрессивной симптоматики на риск смерти от всех причин у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, перенесших сердечную ресинхронизирующую терапию. *Кардиология.* 2019; 59 (1): 5–11. DOI: 10.18087/cardio.2019.1.10211.
4. Лебедева Е.В., Нонка Т.Г., Репин А.Н., Шишнев Е.В., Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Левчук Л.А. Современная психокardiология. Томск: Интегральный переплет, 2019: 160.
5. Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Лебедева Е.В., Яковлева А.Л., Лосенков И.С., Репин А.Н., Нонка Т.Г. Клинико-динамические и биологические аспекты полиморфизма и эффективности терапии расстройств настроения. *Сибирский медицинский журнал.* 2018; 33 (3): 86–92. DOI: 10.29001/2073-8552-2018-33-3-86-92.
6. Лебедева Е.В., Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Репин А.Н., Нонка Т.Г. Клиническая характеристика аффективных расстройств и эффективность антидепрессивной терапии у больных хронической ишемической болезнью сердца. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018; 17 (4): 85–93. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-85-93.
7. Spurgeon L., James G., Sackley C. The Hospital Anxiety and Depression Scale: a pilot study to examine its latent structure and the link between psychological state and symptom severity in transient ischaemic attack patients. *Psychol. Health Med.* 2016; 21 (5): 632–638. DOI: 10.1080/13548506.2015.1074711.
8. Arat S., de Cock D., Moons P., Vandenbergh J., Westhovens R. Modifiable correlates of illness perceptions in adults with chronic somatic conditions: A systematic review. *Res. Nurs. Health.* 2018; 41 (2): 173–184. DOI: 10.1002/nur.21852.
9. Palacios J., Khondoker M., Mann A., Tylee A., Hotopf M. Depression and anxiety symptom trajectories in coronary heart disease: Associations with measures of disability and impact on 3-year health care costs. *J. Psychosom. Res.* 2018; 104: 1–8. DOI: 10.1016/j.jpsy-chores.2017.10.015.
10. Вершута В.А., Халилова М.А., Гогниева Д.Г., Богданова Р.С., Сыркина Е.А., Меситская Д.Ф., Копылов Ф.Ю., Сыркин А.Л. Тревожные и депрессивные расстройства у больных с нарушениями сердечного ритма. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия.* 2019; 12 (4): 314–320. DOI: 10.17116/kardio201912041314.
11. Баранов А.П., Струтынский А.В., Ойроткинова О.Ш., Баранова А.А., Тришина В.В., Голубев Ю.Ю., Кружалов А.Н. Возможности терапии тревожно-депрессивных расстройств у больных с хронической сердечной недостаточностью. *Российский кардиологический журнал.* 2017; 22 (1): 128–135. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-1-128-135.
12. Кубарева М.И., Ибатов А.Д. Психосоциальные факторы и ишемическая болезнь сердца. *Терапевтический архив.* 2019; 91 (12): 70–74. DOI: 10.26442/00403660.2019.12.000086.

## Сведения об авторах

**Нонка Татьяна Геннадьевна**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение общеклинической кардиологии и эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7913-3732.

**Репин Алексей Николаевич**, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения общеклинической кардиологии и эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7123-0645.

**Лебедева Елена Владимировна**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение общеклинической кардиологии и эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ; ст. науч. сотрудник, отделение аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6117-6454.

(✉) **Нонка Татьяна Геннадьевна**, e-mail: ntg@sibmail.com

Поступила в редакцию 03.07.2020

Подписана в печать 28.12. 2020

## Обострение астмы и нейтрофильный сегмент воспаления бронхов у пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей

Пирогов А.Б.<sup>1</sup>, Приходько А.Г.<sup>1</sup>, Афанасьева Е.Ю.<sup>1</sup>, Шелудько Е.Г.<sup>1</sup>, Горчакова Я.Г.<sup>1</sup>, Чжоу С.<sup>2</sup>, Ли Ц.<sup>2</sup>, Перельман Ю.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)  
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

<sup>2</sup> Первая аффилированная клиника, Хайнаньский медицинский университет  
Китайская Народная Республика, г. Хайкоу, Longhua District, Longhuang Road, 31

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Нейтрофилы могут играть значительную роль в формировании бронхиального воспаления при обострении бронхиальной астмы (БА) у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП).

**Цель.** Оценить роль нейтрофилов в динамике воспалительного паттерна бронхов при обострении БА у пациентов с ХГДП.

**Материалы и методы.** У 31 больного (средний возраст  $37,2 \pm 2,7$  лет) персистирующей БА со среднетяжелым обострением и ранее установленной холодовой гиперреактивностью дыхательных путей при проведении стандартной изокапнической гипервентиляции холодным ( $-20^\circ\text{C}$ , 3 мин) воздухом (ИГХВ) оценивали уровень контроля БА (Asthma Control Test, АСТ, баллы), функцию внешнего дыхания (объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ<sub>1</sub>), максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25–75% форсированной жизненной емкости легких (МОС<sub>25–75</sub>)), исследовали индуцированную мокроту (ИМ) исходно и через 24 нед наблюдения. На момент обследования больным с целью купирования обострения в течение первых 10 дней дополнительно назначался преднизолон перорально (в максимальной дозе 30 мг), затем 24 нед они продолжали лечение комбинацией будесонид/формотерол (640/18 мкг/сут).

**Результаты.** На момент первичного обследования АСТ составил 17,0 (13,0; 19,5) баллов, ОФВ<sub>1</sub>  $89,1 \pm 3,9\%$ , число нейтрофилов в мокроте  $55,9 \pm 5,6\%$ . В конце лечения уровень контроля над астмой составил 22,0 (17,0; 24,5) ( $p = 0,037$ ), ОФВ<sub>1</sub>  $96,2 \pm 2,9\%$  ( $p = 0,038$ ), количество нейтрофилов в ИМ снижалось, но оставалось достаточно высоким ( $40,0 \pm 5,5\%$ ;  $p = 0,048$ ); число эозинофилов не изменялось. Построено уравнение линейной регрессии, показавшее зависимость между исходно высоким количеством нейтрофилов в мокроте, другими клеточными элементами мокроты, уровнем контроля над болезнью и степенью выраженности реакции бронхов после проведения острой бронхопровокационной пробы ИГХВ.

**Заключение.** Обострение у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей ассоциируется с увеличением нейтрофильного пула бронхиального воспалительного инфильтрата и коррелирует со степенью выраженности реакции на холодовую бронхопровокацию и уровнем контроля над заболеванием.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, фаза обострения, нейтрофильный сегмент воспаления, паттерн воспаления бронхов, контроль астмы.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-54-53019).

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД (протокол № 120/1 от 25.10.2017).

**Для цитирования:** Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Афанасьева Е.Ю., Шелудько Е.Г., Горчакова Я.Г., Чжоу С., Ли Ц., Перельман Ю.М. Обострение астмы и нейтрофильный сегмент воспаления бронхов у пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 71–78. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-71-78>.

## Exacerbation of asthma and neutrophil-dominated airway inflammation in patients with cold-induced airway hyperresponsiveness

Pirogov A.B.<sup>1</sup>, Prikhodko A.G.<sup>1</sup>, Afanaseva E.Yu.<sup>1</sup>, Sheludko E.G.<sup>1</sup>, Gorchakova Ya.G.<sup>1</sup>, Zhou X.<sup>2</sup>, Li Q.<sup>2</sup>, Perelman Yu.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration  
22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

<sup>2</sup> The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University  
31, Longhuang Road, Longhua District, Haikou, China

### ABSTRACT

**Background.** Neutrophils can play a significant role in the formation of bronchial inflammation in asthma exacerbation in patients with cold-induced airway hyperresponsiveness (CIAHR).

**Aim.** To evaluate the role of neutrophils in the dynamics of the inflammatory pattern of bronchi in the exacerbation of asthma in patients with CIAHR.

**Materials and methods.** In 31 patients (average age  $37.2 \pm 2.7$  years) with persistent bronchial asthma (BA) with moderate exacerbation and previously established cold-induced airway hyperresponsiveness during cold air isocapnic hyperventilation ( $-20^\circ\text{C}$ , 3 min) (CAIH), the level of asthma control (Asthma Control Test (ACT), score) and external respiration (forced expiratory volume in the first second ( $\text{FEV}_1$ ), forced expiratory flow between 25% and 75% of the vital capacity ( $\text{FEF}_{25-75}$ )) were assessed; induced sputum (IS) was examined initially and after 24 weeks of follow-up. At the time of the examination, the patients were additionally prescribed prednisone orally (at a maximum dose of 30 mg) for the first 10 days in order to stop the exacerbation, and then they continued treatment with a combination of budesonide / formoterol (640 / 18  $\mu\text{g}$  per day) for 24 weeks.

**Results.** At the time of the initial examination, the ACT score was 17.0 (13.0; 19.5),  $\text{FEV}_1$  was  $89.1 \pm 3.9\%$ , and the number of neutrophils in the sputum was  $55.9 \pm 5.6\%$ . At the end of treatment, the ACT score was 22.0 (17.0; 24.5) ( $p = 0.037$ ),  $\text{FEV}_1$  was  $96.2 \pm 2.9\%$  ( $p = 0.038$ ), the number of neutrophils in IS decreased, but remained high enough ( $40.0 \pm 5.5\%$ ;  $p = 0.048$ ); and the number of eosinophils did not change. A linear regression equation was made reflecting the relationship between the initially high number of neutrophils in the sputum, other cellular elements in the sputum, the level of asthma control, and the degree of severity of the bronchial response after a bronchoprovocation test with CAIH.

**Conclusion.** Asthma exacerbation in patients with CIAHR is associated with an increase in the neutrophil pool of the bronchial inflammatory infiltrate and correlates with the degree of severity of the airway reaction to cold bronchoprovocation and the level of asthma control.

**Key words:** bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, exacerbation, neutrophil-dominated airway inflammation, pattern of bronchial inflammation, asthma control.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The research was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No. 18-54-53019).

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Committee on Biomedical Ethics of the Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration (Protocol No. 120/1 of 25.10.2017).

**For citation:** Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Afanaseva E.Yu., Sheludko E.G., Gorchakova Ya.G., Zhou X., Li Q., Perelman Yu.M. Exacerbation of asthma and neutrophil-dominated airway inflammation in patients

## ВВЕДЕНИЕ

Клинический синдром холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП), связанный с постоянным воздействием такого экологически обусловленного триггера, как низкая температура атмосферного воздуха, диагностируется у большинства (60–80%) больных бронхиальной астмой (БА) любой степени тяжести [1]. Наряду с другими повреждающими факторами, воздействие низких температур, сопряженное с холодовым бронхоспазмом, является индуктором респираторного оксидативного стресса, который интерпретируется в качестве типового патологического процесса, инициирующего развитие и прогрессирование различных заболеваний легких [2].

Ввиду того, что клинические проявления астмы модулируются хроническим воспалением [3], приоритетная роль в изучении механизмов инертности контроля и обострений болезни может быть отведена ведущим клеточным эффекторам воспаления – эозинофильным и нейтрофильным лейкоцитам [4], генерирующим активные формы кислорода (АФК) и другие медиаторы оксидативного стресса, представляющие собой сигнальные молекулы, регулирующие экспрессию провоспалительных цитокинов [2]. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов потенциально способен активировать каскад воспалительных реакций, обуславливающих тяжелое клиническое течение БА [5].

Известно, что при резистентной к стероидной терапии астме у больных, получающих высокие дозы системных кортикостероидов, в бронхоальвеолярном лаваже регистрируется высокий уровень нейтрофилов, в то время как у пациентов, не получающих системные кортикостероиды, преобладает эозинофилия [6]. В период тяжелых обострений, фатальных атак астмы в дыхательных путях доминирует нейтрофильное воспаление [6]. Нейтрофилия бронхиального инфильтрата способствует усугублению клинических проявлений астмы, служит ограничению возможности достижения контроля над заболеванием, сопровождается ухудшением проходимости и увеличением частоты реакции дыхательных путей пациентов на холодовой стимул [4, 7].

На основании изучения бронхиальных биоптатов, полученных от больных с тяжелыми обострениями БА и эндотрахеальной интубацией по поводу дыхательной недостаточности, установлено, что в стадию

обострения слизистая оболочка бронхов усиленно инфильтрируется эозинофилами и, в большей степени, нейтрофилами [8]. При этом не исключается факт наличия у таких пациентов нейтрофилии дыхательных путей и до обострения – в связи с предшествующим тяжелым течением астмы на фоне лечения высокими дозами ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС) [9].

Вопрос о роли морфофункционального статуса нейтрофилов в манифестации воспалительного паттерна бронхов при обострении БА у больных с ХГДП не выяснен. Так как реакция бронхов на холодовое воздействие четко ассоциируется с низким уровнем контроля астмы и трудностями купирования холодового бронхоспазма [10], возможность активации при обострении инициированного нейтрофилами оксидативного стресса чревата риском потери контроля и утяжелением БА. Разрешение подобной проблемы связано с поиском средств адекватной фармакотерапевтической коррекции нейтрофильного звена воспаления.

Целью настоящей работы явилась оценка динамических изменений нейтрофильного сегмента воспалительного паттерна бронхов при обострении и вне обострения БА у пациентов с ХГДП.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены больные ( $n = 31$ , средний возраст  $(37,2 \pm 2,7)$  лет) обоего пола (14 мужчин, 17 женщин) с установленным диагнозом персистирующей БА (длительность заболевания  $\geq 2$  лет), клиническими симптомами обострения, согласно критериям [3], и ранее выявленной ХГДП при проведении острой бронхопровокационной пробы изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ) в течение 3 мин при температуре  $-20^\circ\text{C}$  [1].

До включения в исследование больные получали базисную противовоспалительную терапию комбинированным препаратом ИГКС/ДДБА в суточной дозе менее 1 000 мкг в пересчете на бекламетазон в течение не менее 3 мес. Антиастматическая терапия носила неадекватный и нерегулярный характер по различным, главным образом экономическим, причинам. С момента начала исследования (визит 1) на весь период наблюдения (24 нед) было спланировано лечение больных базисным противовоспалительным препаратом будесонид/формотерол (симбикорт турбухалер) в режиме стабильного дозирования, в повышенной дозе

640/18 мкг/сут. Для купирования симптомов обострения применялась терапия преднизолоном перорально (в максимальной дозе 30 мг) в течение 5–10 дней [3], затем 24 нед продолжалось лечение будесонидом/формотеролом в стабильной дозе.

Дизайн исследования включал исходно (визит 1), через 10 дней от начала лечения (визит 2) и по завершении 24 нед терапии (визит 3) оценку тяжести БА, определение функции внешнего дыхания с анализом параметров кривой «поток – объем» форсированного выдоха (объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ<sub>1</sub>), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ, пиковая объемная скорость, максимальная объемная скорость (МОС) выдоха на уровне 25–75% ФЖЕЛ (МОС<sub>25–75</sub>), средняя объемная скорость выдоха на уровне 25–75% ФЖЕЛ (СОС<sub>25–75</sub>) методом спирометрии на аппарате Easy on-PC (NDD Medizintechnik AG, Швейцария) с последующей регистрацией показателей после ингаляции  $\beta_2$ -агониста (сальбутамол, 400 мкг). На 1-м и 3-м визитах оценивали контроль астмы при помощи вопросника Asthma Control Test (ACT, Quality Metric Inc., 2002); в качестве критериев полного, хорошего и недостаточного контроля болезни служили результаты, составляющие 25, 24–20 и менее 20 баллов соответственно.

На 1-м и 3-м визитах проводили сбор и изучение образцов индуцированной мокроты (ИМ) [11]. Уровень цитоза выявляли путем определения количества клеток, содержащихся в 1 мкл мокроты. С целью определения клеточного состава цитологические мазки мокроты исследовали по стандартной методике при помощи светооптической иммерсионной микроскопии, с подсчетом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и периферических частях препарата. Подсчитанное в цитологических мазках количество нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, макрофагов, лимфоцитов и клеток бронхиального эпителия выражали в процентах, по результатам проводили формирование цитограмм.

Статистический анализ полученного материала проводился с помощью пакета программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и использованием программы «Автоматизированная система для научных исследований» [12]. Оценку соответствия признака закону нормального распределения проводили при помощи критериев Колмогорова – Смирнова, Пирсона – Мизеса. При нормальном типе распределения использовали парный *t*-критерий Стьюдента, при распределении данных, отличном от нормального, применяли парный критерий Вилкоксона. Описательная статистика количественных признаков представлена с помощью среднего арифметического, стандартной ошибки среднего арифметического

( $M \pm m$ ), а также медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_1; Q_3)$ . С целью установления формы зависимости и построения математической модели между случайной величиной и значениями нескольких переменных независимых величин применяли пошаговый множественный регрессионный анализ с построением уравнения регрессии. Для всех величин принимались во внимание уровни значимости (*p*) менее 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В соответствии с критериями [3], клинические симптомы обострения средней степени тяжести на момент первичного обследования присутствовали у всех включенных в исследование больных БА и характеризовались усилением дыхательного дискомфорта, одышки (92%), увеличением числа дневных эпизодов затрудненного дыхания и появлением их в ночное время (64%), удушьем (56%), различным по интенсивности и характеру кашлем (88%), свистящими хрипами (60%), заложенностью в грудной клетке (50%), увеличением потребности в применении короткодействующих бронхолитиков (94%). Опрос больных с последующей оценкой тяжести заболевания по валидизированному вопроснику АСТ показал низкий уровень контроля над заболеванием и значимое улучшение бронхиальной проходимости ( $\Delta$ ОФВ<sub>1</sub>) при проведении бронходилатационной пробы (таблица).

Клиническая успешность проведенного лечения, немаловажным условием реализации которой явилась приверженность больных к терапии, составившая на заключительном этапе наблюдения 85%, нашла отражение в динамике АСТ (см. таблицу). При оценке значений АСТ в целом по группе на момент 3-го визита наблюдалось статистически значимое повышение уровня контроля БА. На завершающем этапе наблюдения (визит 3) 62% больных заявляли о признаках достижения контроля над астмой (АСТ > 20 баллов), 22% больных, получавших регулярную терапию ИГКС, оценивали свое состояние без изменений (АСТ < 19 баллов), у 16% больных было зарегистрировано снижение АСТ по отношению к первичному тестированию (ниже 15 баллов), а также клинические признаки повторного обострения. Потребность в применении короткодействующих бронхолитиков продолжали испытывать 38% больных.

На 2-м визите через 10 дней применения преднизолона перорально (в дозе 30 мг) отмечалось отсутствие какой-либо динамики показателей бронхиальной проходимости (см. таблицу). Статистически значимое улучшение вентиляционной функции легких с уменьшением реакции при бронходилатационной пробе наступало к 3-му визиту, при длительном регулярном применении в стабильной дозе ИГКС/ДДБА.

Таблица

| Вентиляционная функция легких и уровень контроля у больных БА в динамике, $n = 31$ |                   |                  |                   |       |       |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------|-------|
| Показатель                                                                         | Визит 1           | Визит 2          | Визит 3           | $p$   | $p_1$ |
| ОФВ <sub>1</sub> , л, $M \pm m$                                                    | 3,17 $\pm$ 0,22   | 3,10 $\pm$ 0,16  | 3,43 $\pm$ 0,23   | 0,024 | 0,022 |
| СОС <sub>25-75</sub> , л/с, $M \pm m$                                              | 2,66 $\pm$ 0,24   | 2,61 $\pm$ 0,24  | 3,21 $\pm$ 0,26   | 0,013 | 0,006 |
| ОФВ <sub>1</sub> /ЖЕЛ, %, $M \pm m$                                                | 72,7 $\pm$ 1,7    | 74,8 $\pm$ 1,5   | 78,0 $\pm$ 1,5    | 0,005 | 0,008 |
| ОФВ <sub>1</sub> , % долж., $M \pm m$                                              | 89,1 $\pm$ 3,9    | 88,3 $\pm$ 2,3   | 96,2 $\pm$ 2,9    | 0,038 | 0,016 |
| МОС <sub>25-75</sub> , % долж., $M \pm m$                                          | 64,6 $\pm$ 4,3    | 64,8 $\pm$ 3,1   | 76,0 $\pm$ 3,8    | 0,015 | 0,006 |
| $\Delta$ ОФВ <sub>1</sub> , %, $Me (Q_1; Q_3)$                                     | 12,3 (6,0; 20,0)  | 11,0 (5,0; 15,0) | 4,5 (2,0; 13,5)   | 0,018 | >0,05 |
| АСТ, баллы, $Me (Q_1; Q_3)$                                                        | 17,0 (13,0; 19,5) | —                | 22,0 (17,0; 24,5) | 0,037 | —     |

Примечание. Уровень значимости различий: между 1-м и 3-м визитами –  $p$ ; между 2-м и 3-м визитами –  $p_1$ .

Подсчет основных клеточных элементов индуцированной мокроты выполняли исходно, перед назначением терапии кортикостероидами и через 6 мес лечения ИГКС. У всех больных, включенных в клиническое исследование, индукция мокроты осуществлялась по нарастающей путем 7-минутных ингаляций 3, 4 и 5%-м раствором хлорида натрия. Для проведения цитологического исследования отбирался материал, обладавший минимальным уровнем контаминации плоскоклеточным эпителием (менее 20% плоских эпителиоцитов от всех клеток).

Удовлетворительные образцы мокроты, позволившие оценить изменение в клеточном паттерне бронхиального воспаления, были получены лишь у 26 человек. Как показали результаты анализа данных, паттерн воспаления бронхов подвергался трансформации: от преимущественно смешанного при обострении БА, с высоким количеством эозинофилов (более 2%) и нейтрофилов (более 61%) в мокроте, до эозинофильного, с выраженным нейтрофильным компонентом, вне обострения болезни, в конце периода наблюдения (рис.).

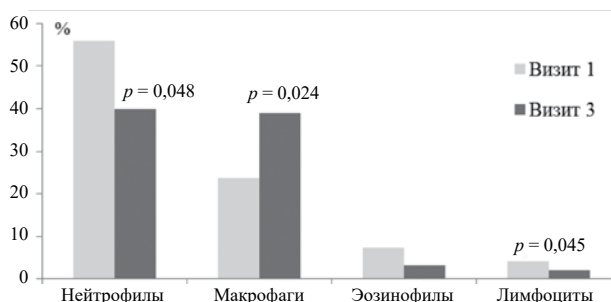


Рисунок. Изменение клеточного состава индуцированной мокроты больных бронхиальной астмой, %

Если процентное содержание эозинофилов в мокроте на 1-м и 3-м визитах статистически не различалось (2,2 (1,5; 7,8) и 1,6 (0,8; 3,6)% соответственно,  $p > 0,05$ ), то число нейтрофилов значимо снижалось с 55,9  $\pm$  5,6% при обострении до 40,0  $\pm$  5,5%;  $p = 0,048$  вне обострения, оставаясь достаточно высоким. Также вне обострения снижался уровень лимфоцитов (с 4,1  $\pm$  0,79 до 2,1  $\pm$  0,41%;  $p = 0,045$ ) и повышался уровень макрофагов (с 23,8  $\pm$  2,9 до 39,0  $\pm$  6,1%;  $p = 0,024$ ).

Для построения модели, которая наилучшим образом показала бы связь между изучаемыми параметрами, был использован линейный регрессионный анализ. При оценке базовых значений показателей на момент первичного обследования выявлена зависимость между исходно высоким количеством нейтрофилов (Н) в мокроте, другими клеточными элементами мокроты (макрофаги, М, %), уровнем контроля над болезнью (АСТ, баллы) и степенью выраженности реакции бронхов ( $\Delta$ ОФВ<sub>1</sub>, %) после проведения острой бронхопровокационной пробы ИГХВ:

$$H = 93,0 - 1,4 \times M - 0,3 \times АСТ - 0,25 \times \Delta ОФВ_1.$$

Регрессия значима с вероятностью 98,8% объясняет 71,7% дисперсии. Данная зависимость исчезала после регулярного длительного применения ИГКС/ДДБА.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В выполненных нами ранее работах, касающихся взаимосвязей между клиническими проявлениями БА и организацией воспалительного профиля бронхов у пациентов с ХГДП, неоднократно упоминалось негативное влияние нейтрофилов на достижение клинических критериев контроля над болезнью [4]. Так, у больных персистирующей БА смешанной формы, легкого и среднетяжелого течения снижение клинических и функциональных параметров астмы зависело от роста числа нейтрофилов и повышения уровня нейтрофильной пероксидазы в воспалительном паттерне бронхов [4].

Использование у больных со среднетяжелым обострением БА режима 24-недельного лечения с применением комбинации ИГКС/ДДБА не приводило к регулируемому уменьшению количества нейтрофилов в дыхательных путях, что трактовалось как критический фактор возможной утраты достигнутого контроля над заболеванием [7]. Прогностически неблагоприятный смешанный паттерн воспаления у пациентов с БА тяжелого неконтролируемого течения в сочетании с ХГДП характеризовался не только многочисленным пулом нейтрофилов, но и высокой степенью активности окислительных ферментов, деструкции и цитолитической активности гранулоцитов бронхов, что клинически выражалось в утяжелении течения заболевания и более сложной проблеме контроля над астмой [13].

По данным ряда авторов, смешанный паттерн воспаления, определяемый примерно у 10–15% больных БА, сочетается с более тяжелыми симптомами и более частыми, трудно поддающимися терапии ИГКС обострениями болезни по сравнению с Th2 паттерном бронхиального воспаления [14, 15]. Нейтрофилия и смешанный паттерн воспаления ассоциируются с повышенной экспрессией цитокинов не Th2 типа – цитокина интерлейкина (IL) 17 и провоспалительного интерферона гамма [14]. Экспрессию IL-17 связывают с обнаруженными *in vitro* и *in vivo* явлениями нетоза нейтрофилов, часто развивающегося у астматиков по так называемому нелигическому, или жизненному, пути с образованием «энуклеированных цитопластов», индуцирующих дифференцировку наивных CD4+T-хелперных лимфоцитов (CD4+Th0) в субпопуляцию Т-хелперов 17 (Th17) – продуцентов IL-17 [14, 15].

«Энуклеированные цитопласты», возникающие вследствие дегенерации ядра, распада ядерной оболочки на множество пузырьков и извержения деконденсированного хроматина через разрыв плазматической мембраны нейтрофилов с повторным запечатыванием последней, обладают набором довольно существенных функциональных свойств. Если выброшенная двухцепочечная ДНК может взаимодействовать с дендритными клетками воздухоносных путей через рецепторы TLR2, что приводит к образованию CD4+Th2, то активация дендритных клеток цитопластами, напротив, обуславливает дифференцировку Th0 в антигенспецифические Th17 [14, 15].

Гиперпродукция связанных с Th17 цитокинов, включая IL-17A и IL-17F, считается основной движущей силой для рекрутирования и активации нейтрофилов посредством индукции цитокинов и хемокинов CXCL8, IL-6, G-CSF и GM-CSF, IL-8, CXCL1 и CXCL5, экспрессия которых коррелирует с тяжестью астмы, нейтрофилией бронхиального воспаления [16]. Взаимодействующие в Th17 и Th1 воспалительных ответах цитокины и активированные ферменты модифицируют структуру респираторного тракта больных БА, вызывают ремоделирование и нарастание обструкции бронхов, что способствует падению ОФВ1 [17]. Определенный интерес представляет феномен дифференцировки Th2 клеток дыхательных путей в двойные положительные клетки Th2/Th17. Как следует из исследований *in vivo*, преобладание концентрации двойных положительных клеток Th2/Th17 в бронхоальвеолярном лаваже пациентов с астмой ассоциируется с высокой степенью обструкции и гиперреактивности дыхательных путей, нарастанием тяжести и кортикостероустойчивостью болезни [18].

Сопоставляя данные об аккумуляции нейтрофилов, активации Th17-ассоциированных цитокинов и

о возможности развития не Th2 типа воспаления при утяжелении астмы с выявлением нами у больных с ХГДП смешанного воспалительного фенотипа в фазу обострения, можно высказать предположение, что ухудшение клинических характеристик БА при обострении сопряжено со стимуляцией нейтрофильного звена воспаления. Вне обострения, несмотря на снижение, количество нейтрофилов в ИМ у 71% больных оставалось достаточно высоким (более 41%), в результате чего был вычленен выраженный нейтрофильный компонент воспалительного паттерна.

Поддержание относительной нейтрофилии в бронхах больных БА с ХГДП вне обострения может быть объяснено с позиций причастности к повышению функциональной активности нейтрофилов терапии будесонидом/формотеролом, а именно антиапоптотическим действием будесонида на нейтрофилы. Доказана способность ИГКС подавлять цитотоксичность легочных NK-клеток, приводящая к снижению интенсивности NK-опосредованного апоптоза гранулоцитов, способствующего эффероцитозу макрофагов [13]. Исследователи утверждают, что нейтрофилия у пациентов с астмой может наблюдаться и независимо от гормональной терапии, а незозинофильная астма является тем фенотипом заболевания, которому свойственна нечувствительность к терапии ИГКС [17].

К механизмам, ответственным за уменьшение количества нейтрофилов в дыхательных путях пациентов с ХГДП вне обострения, принадлежит такой альтернативный апоптозу вариант судьбы нейтрофилов, как «классический» нетоз – процесс программируемой кислородозависимой гибели клеток, целью которого является получение в ответ на действие раздражителей высокоактивных «нейтрофильных внеклеточных ловушек» (Neutrophil Extracellular Traps, NETs) – важного инструмента элиминации патогенов и продуктов воспаления [19–21]. Формирование NETs начинается с праймирования нейтрофилов, запуска NADPH-оксидазного ферментного комплекса и дыхательного взрыва, образования АФК, индуцирующих нейтрофильную эластазу и PAD-4, превращающих аргинин и остатки метиларгинина в цитруллин в гистоновых белках ядра, вследствие чего происходит деконденсация хроматина с одновременным нарушением структурной целостности мембран цитоплазматических гранул. При смешивании деконденсированного хроматина (нити ДНК, гистоны) с ферментами гранул лизосом сетеподобные NETs секретируются во внеклеточное пространство [19–21].

Экзоцитоз содержащегося в NETs ключевого фермента оксидативного стресса – лизосомальной миелопероксидазы (МПО) – может осуществляться не только в результате нетоза нейтрофилов. Как из-

вестно, МПО при взаимодействии с  $H_2O_2$  катализирует окисление галогенидов ( $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ), генерируя выработку гипогалогенидов (активных форм галогенов, АФГ), производных гипогалогенидов ( $HOCl$ ,  $HOBr$  и  $HOI$ ) и их ионизированных форм (гипохлорит, гипобромит и гипоиодит), в результате чего обеспечивается связь между окислительным и галогенирующим стрессом [22, 23]. Являясь продуктом азурофильных гранул нейтрофилов, МПО секретируется в межклеточную среду при дегрануляции клеток, связанной с респираторным взрывом.

Показано, что дегрануляция нейтрофилов, находящихся в ИМ больных БА с ХГДП, способна к интенсификации до уровня деструкции [4, 7, 13]. Тотальной дегрануляции клеток, которая индуцирует деструкцию и реализует наибольшее раскрытие эффекторных возможностей нейтрофилов при максимально выраженном респираторном взрыве, предшествует ферментативная активация в виде усиленного синтеза и внутригранулярного депонирования МПО, пропорционального потребностям бронхиального воспаления в АФГ, участвующих в пролонгации окислительного стресса и поддержании ХГДП. Усиленное накопление пероксидазных резервов нейтрофилов, стимулированное ускоренной утилизацией высоко реакционноспособных галогенсодержащих соединений в матриксе бронхов, завершается функциональным истощением клеток, опустошением запаса пероксидазо-позитивных гранул, интенсивной деструкцией и цитолизом с разрушением сначала цитоплазмы, а затем и ядра клеточным лизисом.

Таким образом, некоторое снижение количества нейтрофилов в воспалительном профиле бронхов больных БА с ХГДП вне обострения явилось следствием, предположительно, АФК-стимулированного нетоза, а также деструктивно-цитолитических процессов, манифестация которых соответствовала периоду обострения, сопряженному с активацией не Th2 воспалительного ответа, превалированием провоспалительных цитокинов и эскалацией окислительного стресса.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании приведенных данных можно сделать выводы, что предпринятый по поводу обострения БА курс базовой противовоспалительной терапии, сопровождавшийся устранением клинико-функциональных проявлений обострения и повышением уровня контроля над заболеванием, способствовал трансформации смешанного воспалительного паттерна бронхов в эозинофильный. При этом нейтрофильный компонент оставался достаточно выраженным вне обострения, что свидетельствовало об ограниченной эффективности предложенного курса

в отношении регуляции нейтрофильного воспаления. Данное обстоятельство свидетельствует о сохраняющейся трудности всестороннего медикаментозного контроля над воспалением при астме, в частности над нейтрофильным пулом популяции гранулоцитов, инфильтрирующих бронхи больных с ХГДП.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука; 2011: 204.
2. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. *Пульмонология*. 2012; 22 (1): 5–10. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10.
3. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2018 update). URL: <http://www.ginasthma.com>.
4. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Влияние нейтрофильного компонента бронхиального воспаления на уровень контроля болезни и функцию внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 61: 16–24. DOI: 10.12737/21434.
5. Куликов Е.С., Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Деев И.А., Селиванова П.А., Федосенко С.В., Кириллова Н.А. Молекулярные механизмы тяжелой бронхиальной астмы. *Молекулярная медицина*. 2013; 2: 24–32.
6. Огородова Л.М., Селиванова П.А., Геренг Е.А., Богомяков В.С., Волкова Л.И., Плешко Р.И. Патоморфологическая характеристика нестабильной бронхиальной астмы (фенотип brittle). *Терапевтический архив*. 2008; 80 (3): 39–43.
7. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Динамика воспалительно-клеточного профиля бронхов и нейтрофильного компонента воспаления у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей при применении базисной противовоспалительной терапии. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 60: 16–22. DOI: 10.12737/19935.
8. Qiu Y., Zhu J., Bandi V., Guntupalli K.K., Jeffery P.K. Bronchial mucosal inflammation and upregulation of CXC chemoattractants and receptors in severe exacerbations of asthma. *Thorax*. 2007; 62 (6): 475–482. DOI: 10.1136/thx.2006.066670
9. Turato G., Baraldo S., Zuin R., Sassetta M. The laws of attraction: chemokines, neutrophils and eosinophils in severe exacerbations of asthma. *Thorax*. 2007; 62 (6): 465–466. DOI: 10.1136/thx.2006.070656.
10. Kolosov V.P., Pirogov A.B., Perelman J.M., Naryshkina S.V., Maltseva T.A. Achievement of asthma control in patients with cold airway hyperresponsiveness at different variants of basic therapy. *Eur. Respir. J.* 2013; 42 (57): 2017.
11. Bakakos P., Schleif F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18 (10): 1415–1422. DOI: 10.2174/092986711795328337.
12. Ульянычев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Saarbrücken: LAP Lambert; 2014: 140.
13. Пирогов А.Б., Колосов В.П., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Гассан Д.А., Мальцева Т.А.

- Особенности воспалительных паттернов бронхов и клинико-функциональная характеристика тяжелой неконтролируемой астмы у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Пульмонология*. 2016; 26 (6) 701–707. DOI: 10.18093/086901892016266701707.
14. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasts and maintained by defective resolution. *Allergy International*. 2019; 68 (2): 143–149. DOI: 10.1016/j.alit.2018.11.006.
15. Krishnamoorthy N., Douda D.N., Brüggemann T.R., Ricklefs I., Duvall M.G., Abdulnour R.E., Martinod K., Tavares L., Wang X., Cernadas M., Israel E., Mauger D.T., Bleecker E.R., Castro M., Erzurm S. C., Gaston B.M., Jarjour N.N., Wenzel S., Dunican E., Fahy J.V., Irimia D., Wagner D.D., Levy B.D. Neutrophil cytoplasts induce TH17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma. *Science Immunology*. 2018. 3 (26): e4747. DOI: 10.1126/sciimmunol.aao4747.
16. Wisam A.R., Pre'fontaine D., Chouiali F., Martin J. G., Olivenstein R., Lemie're C., Hamid Q. TH17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123 (5): 1185–1187. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.02.024.
17. Esteban-Gorgojo I., Antolin-Amérigo D., Domínguez-Ortega J., Quirce S. Non-eosinophilic asthma: current perspectives. *Journal of Asthma and Allergy*. 2018; 11: 267–281. DOI: 10.2147/jaa.s153097.
18. Irvin C., Zafar I., Good J., Rollins D., Christianson C., Gorska M.M., Martin R.J., Alam R. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134 (5): 1175–1186. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.05.038.
19. Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2012; 4: 23–32.
20. Кравцов А.Л. Формирование внеклеточных ловушек – эффективный механизм защиты организма от патогена. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 112: 69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-69-74.
21. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5 (8): 577–582. DOI: 10.1038/nrmicro1710.
22. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры. *Вестник РАМН*. 2010; 1: 27–39.
23. Senthilmohan R., Kettle A.J. Bromination and chlorination reactions of myeloperoxidase at physiological concentrations of bromide and chloride. *Arch. Biochem. Biophys.* 2006; 445 (2): 235–244. DOI: 10.1016/j.abb.2005.07.005.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность канд. мед. наук Е.В. Ушаковой за сотрудничество и помощь в обработке цитологического материала, канд. мед. наук Н.А. Пироговой за консультации при подготовке публикации.

## Вклад авторов

Пирогов А.Б. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Приходько А.Г. – анализ и обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального материала. Афанасьева Е.Ю., Швецова Я.Г., Шелудько Е.Г. – отбор и ведение больных в клиническом исследовании, сбор и обработка биологического материала, статистическая обработка полученного материала. Чжоу С., Ли Ц. – анализ и интерпретация данных. Перельман Ю.М. – проверка критически важного интеллектуального материала, окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Сведения об авторах

**Пирогов Алексей Борисович**, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0001-5846-3276.

**Приходько Анна Григорьевна**, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0003-2847-7380.

**Афанасьева Евгения Юрьевна**, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0002-6882-6226.

**Шелудько Елизавета Григорьевна**, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0001-6622-5198.

**Горчакова Яна Геннадьевна**, аспирант, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0002-8819-2646.

**Чжоу Сяндун**, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения респираторной медицины, Первая аффилированная клиника, Хайнаньский медицинский университет, г. Хайкоу. ORCID 0000-0002-1957-3277.

**Ли Ци**, д-р мед. наук, доцент, отделение респираторной медицины, Первая аффилированная клиника, Хайнаньский медицинский университет, г. Хайкоу. ORCID 0000-0003-4780-3831.

**Перельман Юлий Михайлович**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0002-9411-7474.

(✉) Перельман Юлий Михайлович, e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила в редакцию 23.01.2020

Подписана в печать 29.09. 2020

## Клиническая характеристика и эффективность антидепрессивной терапии аффективных расстройств при коморбидности с алкогольной зависимостью

Рощина О.В.<sup>1</sup>, Розин А.И.<sup>1</sup>, Счастный Е.Д.<sup>1</sup>, Бохан Н.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634055, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** – определение нозологической структуры, клинических особенностей аффективных расстройств (АР) при коморбидности с алкогольной зависимостью (АЗ) и эффективности антидепрессивной терапии.

**Материалы и методы.** Обследованы 88 человек с АР и АЗ – 33 женщины (37,5%) и 55 (62,5%) мужчин. Первая группа – 31 пациент с АЗ без коморбидной аффективной симптоматики, вторая – 29 больных с расстройством настроения без зависимости от алкоголя, третья – 28 пациентов с коморбидным течением АЗ и АР. В исследовании применялись клиничко-психопатологический, клиничко-динамический и статистический методы с использованием критериев  $\chi^2$  Пирсона, Манна – Уитни (для сравнения независимых выборок), Краскела – Уоллиса (для более двух независимых выборок), Вилкоксона (для сравнения зависимых выборок). По уровню статистической значимости различий между группами по половозрастному составу не выявлено ( $p = 0,115$  – по половому составу,  $p = 0,248$  – по возрастному составу, критерий  $\chi^2$ ).

**Результаты.** Пациенты с коморбидным диагнозом АЗ и АР демонстрируют худшую динамику редукции депрессивной (с 24,0 (18,3; 33,0) до 9,0 (4,3; 12,0) баллов по шкале SIGH-SAD ( $p = 0,001$ , критерий Вилкоксона)) и тревожной (с 20,5 (12,5; 25,0) до 5,5 (3,3; 8,0) баллов по шкале HARS ( $p = 0,001$ , критерий Вилкоксона)) симптоматики на фоне лечения, при изначально более низких показателях, в сравнении с группой с «чистыми» АР (с 27,0 (21,0; 36,0) до 6,0 (5,0; 11,0) баллов по SIGH-SAD ( $p = 0,001$ , критерий Вилкоксона) (межгрупповые различия при поступлении  $p = 0,046$ ; при выписке  $p = 0,683$ , критерий Манна – Уитни) и с 21,0 (14,0; 29,0) до 5,0 (3; 10,5) баллов по HARS ( $p = 0,001$ , критерий Вилкоксона) (межгрупповые различия при поступлении  $p = 0,082$ ; при выписке  $p = 0,825$ , критерий Манна – Уитни)). Течение АЗ отличается большей злокачественностью в группе с коморбидностью: снижение патологического влечения к алкоголю с 31,5 (16,3; 43,5) балла до 8 (2,3; 14,8) ( $p = 0,001$ , критерий Вилкоксона) в группе с коморбидностью и с 29,5 (21,8; 37,0) до 7 (3,0; 11,3) баллов при «чистой» АЗ ( $p = 0,001$ , критерий Вилкоксона) (межгрупповые различия при поступлении  $p = 0,058$ ; при выписке  $p = 0,04$ , критерий Манна – Уитни по обсессивно-компульсивной шкале употребления алкоголя).

**Заключение.** Клиничко-динамические характеристики коморбидного сочетания АР и АЗ ведут к терапевтическим затруднениям, сопряженным со сравнительно худшей динамикой редуцирования симптомов каждого из заболеваний.

**Ключевые слова:** алкогольная зависимость, депрессивные расстройства, коморбидность, антидепрессивная терапия, антикрейвинговая терапия.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 19-15-00023 «Клинические особенности и поиск потенциальных биомаркеров коморбидности алкоголизма и аффективных расстройств»).

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ (протокол № 6 от 21.06.2017).

**Для цитирования:** Рощина О.В., Розин А.И., Счастный Е.Д., Бохан Н.А. Клиническая характеристика и эффективность антидепрессивной терапии аффективных расстройств при коморбидности с алкогольной зависимостью. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 79–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-79-87>.

## Clinical characteristics and efficiency of antidepressant therapy of mood disorders with comorbid alcohol use disorder

Roshchina O.V.<sup>1</sup>, Rozin A.I.<sup>1</sup>, Schastnyy E.D.<sup>1</sup>, Bokhan N.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMCC) Russian Academy of Sciences 4, Aleutskaya Str., 634014, Tomsk, Russian Federation*

<sup>2</sup>*Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, 634055, Tomsk, Russian Federation*

### ABSTRACT

**Aim.** To determine the nosological and clinical features of mood disorders (MD) with comorbid alcohol use disorder (AUD) and efficiency of antidepressant therapy.

**Materials and methods.** We examined 88 patients with MD and comorbid AUD – 33 females (37.5%) and 55 males (62.5%). The first group included 31 patients with AUD without comorbid affective symptoms, the second group contained 29 patients with MD without AUD, the third group included 28 patients with AUD and MD. In the study, we applied clinical-psychopathologic, clinical-dynamic, and statistical methods with Pearson's  $\chi^2$  test, Mann – Whitney *U*-test (for comparison of independent samples), Kruskal – Wallis test (for more than two independent samples), and Wilcoxon test (for comparison of dependent samples). At the level of statistical significance, no differences between the groups according to the gender – age composition were revealed ( $p = 0.115$  – according to gender composition,  $p = 0.248$  – according to age composition, Pearson's  $\chi^2$  test).

**Results.** The patients with the diagnosis of AUD with comorbid MD showed worse dynamics of the reduction of depressive [from 24.0 (18.3; 33.0) to 9.0 (4.3; 12.0) points according to the Structured Interview Guide for the Hamilton Depression Rating Scale – Seasonal Affective Disorder (SIGH-SAD) ( $p = 0.001$ , Wilcoxon test)] and anxiety [from 20.5 (12.5; 25.0) to 5.5 (3.3; 8.0) points according to the Hamilton Anxiety Rating Scale (HARS) ( $p = 0.001$ , Wilcoxon test)] symptoms against the background of the therapy with initially lower indices compared to the group with MD alone [from 27.0 (21.0; 36.0) to 6.0 (5.0; 11.0) points according to SIGH-SAD ( $p = 0.001$ , Wilcoxon test) (intergroup differences upon admission  $p = 0.046$ ; upon discharge  $p = 0.683$ , Mann – Whitney *U*-test) and from 21.0 (14.0; 29.0) to 5.0 (3; 10.5) points according to HARS ( $p = 0.001$ , Wilcoxon test) (intergroup differences upon admission  $p = 0.082$ ; upon discharge  $p = 0.825$ , Mann – Whitney *U*-test)]. The course of AUD is characterized by a larger extent of malignancy in the group with a comorbidity: decrease in pathological alcohol craving from 31.5 (16.3; 43.5) points to 8 (2.3; 14.8) ( $p = 0.001$ , Wilcoxon test) in the group with a comorbidity and from 29.5 (21.8; 37.0) to 7 (3.0; 11.3) points with AUD alone ( $p = 0.001$ , Wilcoxon test) (intergroup differences upon admission  $p = 0.058$ ; upon discharge  $p = 0.04$ , Mann – Whitney *U*-test on the Obsessive Compulsive Drinking Scale (OCDS).

**Conclusion.** Clinical-dynamic characteristics of MD with comorbid AUD result in therapeutic difficulties associated with comparatively worse dynamics of reduction of the symptoms of both diseases.

**Key words:** alcohol addiction, depressive disorders, comorbidity, antidepressant therapy, anti-craving therapy.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interests related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 19-15-00023 “Clinical features and search for potential biomarkers of comorbidity of alcohol use disorder and mood disorders”.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee of Mental Health Research Institute, Tomsk NRMС (Protocol No. 6 of 21.06.2017).

**For citation:** Roshchina O.V., Rozin A.I., Schastnyy E.D., Bokhan N.A. Clinical characteristics and efficiency of antidepressant therapy of mood disorders with comorbid alcohol use disorder. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 79–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-79-87>.

## ВВЕДЕНИЕ

В современной концепции коморбидности алкогольной зависимости (АЗ) и аффективных расстройств (АР) сосуществование двух патологий расценивается как синергетическое состояние, неблагоприятное для прогноза каждого из них [1, 2]. С учетом полиморфизма психопатологической симптоматики необходим персонализированный терапевтический подход, направленный не только на коррекцию эмоциональных нарушений, но и на антикрейвинговую терапию синдрома зависимости.

Среди основных факторов, влияющих на формирование алкогольной зависимости, неблагоприятный прогноз ее течения, выделяют коморбидные психические расстройства, в первую очередь шизофренического и аффективного спектра [3–6]. В обоих случаях коморбидность ведет к ухудшению прогноза заболевания [7, 8]. В клинических реалиях коморбидность АР и АЗ часто остается не выявленной – это может быть связано с клиническим патоморфозом, когда сочетание выраженных нарушений одной болезни и стертых проявлений другой часто выглядит проявлениями первой, а вторая либо просматривается, либо игнорируется [9, 10].

Выбор терапевтической мишени лишь одного из имеющихся у пациента психических расстройств негативно сказывается на эффективности лечения, увеличивает продолжительность лечения и снижает продолжительность и качество ремиссий. Важным является определение клинических особенностей и выявление суицидального поведения больных АР при коморбидных психических и соматических заболеваниях [11–13].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено сплошное исследование 88 пациентов, поступивших на лечение в клинику НИИ психического здоровья Томского НИМЦ с верифицирован-

ным диагнозом по МКБ-10 АЗ (F10.2) или АР (F31.3, F31.6, F32, F33, F34.1). В работе использовались клинико-психопатологический, психометрический, клинико-динамический, статистический методы исследования. Для оценки клинической динамики применялись следующие диагностические инструменты: структурированное интервью для оценки тяжести депрессии по шкале Гамильтона, версия для сезонного аффективного расстройства (SIGH-SAD, 2002), шкала тревоги Гамильтона (HARS, 1959). Риск алкогольной зависимости оценивался по баллам шкалы Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT, 1993); для оценки крейвинга была использована обсессивно-компульсивная шкала употребления алкоголя (ОКШ, 1995).

Статистическую обработку данных проводили с применением пакета стандартных прикладных программ IBM SPSS Statistics 25 с использованием критериев  $\chi^2$  Пирсона, Манна – Уитни (для сравнения независимых выборок), Краскела – Уоллиса (для более двух независимых выборок), Вилкоксона (для зависимых выборок). Предварительно проводилась проверка выборок на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка, который проверяет гипотезу об отсутствии различий между наблюдаемым распределением признака и теоретически ожидаемым нормальным распределением. В случае распределения, отличного от нормального, количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_1; Q_3)$ . При проверке гипотезы критический уровень значимости  $p = 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам обследования пациенты были распределены на три группы: пациенты, страдающие АЗ без коморбидной аффективной симптоматики ( $n = 31$ ), из них 87,1% – мужчины, средний возраст 44 (40; 53) года; пациенты с расстройством настроения

без зависимости от алкоголя ( $n = 29$ ), 72,4% из которых – женщины, средний возраст 50 (36,5; 57) лет; и пациенты с коморбидным течением АЗ и АР ( $n = 28$ ), среди которых 71,4% – мужчины, средний возраст 44,5 (36,5; 48,75) года. Статистически значимых различий между группами по половозрастному составу не выявлено ( $p > 0,05$ , критерий  $\chi^2$ ). Структура АР в группе без коморбидности с синдромом зависимости была представлена депрессивными эпизодами (ДЭ) различной степени тяжести (34,5%), ДЭ в рамках рекуррентного депрессивного расстройства (31%) и ДЭ в рамках биполярного аффективного расстройства (БАР) (24,1%). Коморбидная аффективная патология была представлена в равной степени дистимией и ДЭ в рамках рекуррентного депрессивного расстройства (по 32,1%). Депрессивная симптоматика в рамках БАР выявлена в 21,4% наблюдений. В 14,3% случаев коморбидным диагнозом был ДЭ средней (10,7%) или легкой (3,6%) степени. Давность заболевания АР составила 5 (2,5; 11,0) лет в группе пациентов с «чистой» аффективной патологией и 7,5 (2,25; 13,0) лет у пациентов с коморбидностью ( $p < 0,05$ ; критерий Манна – Уитни), а АЗ (с возраста формирования алкогольного абстинентного синдрома) в группах с «чистой» АЗ и коморбидностью 10 (6; 18,5) и 14 (10; 19,75) лет соответственно ( $p < 0,05$ ; критерий Манна – Уитни).

Исходя из этих сроков давности заболевания, можно сделать вывод о том, что в группе с коморбидностью АР и АЗ зависимость от ПАВ, как правило, предшествовала манифестации АР. Употребление алкоголя в обеих группах (с «чистой» АЗ и коморбидностью) носило псевдозапойный характер в 100% наблюдений. При этом важно отметить, что продолжительность псевдозапойов и толерантность к алкоголю были статистически значимо ниже у пациентов с коморбидным течением АР и АЗ ( $p < 0,05$ ; критерий Манна – Уитни). Так, средняя продолжительность псевдозапойов у пациентов с «чистой» АЗ составила 7 (4; 17) дней, в случае коморбидности – 5,5 (3,5; 9,5). Толерантность составила 16 (11; 23) и 11 (11; 17,75) стандартных порций алкоголя соответственно.

Несмотря на относительно меньшее количество и продолжительность употребления спиртного пациентами с двойным диагнозом, длительность алкогольного абстинентного синдрома (ААС) была сопоставима с таковой у пациентов с «чистой» АЗ: 3 (2; 4) и 3 (2; 5) дней соответственно ( $p = 0,785$ ; критерий Манна – Уитни). Эти данные свидетельствуют о худшей переносимости эффектов этанола у пациентов с коморбидностью АР и АЗ. В группе пациентов с коморбидностью АР и АЗ обращает на себя вни-

мание преобладание, наряду с нейровегетативным вариантом ААС, имевшим место в 78,6% ( $n = 22$ ) наблюдений, психопатологического варианта – 14,3% ( $n = 4$ ), проявлявшегося преимущественно аффективной симптоматикой (депрессивный, тревожный, дисфорический аффект). В группе с АЗ вторым по распространенности после нейровегетативного варианта (83,9%,  $n = 26$ ) был церебральный вариант ААС (9,7%,  $n = 3$ ), проявлявшийся преимущественно цефалгиями, головокружениями и мышечными подергиваниями. После купирования ААС аффективные нарушения у пациентов с коморбидностью АР и АЗ не только сохранялись, но и приобретали явную клиническую картину.

Главным мотивом употребления алкоголя пациенты группы с АЗ называли желание получить удовольствие: гедонистическая мотивация имела место в 45,2% ( $n = 14$ ) случаев, в то время как у пациентов с коморбидностью – лишь в 10,7% ( $n = 3$ ). Половина пациентов с сопутствующим АР (50%,  $n = 14$ ) употребляли алкоголь с целью коррекции эмоционального состояния, а среди пациентов только с АЗ таковых оказалось 9,6% ( $n = 3$ ). Продолжительность ремиссий АЗ у пациентов с коморбидностью достигала 12 (3; 24) мес, в то время как при коморбидности с АР – 6 (1,25; 34,5) мес ( $p = 0,037$ ; критерий Манна – Уитни). В случае «чистого» и коморбидного АР эти значения были 5 (3; 21,75) и 4 (1; 12) мес соответственно ( $p = 0,048$ ; критерий Манна – Уитни). Все пациенты с коморбидностью отмечали выраженную взаимосвязь между ремиссией АР и АЗ, т. е. прекращение алкоголизации приводило к нормализации эмоционального состояния и стабильный эмоциональный фон сводил употребление алкоголя к минимуму. В данной когорте в 46% ( $n = 13$ ) случаев срыву ремиссии АЗ предшествовало усиление симптомов АР, в 32% ( $n = 9$ ) – возобновление алкоголизации. Симптомы обоих расстройств развивались одновременно у 22% ( $n = 6$ ) опрошенных.

На основании жалоб, предъявляемых пациентом на момент первичного осмотра (в течение 1-й нед госпитализации, после купирования синдрома отмены алкоголя, в случае обращения за помощью в состоянии синдрома отмены), были выделены ведущие жалобы, характеризующие субъективную оценку состояния пациентом и определяющий терапевтический запрос при обращении за медицинской помощью (табл. 1).

Вероятно, депрессивная симптоматика (снижение настроения) в группе пациентов с АЗ выявлена как облигатный компонент постабстинентного синдрома, а также как эмоциональный компонент патологического влечения к алкоголю [14].

Таблица 1

| Жалобы обследуемых пациентов при поступлении, %             |                  |                  |                                  |
|-------------------------------------------------------------|------------------|------------------|----------------------------------|
| Показатель                                                  | Пациенты с АЗ    | Пациенты с АР    | Пациенты с коморбидным диагнозом |
| Тяга к приему алкоголя                                      | 75,8<br>(n = 23) | –                | –                                |
| Сниженный фон настроения                                    | 16,2<br>(n = 5)  | 51,7<br>(n = 15) | 78,6<br>(n = 22)                 |
| Эмоциональная лабильность, раздражительность, вспыльчивость | –                | 10,4<br>(n = 3)  | 10,7<br>(n = 3)                  |
| Тревога, чувство внутреннего напряжения                     | 1,6<br>(n = 1)   | 37,9<br>(n = 11) | 7,1<br>(n = 2)                   |
| Снижение энергичности, утомляемость, слабость               | 6,4<br>(n = 2)   | –                | 3,6<br>(n = 1)                   |

Астеническая симптоматика (снижение энергичности, утомляемость, слабость) в обеих группах пациентов, употребляющих алкоголь, может быть связана с непосредственным токсическим влиянием этилового спирта на центральную нервную систему [15]. Обращает на себя внимание то, что пациенты с коморбидным течением АЗ и АР в первую очередь предъявляли жалобы аффективного спектра, т. е. называли причиной обращения за помощью коррекцию эмоционального состояния, ведущего, по их мнению, к алкогольным эксцессам.

В соответствии с клинической картиной и ведущей симптоматикой пациенты получали психофармакотерапию антидепрессантами или нормотимиками (табл. 2).

Таблица 2

| Основные группы психофармакотерапевтических препаратов, % |                  |               |             |
|-----------------------------------------------------------|------------------|---------------|-------------|
| Показатель                                                | Анти-депрессанты | Нормотимики   | Нет терапии |
| Пациенты с АЗ                                             | 22,5 (n = 7)     | 64,5 (n = 20) | 13 (n = 4)  |
| Пациенты с АР                                             | 79,3 (n = 23)    | 20,7 (n = 6)  | –           |
| Пациенты с коморбидным диагнозом                          | 60,7 (n = 17)    | 35,7 (n = 10) | 3,6 (n = 1) |

Поступившим на лечение в состоянии абстиненции лечение назначалось после купирования синдрома отмены, на 3–5-е сут госпитализации. В группах пациентов с АЗ имели место случаи отсутствия поддерживающей психофармакотерапии, связанные с противопоказаниями к ее назначению из-за сопутствующей соматической патологии. В такой ситуации акцент делался на симптоматической терапии и психотерапевтической коррекции. Терапия пациентов с АЗ в 71,4% (n = 5) случаев осуществ-

лялась эсциталопрамом (15 мг/сут), в остальных 28,6% (n = 2) – агомелатином (25 мг/сут). Лечение данными препаратами восстанавливало нарушения сна, индуцированные алкогольной зависимостью, не влияло на параметры сердечно-сосудистой терапии и не нарушало сексуальные функции. В качестве альтернативы терапии антидепрессантами 75,0% (n = 15) пациентов назначался карбамазепин (400 мг/сут), остальным 25,0% (n = 5) – топирамат (100 мг/сут).

Лечение пациентов с АР в 47,8% (n = 11) осуществлялось вортиоксетином (10 мг/сут), в 21,7% (n = 5) – сертралином (150 мг/сут), в 21,7% (n = 5) – эсциталопрамом (25 мг/сут), в остальных 8,8% (n = 2) – агомелатином (25 мг/сут). Преимущественное лечение данными современными препаратами имело высокий потенциал для купирования основных симптомов депрессии с их отличной переносимостью. Альтернативной стратегией при коррекции аффективных нарушений в рамках БАР являлось назначение солей вальпроевой кислоты (750 мг/сут) во всех случаях (n = 6).

Пациенты с коморбидным диагнозом в 41,2% (n = 7) наблюдений получали вортиоксетин (10 мг/сут), в 23,6% (n = 4) – агомелатин (50 мг/сут), в 17,6% (n = 3) – эсциталопрам (25 мг/сут), в остальных 17,6% (n = 3) – сертралин (100 мг/сут). Мультицелевой и высокоселективный механизмы действия данных препаратов влияли на ангедонию, один из ключевых симптомов депрессивных и аддиктивных расстройств, а также связанную с суицидальным поведением у данных пациентов. Другая часть пациентов получала лечение карбамазепином (400 мг/сут) в 70,0% (n = 7) наблюдений или солями вальпроевой кислоты (500 мг/сут) в 30,0% (n = 3) для коррекции аффективных нарушений.

По данным катамнеза, после предыдущих обращений за медицинской помощью большинство пациентов (68,9%, n = 18), страдающих только аффективной патологией, получали поддерживающую психофармакотерапию. В 62% (n = 18) наблюдений это был препарат из группы селективных ингибиторов обратного захвата (СИОЗС): сертралин (n = 8, 100 мг/сут), эсциталопрам (n = 5, 20 мг/сут), флувоксамин (n = 3, 150 мг/сут), флуоксетин (n = 2, 40 мг/сут); в 6,9% (n = 2) – нормотимик (препарат вальпроевой кислоты, 500 мг/сут). Средняя продолжительность приема препаратов составила 6 (3; 12) мес (p = 0,04; критерий  $\chi^2$ ).

Среди пациентов с депрессией, ассоциированной с АЗ, поддерживающую терапию получали лишь 21,5% (n = 6) обследованных. Препарат из группы СИОЗС принимали 17,9% (n = 5) пациентов: эсцита-

лопрам ( $n = 3$ , 10 мг/сут), сертралин ( $n = 2$ , 50 мг/сут); 3,6% ( $n = 1$ ) – нормотимик (карбамазепин, 400 мг/сут.). Срок самостоятельного приема лекарственных препаратов составлял 3 (2; 11,25) мес ( $p = 0,03$ ; критерий  $\chi^2$ ). Представленные данные свидетельствуют о низкой приверженности к продолжительному лечению пациентов, страдающих АЗ, как в чистом виде, так и в сочетании с другой патологией. Пациенты не всегда следуют врачебным рекомендациям, склонны прекращать прием препаратов раньше рекомендованного срока [16].

Обследованные пациенты из числа больных АЗ в 98,4% случаев не получали поддерживающую терапию. Либо препарат не был назначен врачом, либо пациент самостоятельно отказывался от приема лекарств после выписки из стационара. Несмотря на то, что применение антидепрессантов считается терапией выбора при наличии депрессивных расстройств в структуре патологического влечения к алкоголю, а подавление патологического влечения к психоактивным веществам является вполне самостоятельным их свойством, независимо от проявления собственно антидепрессивного эффекта, наркологи редко прибегали к назначению

антидепрессивной психофармакотерапии [17]. Антikonвульсанты, активно используемые врачами наркологических отделений, представляют собой альтернативу бензодиазепиновым транквилизаторам в коррекции синдрома отмены [18]. Но рекомендаций по применению их в антикрейвинговой терапии алкогольной зависимости нет. Большинство обращений за наркологической помощью завершались выполнением того или иного вида предметно-опосредованного внушения запрета на употребление алкоголя. Столь распространенные методики, как «кодирование», «химзащита», «подшивка», в настоящее время официально признаются анахронизмом, запрещены в государственных учреждениях и не входят в Стандарты оказания первичной медико-санитарной и специализированной наркологической помощи [19, 20].

Проведенные в двух точках (при поступлении и выписке) обследования с использованием психометрических шкал SIGH-SAD и HARS позволили объективно оценить выраженность депрессивной (типичной и атипичной) и тревожной симптоматики (критерий Краскела – Уоллиса), ее клиническую динамику (критерий Вилкоксона) (табл. 3, 4).

Таблица 3

| Динамика баллов по шкале SIGH-SAD, $Me (Q_1; Q_3)$ |                   |                 |                    |                |                     |                 |
|----------------------------------------------------|-------------------|-----------------|--------------------|----------------|---------------------|-----------------|
| Показатель                                         | Типичные симптомы |                 | Атипичные симптомы |                | Сумма баллов        |                 |
|                                                    | Точка 1           | Точка 2         | Точка 1            | Точка 2        | Точка 1             | Точка 2         |
| Пациенты с АЗ                                      | 7,0 (3,0; 12,3)*  | 1,0 (0; 4,0)    | 2,0 (0; 2,3)*      | 0 (0; 0)       | 9,0 (4,0; 14,3)**   | 1,0 (0; 4,0)    |
| Пациенты с АР                                      | 23,0 (19,5; 29,0) | 6,0 (3,5; 11,0) | 4,0 (1,0; 7,5)     | 1,0 (0; 2,0)   | 27,0 (21,0; 36,0)** | 6,0 (5,0; 11,0) |
| Пациенты с коморбидным диагнозом                   | 20,0 (16,0; 25,8) | 7,0 (4,0; 10,0) | 4,0 (1,0; 6,0)     | 2,0 (0,5; 4,2) | 24,0 (18,3; 33,0)** | 9,0 (4,3; 12,0) |

\*  $p = 0,001$  (критерий Краскела – Уоллиса), \*\*  $p = 0,001$  (критерий Вилкоксона) для всех наблюдений (здесь и в табл. 4).

Таблица 4

| Динамика баллов по шкале HARS, $Me (Q_1; Q_3)$ |                      |                |
|------------------------------------------------|----------------------|----------------|
| Показатель                                     | Точка 1              | Точка 2        |
| Пациенты с АЗ                                  | 8,0 (3,8; 14,3)*. ** | 1,0 (0; 2,0)   |
| Пациенты с АР                                  | 21,0 (14,0; 29,0)**  | 5,0 (3; 10,5)  |
| Пациенты с коморбидным диагнозом               | 20,5 (12,5; 25,0)**  | 5,5 (3,3; 8,0) |

На 1-й нед лечения пациенты группы с «чистой» аффективной патологией отмечали большую выраженность как типичной, так и атипичной депрессивной симптоматики по шкале SIGH-SAD, а также тревоги по шкале HARS, по сравнению с группой пациентов с коморбидным диагнозом ( $n = 0,046$ ; критерий Манна – Уитни для SIGH-SAD и  $p = 0,082$  для HARS). Уровень тревоги и депрессии у пациентов, страдающих «чистой» формой АЗ, изначально

были значительно ниже, чем в остальных группах ( $p = 0,001$ ; критерий Краскела – Уоллиса для HARS и для SIGH-SAD), и, вероятно, выявлялся в рамках аффективного компонента синдрома отмены алкоголя.

На фоне проводимой психофармакотерапии к концу лечения отмечалось снижение интенсивности аффективной симптоматики в группах пациентов с АР ( $p = 0,001$ ; критерий Вилкоксона) (с коморбидностью и без) до статистически сопоставимых значений

( $p = 0,683$ ; критерий Манна – Уитни для SIGH-SAD и  $p = 0,825$ ; критерий Манна – Уитни для HARS) и отмечались существенные межгрупповые различия с группой пациентов с «чистой» АЗ ( $p = 0,001$ ; критерий Краскела – Уоллиса). Таким образом, пациенты с коморбидным диагнозом демонстрируют сравнительно худшую динамику в редуцировании депрессивной (как типичных, так и атипичных симптомов) и тревожной симптоматики на фоне лечения при изначально более низких показателях по сравнению с пациентами с «чистой» депрессией.

Шкалы AUDIT и ОКШ позволяют оценить субъективную выраженность АЗ. Тест AUDIT разработан Всемирной организацией здравоохранения для скрининговой оценки нарушений, связанных с употреблением алкоголя [21]. Сумма баллов по AUDIT в группе пациентов с «чистой» формой АЗ составила 24 (19; 28, 25). При коморбидности АЗ и расстройства настроения этот показатель был выше – 26,5 (20,5; 30,5) баллов ( $p = 0,03$ ; критерий Манна – Уитни). Иными словами, пациенты со коморбидностью АЗ и АР демонстрировали склонность к более активному употреблению алкоголя, а также более высокий риск неблагоприятных последствий алкогольных злоупотреблений.

Шкала ОКШ предназначена для самооценки идеаторных проявлений отношения к алкоголю за последнюю неделю. Влечение к спиртному по баллам ОКШ было выше в обеих точках обследования в группе с коморбидным диагнозом (31,5 (16,3; 43,5) и 8 (2,3; 14,8) соответственно, чем в группе пациентов только с АЗ (29,5 (21,8; 37,0) и 7 (3,0; 11,3) соответственно). При поступлении:  $p = 0,058$ ; критерий Манна – Уитни, при выписке:  $p = 0,04$ ; критерий Манна – Уитни, внутригрупповая динамика:  $p = 0,001$ ; критерий Вилкоксона. Анализ результатов исследования по тестам ОКШ и AUDIT показал, что течение алкогольной зависимости в коморбидности с аффективной патологией отличается более злокачественным клиническим течением. Патологическое влечение к алкоголю выражено сильнее и хуже поддается терапии. Употребление алкоголя характеризуется более выраженным риском развития нарушений, связанных со злоупотреблением спиртными напитками.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее неоднократно указывалось на клинический полиморфизм и особенности терапии АР при их сочетании с АЗ [22–27]. При этом нет единого мнения относительно клинического влияния коморбидности на течение каждого заболевания. По мнению некоторых отечественных исследователей, АЗ, как правило, сопровождают неглубокие депрессивные расстрой-

ства, а при утяжелении АР злоупотребление алкоголем может и вовсе прекращаться [28]. Депрессии при АЗ часто описываются как «дисгармоничные», с большим удельным весом астено-апатической или дисфорической симптоматики [29]. Результаты проведенного исследования также показали, что клиническая картина коморбидного сочетания АР и АЗ характеризуется меньшей клинической выраженностью симптомов АР (по шкалам SIGH-SAD и HARS) по сравнению с группой больных с «чистой» аффективной патологией, но худшей ее динамикой на фоне проводимой психофармакотерапии.

Общность нейрхимических механизмов патогенеза патологического влечения к алкоголю и депрессивных расстройств обуславливает зависимость актуализации или регресса крейвинга в зависимости от выраженности аффективной симптоматики [30]. Влечение к алкоголю у коморбидных пациентов выражено сильнее, чем в группе с «чистой» АЗ (по ОКШ). Вероятно, это следует рассматривать не только как восприятие пациентом алкоголя в качестве «терапевтического» средства, для самолечения в качестве коррекции эмоционального состояния или уменьшения побочных эффектов психофармакологических препаратов [31], но и как заинтересованность в формировании симптоматики широкого спектра нейромедиаторных систем [32]. Подобное патогенетическое сродство АР и крейвинга объясняет его относительную «устойчивость» в группе пациентов с коморбидностью АР и АЗ (по ОКШ), что приводит к выводу о необходимости усиления антикрейвинговой терапии для данной когорты больных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования выявлено, что пациенты с коморбидным диагнозом демонстрируют худшую динамику относительно редукиции депрессивной (как типичных, так и атипичных симптомов) и тревожной симптоматики на фоне лечения, при изначально более низких показателях в сравнении с группой с «чистой» депрессией. АЗ в коморбидности с АР характеризуется большей злокачественностью в группе с коморбидностью, худшим антидепрессивным эффектом в ходе проводимой психофармакотерапии. В терапии АЗ как в «чистом» виде, так и в коморбидности клиницистами уделяется недостаточно внимания проведению антикрейвинговой фармакотерапии антидепрессантами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Рощина О.В., Розин А.И., Счастный Е.Д., Бохан Н.А. Клиническое значение коморбидности аффективных расстройств и алкогольной зависимости. *Бюллетень сибир-*

- ской медицины. 2019; 18 (4): 110–118. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-4-110–118.
2. Vasilieva S.N., Simutkin G.G., Schastnyy E.D., Bokhan N.A. Clinical-dynamic features of affective disorders comorbid with alcohol dependence. *International Journal of Mental Health and Addiction*. 2020. DOI: 10.1007/s11469-020-00234-y.
3. Шитов Е.А., Киселев Д.Н., Шустов Д.И. Краткий обзор проблемы «Двойного диагноза» (сочетание психических расстройств и расстройств зависимости от психоактивных веществ). *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2009; 17 (2): 100–105.
4. Марусин А.В., Корнетов А.Н., Сваровская М.Г., Вагайцева К.В., Павленюк Е.С., Степанов В.А. Ассоциация генов подверженности к алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (5): 83–96. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-5-83–96.
5. Воеводин И.В., Мандель А.И., Аболонин А.Ф., Белокрылов И.И. Психологические факторы риска и варианты формирования аддиктивных и тревожно-депрессивных расстройств у студентов. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2018; 4 (101): 21–27. DOI: 10.26617/1810-3111-2018-4 (101)-21-27.
6. Андрющенко А.В., Шуляк Ю.А. Алкогольная зависимость и депрессия: подходы к диагностике и лечению. *Медицинский Совет*. 2016; 19: 28–36. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-19-28-36.
7. Moggi F. Epidemiology, etiology and treatment of patients with psychosis and co-morbid substance use disorder. *Therapeutische Umschau*. 2018; 75 (1): 37–43. DOI: 10.1024/0040-5930/a000964.
8. Grazioli V.S., Bagge C.L., Studer J., Bertholet N., Rougemont-Bücking A., Mohler-Kuo M., Daeppen J.B., Gmel G. Depressive symptoms, alcohol use and coping drinking motives: Examining various pathways to suicide attempts among young men. *Journal of Affective Disorders*. 2018; 232: 243–251. DOI: 10.1016/j.jad.2018.02.028.
9. Fein G. Psychiatric comorbidity in alcohol dependence. *Neuropsychology Review*. 2015; 25 (4): 456–475. DOI: 10.1007/s11065-015-9304-y.
10. Turner S., Mota N., Bolton J., Sareen J. Self-medication with alcohol or drugs for mood and anxiety disorders: A narrative review of the epidemiological literature. *Depression and Anxiety*. 2018; 35 (9): 851–860. DOI: 10.1002/da.22771.
11. Лебедева Е.В., Симуткин Г.Г., Счастный Е.Д., Репин А.Н., Сергиенко Т.Н. Особенности тревожно-депрессивных расстройств и суицидального поведения у пациентов пожилого и старческого возраста с хронической ишемической болезнью сердца. *Суицидология*. 2014; 5 (5): 69–76.
12. Васильева С.Н., Симуткин Г.Г., Счастный Е.Д., Иванова С.А., Бохан Н.А. Суицидальное поведение больных биполярным аффективным расстройством при коморбидных психических заболеваниях. *Суицидология*. 2018; 9 (3): 86–92. DOI: 10.32878/suiciderus.18-09-03(32)-86-92.
13. Лебедева Е.В., Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Репин А.Н., Нонка Т.Г. Клиническая характеристика аффективных расстройств и эффективность антидепрессивной терапии у больных хронической ишемической болезнью сердца. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (4): 85–93. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-85–93.
14. Бузик О.Ж., Агибалова Т.В. Коморбидные расстройства у больных с зависимостью от алкоголя. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2008; 3: 79–86.
15. Самушия М.А. Рецензия на монографию Н.А. Бохана, Т.В. Коробицкой «Ассоциированные формы алкоголизма в общесоматической амбулаторной сети» *Психические расстройства в общей медицине*. 2008; 02: 45–47.
16. Салмина-Хвостова О.И., Зяблицев Д. В. Значение мотивации, стадий готовности к изменению поведения, факторов приверженности к лечению алкогольной зависимости. *Российский медицинский журнал*. 2013; 4: 22–25.
17. Агибалова Т.В., Альтшулер В.Б., Винникова М.А., Дудко Т.Н., Козырева А.В., Кравченко С.Л., Ненастьева А.Ю., Уткин С.И. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению синдрома зависимости. *РОП*. 2014; 57.
18. Сиволап Ю.П. Злоупотребление алкоголем и фармакотерапия алкоголизма. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2014; 3: 7–9. DOI: 10.14412/2074-2711-2014-3-4-9.
19. Артемьева М.С., Майдан А.В. Сравнительная оценка современных концепций лечения алкоголизма. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2017; 19 (9): 19–21.
20. Крупицкий Е.М. Краткосрочное психотерапевтическое вмешательство в наркологии с позиции доказательной медицины. *Неврологический вестник*. 2010; 3: 25–27.
21. Ненастьева А.Ю. Психометрические шкалы в современной клинической наркологии *Вопросы наркологии*. 2018; 7 (16): 46–71.
22. Carton L., Pignon B., Baguet A., Benradia I., Roelandt J.L., Vaiva G., Thomas P., Amad Ali., De Philippe T., Naassila M., Geoffroy P.A., Rolland B. Influence of comorbid alcohol use disorders on the clinical patterns of major depressive disorder: a general population-based study. *Drug and Alcohol Dependence*. 2018; 187: 40–47. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2018.02.009.
23. Claycomb E.M., Charak R., Durham T.A., Armour C., Ly C., Southwick S.M., Elhai J.D., Pietrzak R.H. The 7-factor hybrid model of DSM-5 PTSD symptoms and alcohol consumption and consequences in a national sample of trauma-exposed veterans. *Journal of Anxiety Disorders*. 2017; 51: 14–21. DOI: 10.1016/j.janxdis.2017.08.001.
24. Destoop M., Morrens M., Coppens V., Dom G. Addiction, anhedonia, and comorbid mood disorder. a narrative review. *Frontiers in Psychiatry*. 2019; 10: 311. DOI: 10.3389/fpsy.2019.00311.
25. Elsayed N.M., Kim M.J., Fields K.M., Olvera R.L., Hariri A.R., Williamson D.E. Trajectories of alcohol initiation and use during adolescence: the role of stress and amygdala reactivity. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 2018; 57 (8): 550–560. DOI: 10.1016/j.jaac.2018.05.011.
26. Blum K., Gondre-Lewis M.C., Baron D., Thanos P.K., Braverman E.R., Neary J., Elman I., Badgaiyan R.D. Intro-

- ducing precision addiction management of reward deficiency syndrome, the construct that underpins all addictive behaviors. *Frontiers in Psychiatry*. 2018; 9: 548. DOI: 10.3389/fpsy.2018.00548.
27. Wiener C.D., Moreira F.P., Zago A., Souza L.M., Branco J.C., Oliveira J.F., Silva R.A.D., Portela L.V., Lara D.R., Jansen K., Osés J.P. Mood disorder, anxiety, and suicide risk among subjects with alcohol abuse and/or dependence: a population-based study. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2018; 40 (1): 1–5. DOI: 10.1590/1516-4446-2016-2170.
  28. Гофман А.Г., Ойфе И.А. Алкоголизм и эндогенные депрессии; под ред. А.Б. Смулевича. В кн.: Депрессии и коморбидные расстройства. М., 1997: 124–136.
  29. Понизовский П.А., Гофман А.Г. Депрессия у больных алкогольной зависимостью. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015; 115 (7): 146–150.
  30. Розин А.И., Рощина О.В., Пешковская А.Г., Белокрылов И.И. Коморбидные сочетания алкогольной зависимости и депрессивных расстройств. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2018; 4 (101): 40–45. DOI: 10.26617/1810-3111-2018-4(101)-40-45.
  31. Cooper S., Robison A.J., Mazei-Robison M.S. Reward circuitry in addiction. *Neurotherapeutics*. 2017; 14 (3): 687–697. DOI: 10.1007/s13311-017-0525-z.
  32. Менделевич В.Д. Синдром зависимости: терапия, основанная на доказательствах. *Наркология*. 2014; 8: 94–103.

## Вклад авторов

Рощина О.В., Розин А.И. – проведение исследования, статистический анализ и интерпретация данных. Счастный Е.Д. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Бохан Н.А. – окончательное утверждение рукописи для публикации.

## Сведения об авторах

**Рощина Ольга Вячеславовна**, мл. науч. сотрудник, отделение аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2246-7045.

**Розин Александр Иосифович**, канд. мед. наук, врач-психиатр, отделение аддитивных НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-8617-4754.

**Счастный Евгений Дмитриевич**, д-р мед. наук, профессор, зав. отделением аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2148-297X.

**Бохан Николай Александрович**, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ; зав. кафедрой психиатрии, наркологии и психотерапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1052-855X.

(✉) Счастный Евгений Дмитриевич, e-mail: evgeny.schastnyy@gmail.com

Поступила в редакцию 29.02.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Экспрессия мРНК кальпаинов и их активность в злокачественном и диспластически измененном эпителии верхних дыхательных путей

Сиденко Е.А., Какурина Г.В., Черемисина О.В., Спирина Л.В., Шашова Е.Е.,  
Коршунов Д.А., Кондакова И.В.

Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Кальпаиновая протеолитическая система играет важную роль в развитии злокачественных опухолей. В настоящее время диагностика рака верхних дыхательных путей на ранних стадиях проводится редко, заболевание часто характеризуется запущенностью опухолевого процесса.

**С целью** поиска кандидатных маркеров перехода предопухолевых заболеваний в злокачественные изучали уровни экспрессии мРНК *CAPN1*, *CAPN2* и общей активности кальпаинов в опухолевой ткани пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи (ПРГШ) и в диспластически измененном эпителии верхних дыхательных путей.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 32 пациента с ПРГШ ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ), группу больных с предопухолевой патологией составили 12 пациентов с хроническими заболеваниями верхних отделов дыхательной системы, ассоциированными с диспластическими изменениями эпителия различной степени. Уровень экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* оценивался с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Активность кальпаинов определяли по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC.

**Результаты.** Показано увеличение уровня экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* (в 3 и 4 раза соответственно) в опухолевой ткани у пациентов с ПРГШ в сравнении с диспластически измененным эпителием верхних дыхательных путей. Также отмечен высокий уровень активности кальпаинов у больных ПРГШ, который в 4,4 раза превышал показатели, полученные для пациентов с диспластическими изменениями эпителия различной степени.

**Заключение.** Вероятно, увеличение уровня мРНК *CAPN1* и *CAPN2* и общей активности кальпаинов в опухолевых тканях пациентов с ПРГШ в сравнении с пациентами с хроническими заболеваниями, ассоциированными с диспластическими изменениями различной степени, может играть важную роль в процессе перехода предрака в рак. Для полного установления роли кальпаинов в канцерогенезе ПРГШ необходимо дальнейшее проведение подобных исследований в интактной ткани, что возможно только на экспериментальных моделях.

**Ключевые слова:** плоскоклеточный рак головы и шеи, дисплазия эпителия, активность кальпаинов, экспрессия мРНК *CAPN1* и *CAPN2*.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания на 2020 г. в НИИ онкологии Томского НИМЦ.

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ онкологии, Томский НИМЦ.

Для цитирования: Кытикова О.Ю., Новгородцева Т.П., Антонюк М.В., Гвозденко Т.А. Роль нейротрофических факторов роста в патофизиологии бронхиальной астмы, сочетанной с ожирением. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 88–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-88-94>.

## The mRNA expression levels of calpains and their activity in malignant and dysplastic epithelium of the upper respiratory tract

Sidenko E.A., Kakurina G.V., Cheremisina O.V., Spirina L.V., Shashova E.E., Korshunov D.A., Kondakova I.V.

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) Russian Academy of Sciences  
5, Kooperativny Str., 634050, Tomsk, Russian Federation

### ABSTRACT

**Background.** The calpain proteolytic system plays an important role in the development of cancer. Detection of early cancer in the upper respiratory tract is often challenging, as symptoms are largely non-specific, and most cases are diagnosed at an advanced stage.

**Aim.** To identify candidate markers of transition from premalignant lesions to invasive carcinoma, we studied mRNA expression levels of CAPN1 and CAPN2 and the total activity of calpains in the tumor tissues of patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and in the epithelial dysplasia-affected tissues of patients with chronic diseases of the upper respiratory tract.

**Materials and methods.** The study included 32 patients with HNSCC (T1-3N0-1M0) and 12 patients with chronic diseases of the upper respiratory system associated with epithelial dysplasia. The expression levels of CAPN1 and CAPN2 were assessed using real-time polymerase chain reaction (PCR). The calpain activity was determined by hydrolysis of the fluorogenic Suc-LLVY-AMC oligopeptide.

**Results.** The mRNA expression levels of CAPN1 and CAPN2 were respectively 3 and 4 times higher in the tumor tissue of patients with HNSCC than in the tissue of patients with endothelial dysplasia in the upper respiratory tract. The level of calpain activity was 4.4 times higher in patients with HNSCC than in patients with epithelial dysplasia of different severity.

**Conclusion.** The elevated mRNA expression levels of CAPN1 and CAPN2 and their activity in the tumor tissues of patients with HNSCC compared to patients with chronic respiratory diseases associated with epithelial dysplasia are likely to characterize a high potential for transition from precancerous lesion to cancer. To clarify the role of calpains in the carcinogenesis of HNSCC, further studies of intact tissues using animal models are required.

**Key words:** head and neck squamous cell carcinoma, epithelial dysplasia, calpain activity, mRNA expression of CAPN1 and CAPN2.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was carried out within the State Assignment for Cancer Research Institute, TNRM RAS for 2020.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Biomedical Ethics Committee at Cancer Research Institute, Tomsk NRMC.

**For citation:** Sidenko E.A., Kakurina G.V., Cheremisina O.V., Spirina L.V., Shashova E.E., Korshunov D.A., Kondakova I.V. The mRNA expression levels of calpains and their activity in malignant and dysplastic epithelium of the upper respiratory tract. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 88–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-88-94>.

## ВВЕДЕНИЕ

Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) занимает 6-е место по распространенности злокачественных новообразований во всем мире, ежегодно регистрируется более 500 тыс. новых случаев [1, 2]. Одними из основных его локализаций являются гортань и гортаноглотка [3]. Несмотря на доступность визуальных и инструментальных исследований, диагностика рака верхних дыхательных путей на ранних стадиях проводится редко, заболевание часто характеризуется запущенностью опухолевого процесса [4]. Механизм опухолевой трансформации от диспластических изменений эпителия до рака остается мало изученным. Считается, что он представляет собой ступенчатый процесс, в котором за генетическими повреждениями следуют морфологические изменения в плоском эпителии [5]. Наличие дисплазии в слизистой оболочке гортани, гортаноглотки, ротоглотки позволяет отнести пациента в группу онкологического риска [6].

Большое влияние на опухолевую трансформацию оказывают протеолитические системы, которые способны регулировать множество молекулярных и клеточных процессов. Значимой системой специфического внутриклеточного протеолиза является кальпаиновая система, которая вовлечена в развитие и прогрессирование опухолей различных локализаций [7]. Кальпаины – это цитоплазматические цистеиновые протеазы, для активности которых требуются ионы кальция. Протеолиз, осуществляемый кальпаинами, является частичным, не деградирующим белок, а лишь изменяющим его структуру, таким образом, это протеазы-«модуляторы» [8].

В семействе кальпаинов существуют повсеместно экспрессируемые изоформы ( $\mu$ -кальпаин (кальпаин 1) и  $\mu$ -кальпаин (кальпаин 2)) и тканеспецифичные изоформы (кальпаин 9, обнаруживаемый в органах пищеварительного тракта) [9]. Хотя многие функции кальпаинов и механизмов, контролирующих протеолитическую активность, еще предстоит выяснить, экспериментальные исследования продемонстрировали четкую роль кальпаинов в ряде важных клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференцировку, репарацию ДНК и апоптоз [10, 11]. Кальпаины играют важную роль в прогрессировании злокачественных опухолей [12–14].

Несмотря на активное изучение кальпаиновой системы, в настоящее время нет достаточного количества данных, свидетельствующих об изменениях уровня экспрессии и активности кальпаинов у пациентов с ПРГШ и хроническими заболеваниями, ас-

социированными с диспластическими изменениями различной степени. Таким образом, целью данного исследования явилась оценка уровня экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* и активности кальпаинов в опухолевой ткани пациентов с ПРГШ ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ) и диспластически измененном эпителии верхних дыхательных путей (DI-II).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 32 пациента с ПРГШ ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ) и 12 больных с предопухолевой патологией – хроническими заболеваниями верхних отделов дыхательной системы, ассоциированными с диспластическими изменениями эпителия различной степени (DI-II), поступившими на лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Все пациенты были с гистологически верифицированным диагнозом и до настоящего исследования не получали специального лечения. Средний возраст обследованных пациентов составил  $(56,3 \pm 7,2)$  лет.

Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.1993 № 2288), получено разрешение этического комитета института.

Материалом для исследования явилась опухолевая и неизменная, условно-нормальная ткань, полученная при видеоларингоскопии с помощью биопсии по утвержденному протоколу. Анализ экспрессии генов кальпаинов (*CAPN1*, *CAPN2*) проводился методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с интеркалирующим красителем SYBR Green I (БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (2×); Биоллабмикс, Новосибирск). Выделение суммарного пула РНК из образцов тканей проводили с помощью реагента «ЛИРА» (Биоллабмикс, Новосибирск). Концентрацию и качество выделенной РНК оценивали на спектрофотометре NanoDrop 2000C, (Thermo Scientific, США). Для получения кДНК из мРНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием готовой реакционной смеси ОТ М-MuLV-RH (Биоллабмикс, Новосибирск). Праймеры для ПЦР-РВ были подобраны с использованием специализированных программ Vector NTI Advance 11,5 и базы данных NCBI (табл. 1).

Уровень экспрессии целевых генов рассчитывали по формуле  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  [15] и выражали в условных единицах. В качестве гена-рефери использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH, и уровень экспрессии каждого целевого гена был нормализован по отношению к экспрессии GAPDH.

Таблица 1

| Последовательность праймеров исследованных генов |                                                                 |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Ген                                              | Праймеры                                                        |
| <i>CAPN1</i><br>NM_001198868.2                   | F 5'- AGAGCCTGGGTTACAAG -3'<br>R 5'- TGTCGTTGAGAGTGAGG -3'      |
| <i>CAPN2</i><br>NM_001146068.1                   | F 5'- ATGCTAGATTTCGGACGGGAG-3'<br>R 5'- TGGAGTTGACAGGGCATCTT-3' |
| <i>GAPDH</i><br>NM_001256799.3                   | F 5'- GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3'<br>R 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3'  |

Примечание. NM – номер последовательности РНК в NCBI; F – прямой праймер; R – обратный праймер.

Активность кальпаинов определяли в осветленных гомогенатах тканей по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC (Sigma, США). Реакционную смесь, содержащую 3 mM Suc-LLVY-AMC и 5 мкл супернатанта, инкубировали при 25 °C в течение 30 мин в присутствии или отсутствии 10 mM CaCl<sub>2</sub> и 5 mM ингибитора N-ацетил-Leu-Leu-норлейцина (Sigma, США). Образовавшийся продукт регистрировали на флуориметре Hitachi-850 (Япония) при длине волны возбуждения 380 нм и эмиссии 440 нм. Активность кальпаинов определяли в пробах с 10 mM CaCl<sub>2</sub> и с ингибитором. За единицу активности принимали количество фермента, при котором гидролизует 1 нмоль Suc-LLVY-AMC в течение 1 мин. Удельную активность выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 10.0. Результаты представлены как медиана и интерквартильный размах  $Me (Q_1-Q_3)$ . С помощью критерия Краскела–Уоллиса были обнаружены статистически значимые различия между исследуемыми группами. Для дальнейшего попарного сравнения был применен непараметрический критерий Манна–Уитни с учетом поправки на множественные сравнения (поправка Бонферрони). Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ уровня экспрессии мРНК *CAPN1* и *CAPN2* в диспластически измененном эпителии (DI-II) и опухолевой ткани ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ) показал наличие статистически значимых различий в представленных группах (табл. 2). Так, уровень экспрессии *CAPN1* и *CAPN2* в опухолевой ткани ПРГШ ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ) увеличивался почти в 3 и 4 раза, соответственно, по сравнению с диспластически измененным эпителием верхних дыхательных путей. В опухолевых тканях у пациентов со стадиями

$T_2N_{0-1}M_0$  и  $T_3N_{0-1}M_0$  отмечен высокий уровень экспрессии *CAPN1*, в 2 и 4 раза, соответственно, превышающий показатели, полученные при анализе экспрессии в диспластическом эпителии (DI-II). Уровень экспрессии *CAPN2* значимо увеличивался у пациентов со стадиями  $T_1N_{0-1}M_0$  и  $T_3N_{0-1}M_0$  (в 4 раза) по сравнению с дисплазиями различной степени. Самый высокий показатель экспрессии как для *CAPN1*, так и для *CAPN2* наблюдался у больных со стадией  $T_3N_{0-1}M_0$ . Для *CAPN1* характерна тенденция к увеличению в зависимости от размера опухоли. Также можно отметить, что для *CAPN2* в злокачественном эпителии верхних дыхательных путей экспрессия наиболее выражена в сравнении с экспрессией *CAPN1*, что может свидетельствовать об определенной специфичности изучаемого гена.

Полученные данные демонстрируют вовлеченность компонентов кальпаиновой системы в патогенез опухолей головы и шеи, что согласуется с данными литературы [10, 16, 17]. Это позволяет сделать вывод о преимущественном участии кальпаинов в процессах, свойственных злокачественным тканям. По мнению многих авторов, к ним в основном относятся: нарушение межклеточной адгезии, перестройка актинового цитоскелета, морфологическая трансформация и клеточная миграция, поскольку кальпаины деградируют белки, участвующие в этих процессах [8, 10].

Таблица 2

| Экспрессия мРНК <i>CAPN1</i> и <i>CAPN2</i> в тканях пациентов в злокачественном и диспластически измененном эпителии верхних дыхательных путей, $Me (Q_1-Q_3)$ |                                  |                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Группа                                                                                                                                                          | Уровень экспрессии, усл. ед.     |                                 |
|                                                                                                                                                                 | <i>CAPN1</i>                     | <i>CAPN2</i>                    |
| Дисплазия эпителия (DI-II), $n = 12$                                                                                                                            | 0,5 (0,08–0,86)                  | 0,5 (0,06–0,95)                 |
| ПРГШ ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ), $n = 32$                                                                                                                          | 1,58 (0,25–10,98)<br>$p = 0,021$ | 1,94 (0,25–4,12)<br>$p = 0,045$ |
| $T_1N_{0-1}M_0$ , $n = 10$                                                                                                                                      | 0,59 (0,25–5,0)                  | 2,09 (0,51–5,68)<br>$p = 0,043$ |
| $T_2N_{0-1}M_0$ , $n = 11$                                                                                                                                      | 1,0 (0,25–11,88)<br>$p = 0,041$  | 0,52 (0,19–2,27)                |
| $T_3N_{0-1}M_0$ , $n = 11$                                                                                                                                      | 1,92 (0,53–10,98)<br>$p = 0,021$ | 2,14 (0,28–5,13)<br>$p = 0,046$ |

Примечание. Уровень значимости различий показателей в сравнении с группой «Дисплазия эпителия (DI-II)» –  $p$ .

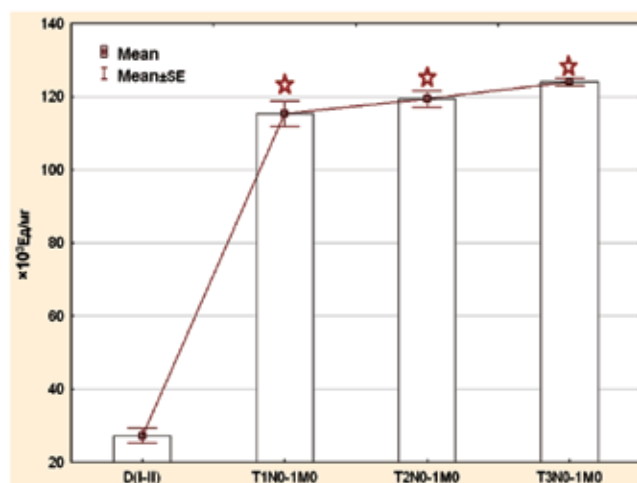
Анализ общей активности кальпаинов в биопсийном материале пациентов показал значимые различия между ПРГШ ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ) и дисплазией эпителия (DI-II) (рис.). На диаграмме *a* показано изменение активности кальпаинов в зависимости от распространения опухолевого процесса в сравнении с диспластически измененным эпителием. У пациентов

со стадией  $T_3N_{0-1}M_0$  наблюдался самый высокий показатель активности кальпаинов. Также на этой диаграмме прослеживалась тенденция к увеличению активности кальпаинов в зависимости от размера опухоли. Диаграмма *b* отражает общий показатель активности кальпаинов у пациентов с ПРГШ, который составлял  $125,7 \times 10^3$  Ед/мг белка, что в 4,4 раза больше в сравнении с пациентами с диспластическими изменениями эпителия.

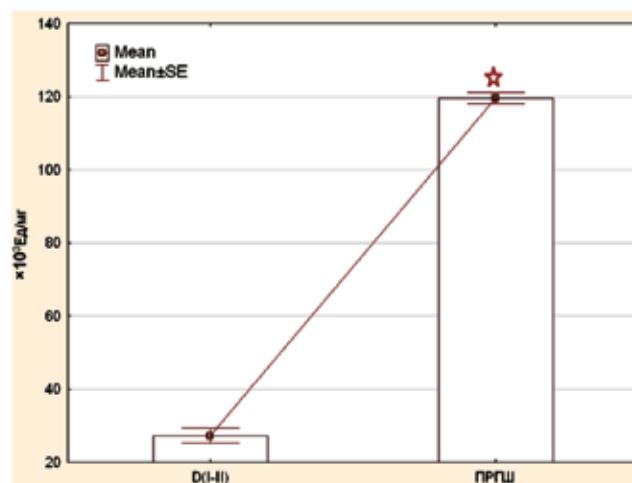
Полученные результаты согласуются с литературными данными. В исследованиях В.Д. Коваль и соавт. выявлено, что активность кальпаинов у пациентов с гиперпластическими процессами эндометрия почти в 12 раз больше в сравнении с пациентами, у которых был диагностирован рак эндометрия [18]. Повышение активности компонентов кальпаиновой системы было также продемонстрировано в различных типах опухолей, таких как менингиома, почечно-клеточный рак, колоректальные аденокарциномы, рак эндометрия, рак желудка, рак молочной

железы по сравнению с условно-нормальной тканью [10, 12, 13, 19]. Участие кальпаинов в развитии злокачественных опухолей обусловлено их важной ролью в различных клеточных физиологических процессах. Кальпаины потенциально распознают более 200 субстратов, что подтверждено исследованиями *in vitro* [11].

Среди белков, идентифицированных как субстраты кальпаинов, находятся транскрипционные факторы, трансмембранные рецепторы, компоненты сигнальных путей и белки цитоскелета. Кальпаины функционируют взаимосвязанно с другими внутриклеточными протеазами, в частности с протеасомами. При этом в злокачественной ткани образуется комплекс, представленный ферментами различных каталитических типов, получивший название «раковый деградом» [7]. Компоненты «ракового деградома» обеспечивают эффективный протеолиз в течение опухолевой прогрессии, включая процессы инвазии и метастазирования.



a



b

Рисунок. Активность кальпаинов в биопсийном материале у пациентов с диспластически измененным эпителием верхних дыхательных путей (DI-II) и плоскоклеточным раком головы и шеи ( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ ): — значимость различий в сравнении с группой «Дисплазия эпителия DI-II»,  $p < 0,05$

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в этом исследовании, свидетельствуют о значительном различии уровня экспрессии и активности компонентов кальпаиновой системы между злокачественными и диспластически измененными тканями верхних дыхательных путей. Вероятно, увеличение уровня мРНК *CAPN1* и *CAPN2* и общей активности кальпаинов в опухолевых тканях пациентов с ПРГШ в сравнении с пациентами с хроническими заболеваниями, ассо-

циированными с диспластическими изменениями различной степени, может играть важную роль в процессе перехода предрака в рак. Однако для полного установления роли кальпаинов в канцерогенезе ПРГШ необходимо проведение подобных исследований в интактной ткани, что возможно только на экспериментальных моделях. Представленные данные указывают на непосредственное участие кальпаиновой системы в развитии опухолевых заболеваний области головы и шеи. В дальнейшем на основе данных показателей перспективна разработка

критериев риска злокачественной трансформации у пациентов с предопухолевыми заболеваниями верхних дыхательных путей.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Leemans C.R., Braakhuis B.J.M., Brakenhoff R.H. The molecular biology of head and neck cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2011; 11 (1): 9–22. DOI: 10.1038/nrc2982.
2. Alsaifi E., Begg K., Amelio I., Raulf N., Lucarelli P., Sauter T., Tavassoli M. Clinical update on head and neck cancer: molecular biology and ongoing challenges. *Cell Death Dis*. 2019; 10 (8): 540. DOI: 10.1038/s41419-019-1769-9.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2019: 250.
4. Фролова И.Г., Чойнзонов Е.Л., Гольдберг В.Е., Чижевская С.Ю., Чернов В.И., Гольдберг А.В., Белевич Ю.В. Лучевые методы исследования в комплексной диагностике лимфогенного метастазирования у больных раком гортани и гортаноглотки. *Сибирский онкологический журнал*. 2018; 17 (3): 101–108. DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-3-101-108.
5. Trivedi S., Rosen C.A., Ferris R.L. Current understanding of the tumor microenvironment of laryngeal dysplasia and progression to invasive cancer. *Curr Opin Otolaryngol. Head Neck Surg*. 2016; 24 (2): 121–127. DOI: 10.1097/MOO.0000000000000245.
6. Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Панкова О.В., Меньшиков К.Ю. Хронический гиперпластический ларингит как критерий формирования группы риска по раку гортани. *Российская оториноларингология*. 2013; 63 (2): 84–89.
7. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Компоненты системы деградации в прогрессии плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (6): 684–693. DOI: 10.15690/vramn563.
8. Sorimachi H., Hata S., Ono Y. Calpain chronicle – an enzyme family under multidisciplinary characterization. *Proc Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci*. 2011; 87 (6): 287–327. DOI: 10.2183/pjab.87.287.
9. Macqueen D.J., Wilcox A.H. Characterization of the definitive classical calpain family of vertebrates using phylogenetic, evolutionary and expression analyses. *Open Biol*. 2014; 4 (4): 130219. DOI: 10.1098/rsob.130219.
10. Moretti D., Del Bello B., Allavena G., Maellaro E. Calpains and cancer: Friends or enemies? *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2014; 564: 26–36. DOI: 10.1016/j.abb.2014.09.018.
11. Suzuki K., Hata S., Kawabata Y., Sorimachi H. Structure, Activation, and Biology of Calpain. *Diabetes*. 2004; 53 (Suppl. 1): S12–S18. DOI: 10.2337/diabetes.53.2007.S12.
12. Ivanova E.V., Kondakova I.V., Spirina L.V., Afanas'ev S.G., Avgustinovich A.V., Cheremisina O.V. Chymotrypsin-Like activity of proteasomes and total calpain activity in gastric and colorectal cancer. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2014; 157 (6): 781–784. DOI: 10.1007/s10517-014-2666-y.
13. Shashova E.E., Kolegova E.S., Zav'yalov A.A., Slonimskaya E.M., Kondakova I.V. Changes in the activity of proteasomes and calpains in metastases of human lung cancer and breast cancer. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2017; 163 (4): 486–489. DOI: 10.1007/s10517-017-3834-7.
14. Zhang S., Deen S., Storr S.J., Chondrou P.S., Nicholls H., Yao A., Rungsakaolert P., Martin S.G. Calpain system protein expression and activity in ovarian cancer. *J. Cancer. Res. Clin. Oncol*. 2019; 145 (2): 345–361. DOI: 10.1007/s00432-018-2794-2.
15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta CT$  Method. *Methods*. 2001; 25 (4): 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
16. Ma D., Fang J., Liu Y., Song J.-J., Wang Y.-Q., Xia J., Cheng B., Wang Z. High level of calpain1 promotes cancer cell invasion and migration in oral squamous cell carcinoma. *Oncology Letters*. 2017; 13 (6): 4017–4026. DOI: 10.3892/ol.2017.5970.
17. Слетов А.А., Можейко Р.А. Особенности дифференциальной диагностики рака слизистой оболочки полости рта с использованием специфических маркеров опухолевой прогрессии. *Научный альманах*. 2017; 28 (2-3): 389–397. DOI: 10.17117/na.2017.02.03.389.
18. Коваль В.Д., Спирина Л.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А., Шпилева О.В. Активность протеасом и кальпаинов при новообразованиях эндометрия. *Молекулярная медицина*. 2012; (4): 45–48.
19. Шашова Е.Е., Дорошенко А.В., Бондарь Л.Н., Слонимская Е.М., Кондакова И.В. Протеасомная и кальпаиновая протеолитические системы при различных молекулярных подтипах рака молочной железы. *Сибирский онкологический журнал*. 2017; 16 (3): 33–39. DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-3-33-39.

### Вклад авторов

Сиденко Е.А. – проведение лабораторных исследований, определение экспрессии генов кальпаинов, написание рукописи. Какурина Г.В. – определение экспрессии генов кальпаинов, анализ и интерпретация данных. Черемисина О.В. – набор биопсийного материала больных раком гортани и гортаноглотки и предопухолевыми заболеваниями верхних дыхательных путей. Спирина Л.В. – проведение лабораторных исследований, определение активности кальпаинов. Шашова Е.Е. – статистическая обработка данных. Коршунов Д.А. – подготовка иллюстративного материала и драфта статьи. Кондакова И.В. – разработка концепции и дизайна исследования, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Сведения об авторах

**Сиденко Евгения Александровна**, аспирант, лаборатория биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5838-9459.

**Какурина Гелена Валерьевна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4506-9429.

**Черемисина Ольга Владимировна**, д-р мед. наук, профессор, зав. эндоскопическим отделением, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7234-4708.

**Спирин Людмила Викторовна**, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-5269-736X.

**Шашова Елена Евгеньевна**, д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7752-9346.

**Коршунов Дмитрий Афанасьевич**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1058-3882.

**Кондакова Ирина Викторовна**, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0947-8778.

(✉) **Сиденко Евгения Александровна**, e-mail: sidenkoevgeniyaaleksandrovna@gmail.com

Поступила в редакцию 06.07.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Доклиническое изучение эффективности нового иммуноотропного препарата при лечении сальмонеллезной инфекции

Теймуразов М.Г.<sup>1</sup>, Петрова Н.В.<sup>2,3</sup>, Карелина Е.А.<sup>3</sup>, Ганина К.К.<sup>3</sup>, Тарасов С.А.<sup>2,3</sup>,  
Эпштейн О.И.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии (ГНЦ ПМБ)  
Россия, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, территория «Квартал А», 24

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии (НИИОПП)  
Россия, 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>3</sup> ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг»  
Россия, 129272, г. Москва, ул. Трифонова, 47, стр. 1

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** – оценить иммунорегуляторную активность экспериментального препарата на основе сверхвысоких разведений антител к молекулам МНС I и II в отношении *Salmonella enteritidis* rif92.

**Материалы и методы.** Изучаемый препарат: образец сверхвысоких водно-спиртовых разведений антител к молекулам МНС I и II, нанесенных на порошок лактозы (теоретический уровень снижения концентрации исходных антител как минимум в  $10^{24}$  раз). Модель – нелетальная сальмонеллезная инфекция у цыплят. Заражение проводили вирулентным штаммом *S. enteritidis* rif92 концентрацией  $2,5 \times 10^9$  КОЕ/г в объеме 0,5 мл/голову. Группы ( $n = 15$  в каждой): 1 – препарат; 2 – препарат + антибиотик в дозировке 50%-й эффективной дозы (ЭД50); 3 – плацебо; 4 – плацебо + антибиотик в дозировке ЭД50; 5 – интактный контроль. Продолжительность эксперимента 12 сут. Изучаемые показатели: выживаемость в течение периода наблюдения, масса тела ежедневно, затраты корма за весь период, концентрация возбудителя в помете на 3, 6, 9-е сут, наличие и концентрация возбудителя в печени и слепых отростках тонкого кишечника, а также индекс антимикробной активности на 12-е сут.

**Результаты.** В группах с введением экспериментального препарата инфекционный процесс проходил в более легкой форме, бактериальная нагрузка у цыплят была ниже. Обсемененность помета снижалась на два порядка по сравнению с соответствующим контролем при добавлении препарата как в виде монотерапии, так и в сочетании с антибиотиком. Выявлено протективное действие препарата на печень зараженных цыплят.

**Заключение.** Впервые продемонстрирована выраженная иммунорегуляторная активность изучаемого препарата в отношении *Salmonella enteritidis* rif92 у цыплят. Полученные результаты позволяют рассматривать данный препарат в качестве перспективного агента для терапии сальмонеллезной инфекции.

**Ключевые слова:** сальмонеллез, сверхвысокие разведения антител, молекулы МНС I и II классов, антибиотика, цыплята.

**Конфликт интересов.** Петрова Н.В., Карелина Е.А., Ганина К.К. и Тарасов С.А. – сотрудники компании ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ». О.И. Эпштейн – основатель и президент компании ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ». Решение о публикации результатов научной работы принадлежит ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ». Заявителями на получение патента на указанные субстанции и препарат являются ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ» и О.И. Эпштейн.

**Источник финансирования.** Компания ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ» является спонсором данного исследования.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено этическим комитетом ГНЦ ПМБ (протокол № 4 от 03.12.2018).

Для цитирования: Теймуразов М.Г., Петрова Н.В., Карелина Е.А., Ганина К.К., Тарасов С.А., Эпштейн О.И. Доклиническое изучение эффективности нового иммуностропного препарата при лечении сальмонеллезной инфекции. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 95–101. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-95-101>.

## Nonclinical study of the new immunotropic drug effectiveness in salmonella infection treatment

Teymurazov M.G.<sup>1</sup>, Petrova N.V.<sup>2,3</sup>, Karelina E.A.<sup>3</sup>, Ganina K.K.<sup>3</sup>, Tarasov S.A.<sup>2,3</sup>, Epstein O.I.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology (SRCAMB)  
24, Kvartal A, Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation

<sup>2</sup>Institute of General Pathology and Pathophysiology (IGPP)  
8, Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russian Federation

<sup>3</sup>MATERIA MEDICA HOLDING LLC, Research and Production Company  
47/1, Trifonovskaya Str., Moscow, 129272, Russian Federation

### ABSTRACT

**The aim** of the study was to evaluate the immunoregulatory activity of an experimental drug based on ultra-high dilutions of antibodies to MHC I and MHC II molecules against *Salmonella enteritidis* rif<sup>92</sup>.

**Materials and methods.** The drug tested: a sample of ultra-high water-alcohol dilutions of antibodies to MHC I and MHC II molecules applied to lactose powder (the theoretical level of the initial antibody concentration reduction is at least 10<sup>24</sup> times). A model of non-lethal *Salmonella* infection in chickens was induced by administering a virulent strain of *Salmonella enteritidis* rif<sup>92</sup> with a concentration of  $2.5 \times 10^9$  CFU/g in the volume of 0.5 ml/bird. The following groups were formed ( $n = 15$  in each group): 1 – drug; 2 – drug + antibiotic at the median effective dose (ED 50); 3 – placebo; 4 – placebo + antibiotic at ED50; 5 – intact control. The duration of the experiment was 12 days. The studied parameters included the survival rate during the observation period; daily body weight; feed consumption for the entire period; pathogen concentration in the litter on day 3, 6, and 9; the presence and concentration of the pathogen in the liver and cecum on day 12; and the index of antimicrobial activity on day 12.

**Results.** In the groups receiving the experimental drug, the infectious process proceeded in a milder form and the bacterial load in chickens was lower. The bacterial count in the litter was reduced by two orders compared to the respective control when the drug was added both alone and in combination with the antibiotic. A protective effect of the experimental drug on the liver of the infected chickens was detected.

**Conclusion.** A pronounced immunoregulatory activity of the studied drug against *Salmonella enteritidis* rif<sup>92</sup> in chickens was demonstrated for the first time. The results obtained allow to consider the drug as a promising agent for the treatment of *Salmonella* infection.

**Key words:** salmonellosis, ultra-high dilutions of antibodies, MHC class I and II molecules, antibiotics, chickens.

**Conflict of interests.** N.V. Petrova, E.A. Karelina, K.K. Ganina, and S.A. Tarasov are employees of MATERIA MEDICA HOLDING LLC. O.I. Epstein is the founder and the President of MATERIA MEDICA HOLDING LLC. The decision to publish the results of the study belongs to MATERIA MEDICA HOLDING LLC. Patent applications for the substances and the drug have been submitted by MATERIA MEDICA HOLDING LLC and O.I. Epstein.

**Source of financing.** MATERIA MEDICA HOLDING LLC is the sponsor of the study.

**Conformity with the principles of ethics.** The study protocol was approved by the Ethics Committee of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology (Protocol No. 4 of 03.12.2018).

**For citation:** Teymurazov M.G., Petrova N.V., Karelina E.A., Ganina K.K., Tarasov S.A., Epstein O.I. Nonclinical study of the new immunotropic drug effectiveness in salmonella infection treatment. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 95–101. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-95-101>.

## ВВЕДЕНИЕ

Заражение сальмонеллами происходит, как правило, в результате потребления недоброкачественных пищевых продуктов, в первую очередь яиц и мяса домашней птицы [1, 2–5]. Инфекционный процесс обычно протекает без осложнений, но у пациентов с ослабленным иммунным статусом, а также у детей и пожилых людей может наблюдаться тяжелая форма [1, 6, 7]. При заболевании в легкой форме или средней степени тяжести у здоровых людей терапия противомикробными препаратами не рекомендуется [8], так как большинство антимикробных препаратов активны против сальмонелл лишь в инкубационный период болезни и в начале заболевания [9]. Кроме того, избыточное применение противомикробных препаратов способствует развитию резистентности у возбудителя посредством множественных молекулярных и генетических механизмов [1, 8, 10–12]. В этой связи применение препаратов, воздействующих на мишени, экспрессируемые иммунными клетками, можно рассматривать как актуальное и перспективное направление в терапии сальмонеллеза [13–17].

Нами проведено исследование *in vivo* на модели нелетальной сальмонеллезной инфекции у цыплят, целью которого было изучить активность нового лекарственного препарата на основе сверхвысоких разведений антител к молекулам МНС I и МНС II классов. Препарат разработан в ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ» и обладает модулирующей активностью, направленной на мишени иммунных клеток.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальный препарат представлял собой порошок лактозы, насыщенный сверхвысокими разведениями антител к молекулам МНС I и II классов, полученный по следующей технологии. В качестве исходной субстанции использовали аффинно очищенные кроличьи поликлональные антитела к МНС I и МНС II, из которых в дальнейшем готовили сверхвысокие разведения. Для получения разведения в 100 раз субстанции разводили в водно-спиртовом растворе в соотношении 1 : 100, сопровождая процесс интенсивным перемешиванием. Конечные разведения антител к МНС I и МНС II содержат смесь 12, 30 и 50-го сотенного разведения.

Таким образом, если не принимать во внимание выявленные особенные физико-химические аспекты, характерные для высоких разведений веществ [18–20], то теоретический уровень снижения концентрации исходных антител может составлять  $10^{24}$  раз. Полученными разведениями насыщали лактозу

моногидрат в установке псевдооживленного слоя. В качестве плацебо применяли порошок лактозы, на который был нанесен водно-спиртовой раствор, полученный по аналогичной технологии сверхвысоких разведений из очищенной воды. Образцы препарата и плацебо поставлялись и тестировались в зашифрованном виде, расшифровку проводили после окончания эксперимента и проведения статистического анализа полученных данных.

Для исследования готовили 2,5%-е водные растворы препарата и плацебо, которые вводили цыплятам перорально 1 раз/сут по 0,2 мл/голову. В качестве антибактериального препарата использовали ципрофлоксацина гидрохлорид. В предварительно проведенных исследованиях была подтверждена его эффективность в отношении изучаемого возбудителя и рассчитана 50%-я эффективная доза (ЭД<sub>50</sub>). Заражение проводили вирулентным штаммом *Salmonella enteritidis rif92* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболensk, Россия) нелетальной концентрацией  $2,5 \times 10^9$  КОЕ/г в объеме 0,5 мл/голову.

В исследовании использовали пять групп по 15 суточных цыплят кросса Кобб, полученных из ООО «Птицефабрика Ново-Петровская». Обычно для постановки *in vivo* моделей сальмонеллезной инфекции предлагается использовать грызунов [21], но штамм *Salmonella enteritidis* ассоциируется с домашней птицей и птицепродуктами, которые служат источником заражения человека [4], и является одним из основных возбудителей пищевой токсикоинфекции у людей [22]. Инфекции у мышей развиваются при отсутствии выраженных симптомов диареи, поэтому модель на грызунах может иметь недостаточно информативный характер [23].

Мы использовали методики, позволяющие оценить бактериальную нагрузку внутренних органов для количественной оценки вирулентности: желудочно-кишечный тракт цыплят является оптимальной системой для изучения кишечных зооантропонозных инфекций [24]. С учетом предполагаемого лечения в эксперименте были сформированы следующие группы цыплят: 1 – препарат; 2 – препарат + антибиотик; 3 – плацебо; 4 – плацебо + антибиотик; 5 – интактный контроль. Все группы находились в одинаковых условиях содержания.

Длительность исследования составила 12 сут (с 1-х по 12-е сут жизни цыплят). Первые двое суток цыплята находились на карантине. На 3-и сут проводили рандомизацию на группы и заражение *S. enteritidis rif92* (кроме интактной группы). С 4-х по 9-е сут жизни цыплятам 1–4-й групп вводили изучаемый препарат или плацебо. В дополнение

к этому цыплятам 2-й и 4-й групп с 5-х по 9-е сут жизни вводили ципрофлоксацина гидрохлорид перорально в дозе ЭД50 (0,5 мг/кг массы тела) в объеме 0,2 мл. Экспериментальный препарат или плацебо, соответственно, и антибиотик вводили с интервалом 1 ч. Изучали следующие показатели: выживаемость в течение эксперимента, массу тела ежедневно, затраты корма на 1 кг прироста за весь период наблюдения, концентрацию *S. enteritidis* rif92 в помете на 3, 6, 9-е сут эксперимента, наличие и концентрацию возбудителя в печени и слепых отростках тонкого кишечника на 12-е сут, индекс антимикробной активности (ИАА).

Мониторинг колонизации кишечника бактериями *S. enteritidis* rif92 проводили путем бактериологического анализа фекалий инфицированных цыплят. На 3, 6, 9-е сут изучали пул фекалий от всей группы, на 12-е сут – индивидуально после эвтаназии. Уровень персистенции *S. enteritidis* rif92 оценивали по количеству бактерий в 1 г помета. Наличие и концентрацию *S. enteritidis* rif92 в кишечнике определяли согласно ISO 6887-1983 «Общее руководство по приготовлению разведений для микробиологических исследований».

Выросшие на питательных средах колонии подсчитывали и идентифицировали с использованием сальмонеллезных сывороток при проведении масс-спектрального анализа. Индекс антимикробной активности рассчитывали как отношение содержания микробных клеток в гомогенате органов в контрольной группе к опытной группе по окончании срока наблюдения [25].

Статистический анализ проводился при помощи средств языка R версии 3.4.4. На основании первичных данных выживаемости построена статистическая модель для сравнения групп по лог-ранг методу. В качестве поправки на множественность сравнений использована поправка Холма. Сравнение групп проводили с использованием двухфакторных линейных моделей и пост-хок критерия Тьюки. Показатели по массе тела для каждой группы и концентрации возбудителя в печени и содержимом кишечника у зараженных цыплят представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего  $M \pm SE$ . Сравнение групп проводили с использованием теста Краскела – Уоллиса и пост-хок критерия Вилкоксона. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Выживаемость цыплят во всех группах составила 100%. Средние значения массы тела цыплят с 1-х по 9-е сут исследования во всех группах были

сопоставимы. С 10-х сут масса тела в группе препарата была выше, чем в других группах, при этом отмечали статистически значимые различия: на 10-е сут – группа препарата от группы плацебо ( $260,0 \pm 7,2$  г vs  $228,8 \pm 8,7$  г), на 11-е сут – от интактной группы ( $297,0 \pm 8,4$  г vs  $263,0 \pm 15,8$  г) и на 12-е сут – от групп плацебо ( $325,8 \pm 9,6$  г vs  $291,9 \pm 10,2$  г) и интактного контроля ( $325,8 \pm 9,6$  г vs  $287,1 \pm 16,2$  г). Остальные группы были сопоставимы по массе.

Лучшие показатели расхода корма на 1 кг прироста массы тела были получены в группе препарата (1,28 кг), в группе «препарат + антибиотик» (1,29 кг) и в группе «плацебо + антибиотик» (1,27 кг). В то время как в группе «плацебо» данный показатель составил 1,39 кг, а в интактном контроле – 1,50 кг.

Динамика концентрации *Salmonella enteritidis* rif92 в помете цыплят представлена в табл. 1.

Таблица 1

| Концентрация <i>S. enteritidis</i> после заражения, КОЕ/г фекалий |                 |                 |                 |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Группа                                                            | 3-й сут         | 6-е сут         | 9-е сут         |
| Препарат, $n = 15$                                                | $5 \times 10^6$ | $2 \times 10^2$ | 74              |
| Препарат + антибиотик, $n = 15$                                   | $5 \times 10^6$ | $1 \times 10^2$ | 32              |
| Плацебо, $n = 15$                                                 | $7 \times 10^6$ | $6 \times 10^4$ | $4 \times 10^2$ |
| Плацебо + антибиотик, $n = 15$                                    | $5 \times 10^6$ | $5 \times 10^4$ | 39              |
| Интактный контроль, $n = 15$                                      | –               | –               | –               |

На 6-е сут после заражения при введении экспериментального препарата в монорежиме, а также при его комбинации с антибиотиком удалось снизить концентрацию сальмонелл на четыре порядка, в то время как в группе «плацебо + антибиотик» только на два порядка. На 9-е сут присутствие *S. enteritidis* в помете цыплят сохранялось только в группе «плацебо». В остальных группах концентрация возбудителя отмечалась единичными колониями.

Данные по количеству зараженных цыплят, обсеменности *S. enteritidis* печени и наличию возбудителя в кишечном содержимом по группам на момент окончания опыта (12-е сут после заражения) представлены в табл. 2.

На 12-е сут после заражения присутствие возбудителя в кишечнике отмечалось почти у половины особей в группе плацебо. Добавление антибиотика снизило долю (%) зараженных цыплят, однако лучшие результаты были получены в группах «препарат» и «препарат + антибиотик», при этом в последней концентрация возбудителя была минимальной. В отношении обнаружения возбудителя в печени во всех группах отмечали низкий уровень инвазии, однако лучшие результаты наблюдали в группе «препарат + антибиотик».

Антимикробная активность антибиотика, вводимого в дозировке ЭД50, была невысокой (группа «плацебо + антибиотик»). Однако добавление препарата позволило увеличить ИАА в 4,0 и 7,7 раза в

печени и кишечнике соответственно. Также отмечали высокий ИАА экспериментального препарата при исследовании печени, что говорит о его протективном действии при сальмонеллезной инвазии.

Таблица 2

| Показатели присутствия <i>S. enteritidis</i> после эвтаназии у зараженных цыплят и индекс антимикробной активности |              |                                 |      |              |                                 |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------------------------------|------|--------------|---------------------------------|-----|
| Группа                                                                                                             | Печень       |                                 |      | Кишечник     |                                 |     |
|                                                                                                                    | <i>n</i> (%) | Концентрация, КОЕ/г, $M \pm SE$ | ИАА  | <i>n</i> (%) | Концентрация, КОЕ/г, $M \pm SE$ | ИАА |
| Препарат                                                                                                           | 2 (13,3)     | $18,5 \pm 14,5$                 | 10,6 | 2 (13,3)     | $(5,5 \pm 2,5) \times 10^3$     | 0,4 |
| Препарат + антибиотик                                                                                              | 1 (6,7)      | $56,0 \pm 0$                    | 3,6  | 4 (26,7)     | $(5,0 \pm 1,2) \times 10^2$     | 4,6 |
| Плацебо                                                                                                            | 3 (20,0)     | $195,7 \pm 52,3$                | –    | 7 (46,7)     | $(2,3 \pm 6,3) \times 10^2$     | –   |
| Плацебо + антибиотик                                                                                               | 1 (6,7)      | $200,0 \pm 0$                   | 0,9  | 5 (33,3)     | $(3,8 \pm 1,7) \times 10^3$     | 0,6 |
| Интактный контроль                                                                                                 | –            | –                               | –    | –            | –                               | –   |

## ОБСУЖДЕНИЕ

Мишенями для экспериментального препарата, изучаемого в настоящем исследовании, являются молекулы МНС I и МНС II классов. Основываясь на ранее показанных свойствах для препаратов данного класса [26, 27], экспериментальный препарат, очевидно, оказывает влияние на свои мишени, активируя процессинг и презентацию антигена и формируя адекватный иммунный ответ при инфекционном процессе. МНС молекулы I класса осуществляют презентацию пептидных антигенных детерминант наивным CD8+ киллерным Т-клеткам, в то время как МНС молекулы II класса – наивным CD4+ Т-хелперам и Т-регуляторам [28]. Молекулы МНС-систем сегодня рассматриваются как одни из наиболее перспективных маркеров адаптивных специфических иммунных реакций, в том числе процессинга и презентации антигена. Механизмы их функционирования исследуются при изучении инфекционных заболеваний [29–32].

В проведенном исследовании экспериментальное инфицирование цыплят пониженной дозировкой *S. enteritidis* rif<sup>92</sup> привело к развитию нелетальной инфекции, проявляющейся длительным (у некоторых цыплят до последних суток исследования) нахождением возбудителя в желудочно-кишечном тракте. Следует отметить разницу между группами по массе тела цыплят как показателю общего состояния организма. У цыплят, получавших экспериментальный препарат, она была статистически значимо выше, чем в группах «плацебо» и «интактный контроль» и также выше, чем в группах с применением антибиотика. Это косвенно подтверждает развитие инфекционного процесса в группе с применением экспериментального препарата в более легкой форме.

Лучшие результаты по затратам корма на 1 кг прироста наблюдали в группах, где проводили лечение цыплят экспериментальным образцом или

антибиотиком, а также их комбинацией. Патогенез данной модели связан с нарушением морфофункциональных характеристик желудочно-кишечного тракта, а снижение затрат корма свидетельствует о более высокой способности кишечника к перевариванию и всасыванию питательных веществ и, следовательно, о меньшем негативном воздействии заражения. Эффективность при лечении цыплят экспериментальным препаратом по показателю усвоения питательных веществ была сопоставима с антибиотикотерапией или применением их комбинации.

Терапия с применением экспериментального препарата сократила сроки выздоровления цыплят. Так, 6-е сут после заражения характеризовался биологически значимым снижением концентрации возбудителя в помете на два порядка в группах с применением экспериментального препарата как при монотерапии, так и в сочетании с пониженной дозой антибиотика по отношению к группам с применением плацебо.

Добавление экспериментального препарата к антибиотикотерапии позволило повысить уровень антимикробной активности последнего в 4 и 7,7 раза в печени и кишечнике соответственно. При этом собственный уровень антимикробной активности экспериментального препарата в печени был также на высоком уровне. Снижение сальмонеллезной инвазии печени, возможно, связано с протективным воздействием препарата на стенки желудочно-кишечного тракта, что препятствовало проникновению возбудителя в кровеносное русло и внутренние органы. Результаты исследований других авторов [13–15, 33] также подтверждают предположение об иммунных механизмах в защите против сальмонелл.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые продемонстрирована выраженная иммунорегуляторная активность изучаемого препарата в отношении *Salmonella enteritidis* rif<sup>92</sup>. Полученные

результаты позволяют рассматривать данный препарат в качестве перспективного агента для терапии сальмонеллезной инфекции как в виде самостоятельного применения, так и в комбинации с антибиотиком.

## ЛИТЕРАТУРА

1. [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)) (дата обращения: 29.01.2020).
2. Пименов Н.В., Лаишевцев А.И., Пименова В.В. Роль возбудителей сальмонеллеза птиц в инфицировании и патологии человека. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 2017; 2 (62): 282–289. DOI: 10.18551/rjoas.2017-02.33.
3. Фисинин В.И. Обеспечение биобезопасности в птицеводстве. Птицепром. Спецвыпуск. 2017; S1: 58–60.
4. Antunes P., Mourão J., Campos J., Peixe L. Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016; 22 (2): 110–121. DOI:10.1016/j.cmi.2015.12.004.
5. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*. 2018; 16 (12): 262. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5500.
6. Проккоева Ж.А. Особенности бактериологических исследований цыплят, экспериментально инфицированных *Salmonella enteritidis*, на фоне применения пробиотического биокомплекса. *БИО*. 2018; 11: 9–11.
7. Chen Y., Glass K., Liu B., Hope K., Kirk M. Salmonella Infection in Middle-Aged and Older Adults: Incidence and Risk Factors from the 45 and Up Study. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2016; 13 (12): 689–694. DOI: 10.1089/fpd.2016.2170.
8. Acheson D., Hohmann E.L. Nontyphoidal salmonellosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32 (2): 263–269. DOI: 10.1086/318457.
9. Поломошнов Н.А., Малышева Л.А. Эффективность использования пробиотиков для профилактики сальмонеллеза. *Ветеринарная патология*. 2012; 1 (39): 52–56.
10. Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Макарова М.А., Забровская А.В., Матвеева З.Н., Сужаева Л.В., Войтенкова Е.В. Многообразие механизмов антибиотикорезистентности сальмонелл. *Инфекция и иммунитет*. 2011; 1 (4): 303–310. DOI: 10.15789/2220-7619-2011-4-303-310.
11. Liljebljelke K.A., Hofacre C.L., White D.G., Ayers S., Lee M.D., Maurer J.J. Diversity of antimicrobial resistance phenotypes in salmonella isolated from commercial poultry farms. *Frontiers in Veterinary Science*. 2017; 4: 96. DOI: 10.3389/fvets.2017.00096.
12. Wei Z., Xu X., Yan M., Chang H., Li Y., Kan B., Zeng M. *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* infections in sporadic diarrhea in children: source tracing and resistance to third-generation cephalosporins and ciprofloxacin. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2019; 16 (4): 244–255. DOI: 10.1089/fpd.2018.2557.
13. McSorley S.J., Ehst B.D., Yu Y., Gewirtz A.T. Bacterial flagellin is an effective adjuvant for CD4+ T cells *in vivo*. *The Journal of Immunology*. 2002; 169 (7): 3914–3919. DOI: 10.4049/jimmunol.169.7.3914.
14. Pham O.H., McSorley S.J. Protective host immune responses to *Salmonella* infection. *Future Microbiology*. 2015; 10 (1): 101–110. DOI: 10.2217/fmb.14.98.
15. Salazar-Gonzalez R.-M., Srinivasan A., Griffin A., Muralimohan G., Ertel J.M., Ravindran R., Vella A.T., McSorley S.J. *Salmonella* flagellin induces bystander activation of splenic dendritic cells and hinders bacterial replication *in vivo*. *The Journal of Immunology*. 2007; 179 (9): 6169–6175. DOI: 10.4049/jimmunol.179.9.6169.
16. Новокшионов А.А., Соколова Н.В., Галеева Е.В., Курбанова Г.М., Портных О.Ю., Учайкин В.Ф. Иммуноотерапия при острых кишечных инфекциях у детей. Опыт использования нового иммуномодулятора «Гепон». *Детские инфекции*. 2003; 1: 32–36.
17. Павелкина В.Ф., Еровиченков А.А., Пак С.Г. Совершенствование патогенетической терапии при заболеваниях бактериальной этиологии. *Журнал инфектологии*. 2012; 4 (3): 67–75.
18. Bunkin N.F., Shkirin A.V., Penkov N.V., Chirikov S.N., Ignatiev P.S., Kozlov V.A. The physical nature of mesoscopic inhomogeneities in highly diluted aqueous suspensions of protein particles. *Physics of Wave Phenomena*. 2019; 27 (2): 102–112. DOI: 10.3103/S1541308X19020043.
19. Chikramane P.S., Kalita D., Suresh A.K., Kane S.G., Bel-lare J.R. Why extreme dilutions reach non-zero asymptotes: a nanoparticulate hypothesis based on froth flotation. *Langmuir*. 2012; 28 (45): 15864–15875. DOI: 10.1021/la303477s.
20. Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Киселева Ю.В., Коновалов А.И. Самоорганизация и физико-химические свойства водных растворов антител к интерферону-гамма в сверхвысоком разведении. *Доклады Академии наук*. 2015; 462 (2): 185–189. DOI: 10.7868/S0869565215140170.
21. Higginson E.E., Simon R., Tennant S.M. Animal models for salmonellosis: applications in vaccine research. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2016; 23 (9): 746–756. DOI: 10.1128/cvi.00258-16.
22. Guard-Petter J. The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*. *Environmental Microbiology*. 2001; 3 (7): 421–430. DOI: 10.1046/j.1462-2920.2001.00213.x.
23. Wallis T.S., Galyov E.E. Molecular basis of *Salmonella*-induced enteritis. *Molecular Microbiology*. 2000; 36 (5): 997–1005. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01892.x.
24. Card R.M., Cawthraw S.A., Nunez-Garcia J., Ellis R.J., Kay G., Pallen M.J., Woodward M.J., Anjum M.F. An *in vitro* chicken gut model demonstrates transfer of a multidrug resistance plasmid from salmonella to commensal *Escherichia coli*. *mBio*. 2017; 8 (4): e00777–007817. DOI: 10.1128/mbio.00777-17.
25. Охупкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К. Метод ускоренной оценки эффективности антибактериальных препаратов при экспериментальном бруцеллезе. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 2: 79–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-79-82.
26. Зиллов В.Г., Судаков К.В., Эпштейн О.И. Элементы информационной биологии и медицины. М.: МГУЛ, 2001: 248.

27. Эпштейн О.И. Феномен релиз-активности и гипотеза «пространственного» гомеостаза. *Успехи физиологических наук*. 2013; 44 (3): 54–76.
28. Гариб Ф.Ю., Ризопулу А.П. Взаимодействия патогенных бактерий с врожденными иммунными реакциями хозяина. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2 (3): 581–596. DOI: 10.15789/2220-7619-2012-3-581-596.
29. Костюченко М.В., Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Санникова И.В., Дейнека Д.А., Голубь О.Г. Перспектива оценки антигенреактивности лимфоцитов *in vitro* для диагностики острого бруцеллеза. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7 (1): 91–96. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-1-91-96.
30. Blander J.M. The comings and goings of MHC class I molecules herald a new dawn in cross-presentation. *Immunological Reviews*. 2016; 272 (1): 65–79. DOI: 10.1111/imr.12428.
31. Faivre V., Lukaszewicz A.-C., Payen D. Downregulation of blood monocyte HLA-DR in ICU patients is also present in bone marrow cells. *PLoS One*. 2016; 11 (11): 15. DOI: 10.1371/journal.pone.0164489.
32. Zhu M., Dai J., Wang C., Wang Y., Qin N., Ma H., Song C., Zhai X., Yang Y., Liu J., Liu L., Li S., Liu J., Yang H., Zhu F., Shi Y., Shen H., Jin G., Zhou W., Hu Z. Fine mapping the MHC region identified four independent variants modifying susceptibility to chronic hepatitis B in Han Chinese. *Human Molecular Genetics*. 2016; 25 (6): 1225–1232. DOI: 10.1093/hmg/ddw003.
33. Фисинин В.И., Сурай П. Кишечный иммунитет у птиц: факты и размышления. *Сельскохозяйственная биология*. 2013; 48 (4): 3–25.

## Вклад авторов

Теймуразов М.Г. – планирование и проведение лабораторных исследований, анализ и интерпретация данных. Петрова Н.В. – планирование дизайна исследования, анализ результатов. Карелина Е.А. – планирование дизайна исследования, анализ результатов, написание статьи. Ганина К.К. – статистическая обработка результатов. Тарасов С.А. – руководство проектом. Эпштейн О.И. – разработка концепции создания препарата, комментарии по рукописи.

## Сведения об авторах

**Теймуразов Марат Георгиевич**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, отдел молекулярной микробиологии, ГНЦ ПМБ, пос. Оболенск, Московская обл. ORCID 0000-0002-8635-8366.

**Петрова Наталия Владимировна**, науч. сотрудник, лаборатория физиологически активных веществ, НИИОПП; ст. науч. сотрудник, научно-аналитический отдел, департамент научных исследований и разработок, ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ», г. Москва. ORCID 0000-0002-2192-7302.

**Карелина Екатерина Александровна**, канд. ветеринар. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, научно-аналитический отдел, департамент научных исследований и разработок, ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ», г. Москва. ORCID 0000-0001-6109-4643.

**Ганина Ксения Кирилловна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, научно-аналитический отдел, департамент научных исследований и разработок, ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ», г. Москва. ORCID 0000-0003-1571-6338.

**Тарасов Сергей Александрович**, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория физиологически активных веществ, НИИОПП; директор департамента научных исследований и разработок, ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ», г. Москва. ORCID 0000-0002-6650-6958.

**Эпштейн Олег Ильич**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. лабораторией физиологически активных веществ, НИИОПП; президент компании ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ», г. Москва. ORCID 0000-0003-3992-6639.

(✉) Петрова Наталия Владимировна, e-mail: physactive@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.07.2020

Подписана в печать 21.01.2021

## Предикторы неблагоприятного течения сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка у больных с синдромом обструктивного апноэ во сне

Тепляков А.Т.<sup>1</sup>, Яковлев А.В.<sup>2</sup>, Шилов С.Н.<sup>2</sup>, Яковлева Н.Ф.<sup>2</sup>, Березикова Е.Н.<sup>2</sup>, Гракова Е.В.<sup>1</sup>, Копьева К.В.<sup>1</sup>, Маянская С.Д.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

<sup>2</sup> Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)  
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

<sup>3</sup> Казанский государственный медицинский университет (КГМУ)  
Россия, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить взаимосвязь обструктивных нарушений дыхания во сне с развитием дисфункции правого желудочка (ПЖ) и легочной гипертензии, а также с риском неблагоприятного течения хронической сердечной недостаточности (ХСН) с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ).

**Материалы и методы.** В исследование включены 86 мужчин со среднетяжелой и тяжелой формами синдрома обструктивного апноэ во сне (СОАС) (с индексом апноэ/гипопноэ (ИАГ) более 15 в час). Все пациенты имели абдоминальное ожирение и артериальную гипертензию. При включении в исследование всем больным выполнено полисомнографическое исследование, а также эхокардиография по стандартному протоколу с дополнительной оценкой фракционного изменения площади и индекса работы миокарда правого желудочка ( $\Delta$ СПЖ и ИРМПЖ), определено содержание предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа. Тест 6-минутной ходьбы (ТШХ) выполняли после включения в исследование и через 12 мес наблюдения. В зависимости от характера течения ХСН за период наблюдения, ретроспективно, пациенты были разделены на две группы: с неблагоприятным ( $n = 33$ ) и благоприятным ( $n = 53$ ) прогнозом.

**Результаты.** Выявлена значимая взаимосвязь между ИАГ и  $\Delta$ СПЖ, ИРМПЖ, ТШХ, уровнем NT-proBNP. На основании результатов однофакторного корреляционного анализа установлено, что  $\Delta$ СПЖ (отношение шансов (ОШ) 2,51; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 2,42–3,24;  $p = 0,0009$ ), NT-proBNP 1,92; 95%-й ДИ 1,32–2,78;  $p = 0,003$ ), ИАГ (ОШ 3,93; 95%-й ДИ 2,87–4,11;  $p = 0,018$ ) были предикторами неблагоприятного течения ХСН. При проведении многофакторного анализа установлено, что независимым предиктором неблагоприятного течения ХСН являлся ИАГ (ОШ 3,49; 95%-й ДИ 2,17–11,73;  $p = 0,0008$ ), при этом добавление NT-proBNP улучшало стратификацию риска неблагоприятного течения ХСН (ОШ 4,66; 95%-й ДИ 3,87–13,11;  $p < 0,0001$ ).

**Заключение.** Фракционное изменение площади ПЖ  $\Delta$ СПЖ можно рассматривать в качестве неинвазивного маркера для определения формирующейся правожелудочковой дисфункции и прогнозирования неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных с сохраненной ФВ ЛЖ и СОАС. При этом комбинированное использование эхокардиографического ( $\Delta$ СПЖ) и лабораторного (NT-proBNP) маркеров позволяет улучшить стратификацию риска прогрессирования ХСН.

**Ключевые слова:** синдром обструктивного апноэ во сне, хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса, правожелудочковая дисфункция, легочная гипертензия.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-Медицина” г. Новосибирск» (протокол № 27 от 16.04.2018).

**Для цитирования:** Тепляков А.Т., Яковлев А.В., Шилов С.Н., Яковлева Н.Ф., Березикова Е.Н., Гракова Е.В., Копьева К.В., Маянская С.Д. Предикторы неблагоприятного течения сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка у больных с синдромом обструктивного апноэ во сне. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 102–112. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-102-112>.

## Predictors of an adverse course of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction in patients with obstructive sleep apnea syndrome

Teplyakov A.T.<sup>1</sup>, Yakovlev A.V.<sup>2</sup>, Shilov S.N.<sup>2</sup>, Yakovleva N.F.<sup>2</sup>, Berezikova E.N.<sup>2</sup>, Grakova E.V.<sup>1</sup>, Kopeva K.V.<sup>1</sup>, Mayanskaya S.D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

<sup>2</sup> Novosibirsk State Medical University (NSMU) 52, Krasniy Pr., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

<sup>3</sup> Kazan State Medical University (KSMU) 49, Butlerov Str., Kazan, 420012, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To study the relationship of obstructive respiratory disorders during sleep with subclinical development of right ventricular dysfunction and pulmonary hypertension, as well as with the risk of an adverse course of chronic heart failure (CHF) with preserved left ventricular ejection fraction (LVEF).

**Materials and methods.** The study included 86 men with moderate and severe forms of obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) (with an apnea/hypopnea index (AHI) > 15 per hour). All patients had abdominal obesity and hypertension. Upon inclusion in the study, all patients underwent polysomnography and echocardiography according to the standard protocol with an additional assessment of the fractional area change in the right ventricular myocardium ( $\Delta$ SRV) and the right ventricular stroke work index (RVSWI). Also, the content of the N-terminal brain natriuretic peptide precursor (NT-proBNP) in the blood serum was determined by enzyme immunoassay analysis. A six-minute walk test (6MWT) was performed after inclusion in the study and after 12 months of follow-up. Depending on the course of CHF during the follow-up, retrospectively, the patients were divided into 2 groups: with an unfavorable ( $n = 33$ ) and favorable ( $n = 53$ ) prognosis.

**Results.** A significant relationship between AHI and  $\Delta$ SRV, RVSWI, NT-proBNP, and 6MWT was revealed. Based on the results of one-way correlation analysis, it was found that  $\Delta$ SRV (odds ratio (OR) 2.51; 95% confidence interval (CI) 2.42–3.24;  $p = 0.0009$ ), NT-proBNP (OR 1.92; 95% CI 1.32–2.78;  $p = 0.003$ ), and AHI (OR 3.93; 95% CI 2.87–4.11;  $p = 0.018$ ) were predictors of an adverse course of CHF. In a multivariate analysis, it was found that AHI was an independent predictor of an adverse course of CHF (OR 3.49; 95% CI 2.17–11.73;  $p = 0.0008$ ), while the addition of NT-proBNP improved risk stratification of an adverse course of CHF (OR 4.66; 95% CI 3.87–13.11;  $p < 0.0001$ ).

**Conclusion.** The fractional area change in the right ventricular myocardium ( $\Delta$ SRV) can be considered as a non-invasive marker for determining the emerging right ventricular dysfunction and predicting adverse cardiovascular events in patients with preserved LVEF and OSAS. Moreover, the combined use of echocardiographic ( $\Delta$ SRV) and laboratory (NT-proBNP) markers can improve risk stratification of CHF progression.

**Key words:** obstructive sleep apnea syndrome, chronic heart failure with preserved ejection fraction, right ventricular dysfunction, pulmonary hypertension.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Clinical Hospital “Russian Railways – Medicine”, Novosibirsk (Protocol No. 27 of 16.04.2018).

**For citation:** Teplyakov A.T., Yakovlev A.V., Shilov S.N., Yakovleva N.F., Berezikova E.N., Grakova E.V., Kopeva K.V., Mayanskaya S.D. Predictors of an adverse course of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 102–112. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-102-112>.

## ВВЕДЕНИЕ

Синдром обструктивного апноэ во сне является метаболическим синдромом, ассоциированным с абдоминальным ожирением и повышенным риском кардиоваскулярных осложнений. В ряде крупных, клинически контролируемых, проспективных исследований продемонстрирована взаимосвязь синдрома обструктивного апноэ во сне (СОАС) с артериальной гипертензией и нарушениями сердечного ритма и проводимости, а также повышенным риском внезапной сердечной смерти в ночное время [1–5].

Значимость проблемы СОАС определяется его весьма широкой распространенностью, высокой частотой тяжелых метаболических, кардиопульмональных осложнений и смертностью [6, 7]. Так, в США наблюдается более 40 млн пациентов с нарушениями сна, из них около 10 млн страдают СОАС [8]. В России точные данные по эпидемиологии СОАС отсутствуют, но, учитывая высокую распространенность основных факторов риска этого синдрома – ожирения, курения, заболеваний щитовидной железы, можно предположить достаточно высокую распространенность данного синдрома и в российской популяции.

Одним из важных звеньев патогенеза синдрома апноэ во сне является перегрузка правых отделов сердца вследствие периодического повышения внутрибрюшного давления в период апноэ. Другим важным патогенетическим механизмом является формирование легочной гипертензии на фоне интермиттирующей ночной гипоксемии, приводящей к гиперактивации симпатической нервной системы, активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, развитию эндотелиальной дисфункции с повышенной экспрессией эндотелина-1 и активацией механизма гипоксической вазоконстрикции мелких легочных артерий [9, 10].

Кроме того, эндотелиальная дисфункция, вызванная ацидозом сосудистой стенки, спрово-

ждается гиперэкспрессией вазоконстрикторов: тромбоксана А<sub>2</sub>, эндотелина-1, ингибированием продукции вазодилататоров – оксида азота и простаглицина [11]. Показано, что при СОАС за эпизодом апноэ следует период гипервентиляции с характерным для него нарастанием отрицательного давления в грудной клетке и увеличением венозного притока к правому желудочку, что приводит впоследствии к дилатации нижней полой вены, правого предсердия, гипертрофии миокарда правого желудочка и активации мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) [12, 13]. Возможно, именно эти факторы инициируют появление и прогрессирование глобальной дисфункции правого желудочка и легочной гипертензии.

Однако сложность трактовки дисфункции правого желудочка, механизмов прогрессирования легочной гипертензии в качестве прогностических факторов СОАС заключается в том, что этот синдром часто сочетается с другими факторами риска сердечно-сосудистой патологии, в частности с ожирением, инсулинорезистентностью, артериальной гипертензией, хронической обструктивной болезнью легких, портальной гипертензией [14, 15]. Поэтому в кардиологической практике использование современных подходов к мультифакториальной стратификации риска кардиоваскулярных осложнений для выбора оптимальной патогенетической терапии имеет существенные преимущества перед оценкой отдельных параметров, таких как функциональный класс легочной артериальной гипертензии (ЛАГ) (согласно Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)), или тест 6-минутной ходьбы (ТШХ). Влияние обструктивных нарушений дыхания во сне на сердечно-сосудистую систему опосредуется целым рядом факторов. Поэтому для детальной оценки этого влияния и выработки конкретных подходов к профилактике и лечению сердечно-сосудистых осложнений синдрома апноэ необходимо проведение хорошо спланированных клинических исследований.

Предполагают, что увеличение активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы связано с повышенным риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, а также со снижением чувствительности почек к предсердному и мозговому натрийуретическому пептидам [3]. Все эти нейрогуморальные расстройства ведут к патологическому ремоделированию микроциркуляторного русла малого круга кровообращения, способствуя прогрессированию дисфункции правого желудочка и легочной гипертензии. Действие перечисленных патогенетических факторов способствует формированию, в итоге, хронического легочного сердца.

До настоящего времени нет полной ясности, что является основной причиной инициации и прогрессирования легочной гипертензии при синдроме обструктивного апноэ во сне: собственно периодические эпизоды остановок дыхания во сне или выраженность сопряженной с ними хронической артериальной гипоксемии. Вместе с тем оценка субклинической правожелудочковой дисфункции и легочной гипертензии представляется важной инновационной стратегией ранней персонифицированной диагностики, профилактики и лечения различной кардиоваскулярной патологии, а также полезным инструментом для оценки эффективности используемой патогенетической терапии [16].

Цель – изучить взаимосвязь обструктивных нарушений дыхания во сне с субклиническим развитием дисфункции правого желудочка и легочной гипертензии, а также с риском неблагоприятного течения хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом «Клиническая больница “РЖД-Медицина” г. Новосибирск» (протокол № 27 от 16.04.2018). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. В последнем приняли участие мужчины, соответствующие представленным ниже критериям включения/исключения из исследования.

Критерии включения в исследование: 1) средне-тяжелая и тяжелая формы СОАС (с индексом апноэ/гипопноэ (ИАГ) более 15 в час); 2) артериальная гипертензия (включая пациентов со стабилизацией артериального давления (АД) на фоне медикаментозной гипотензивной терапии); 3) абдоминальное ожирение, окружность талии (ОТ)  $\geq 92$  см, индекс массы тела (ИМТ)  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>.

Критерии исключения: 1) первичная легочная гипертензия; 2) тромбоэмболия легочной артерии в

анамнезе с высокой легочной гипертензией (систолическое давление в правом желудочке  $\geq 45$  мм рт. ст.); 3) тяжелое течение бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких; 4) поражения клапанного аппарата сердца (недостаточность митрального, трикуспидального или аортального клапанов  $\geq$  II степени); 5) гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатии; 6) ишемическая болезнь сердца (ИБС); 7) хроническая форма фибрилляции предсердий; 8) декомпенсация хронической сердечной недостаточности (ХСН) со сниженной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ); 9) патология щитовидной железы, выраженная почечная (СКД-EPI менее 30 мл/мин/м<sup>2</sup>) и печеночная недостаточность; 8) отказ от участия в исследовании.

Для диагностики СОАС у всех пациентов проводилось полисомнографическое исследование ночного сна с использованием диагностической системы Somnolab2PSG (Weinmann, Германия). Тяжесть обструктивных нарушений дыхания во сне оценивалась по ИАГ, в исследование включались пациенты со среднетяжелой ( $14 < \text{ИАГ} < 30$  в час) и тяжелой ( $\text{ИАГ} \geq 30$  в час) формами СОАС. Также по результатам полисомнографического исследования оценивался уровень средней ночной сатурации (SpO<sub>2</sub>cr.), индекс десатурации, наличие нарушений сердечного ритма в ночной период времени. Всем включенным в исследование пациентам проводили ТШХ; определение содержания предшественника (NT-proBNP в сыворотке в условиях *in vitro* выполняли методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием реактивов NTproBNP-ИФА-БЕСТ (Вектор-Бест, Россия) на анализаторе Multiskan FC (KHP).

В исследование включены 86 мужчин со средне-тяжелой и тяжелой формами СОАС (ИАГ более 15 в час), средний возраст 52 [31,0; 78,0] года. У всех включенных в исследование пациентов диагностировано абдоминальное ожирение (ОТ более 92 см), ИМТ превышал 30 кг/м<sup>2</sup>. Во всех случаях имела место артериальная гипертензия, но на фоне оптимально подобранной медикаментозной гипотензивной терапии на момент включения в исследование у пациентов были достигнуты целевые уровни АД. У 33,7% больных ( $n = 29$ ) диагностирована ХСН функционального класса (ФК) I (по NYHA), у 39,5% ( $n = 34$ ) – ХСН ФК II (по NYHA), в остальных случаях ( $n = 23$ ) дистанция ТШХ была выше 550 м. При этом уровни NT-proBNP во всех случаях превышали референсные значения более 125 пг/мл.

Через 12 мес проспективного наблюдения ретроспективно, в зависимости от характера течения ХСН, пациенты были разделены на две группы.

В 1-ю группу ( $n = 33$ ) вошли пациенты с неблагоприятным течением ХСН, во 2-ю ( $n = 53$ ) – с благоприятным течением патологии. Критериями неблагоприятного течения ХСН являлись госпитализация по поводу декомпенсации ХСН или прогрессирование патологии по данным ТШХ (с переходом в более тяжелый функциональный класс по NYHA).

Клинико-демографическая характеристика обследованных больных с синдромом обструктивного апноэ во сне на момент включения в исследование представлена в табл. 1. По основным характеристикам группы были сопоставимы, однако с неблагоприятным течением ХСН был ассоциирован более высокий показатель ИАГ ( $p = 0,0001$ ) и уровень NT-proBNP ( $p = 0,024$ ).

Эхокардиография проводилась всем пациентам по стандартному протоколу на аппарате EPIQ (Philips Ultrasound Inc., США). Оценивались следующие параметры: размеры левых и правых камер сердца, ФВ ЛЖ (по Симпсону), индекс массы миокарда ЛЖ, толщина межжелудочковой перегородки, толщина стенок левого и правого желудочков, систолическое давление в легочной артерии (определялась расчетным методом по степени трикуспидальной регургитации с помощью непрерывно-вол-

нового метода). Оценка глобальной систолической дисфункции правого желудочка (ПЖ) осуществлялась также посредством анализа фракционных изменений площади ПЖ и индекса работы миокарда ПЖ. Фракционное изменение площади ПЖ рассчитывалось по формуле  $\Delta SPЖ = 100 \times (КДП - КСП / КДП)$ , где КДП – конечно-диастолическая площадь ПЖ; КСП – конечно-систолическая площадь ПЖ. Индекс работы миокарда правого желудочка (ИРМ-ПЖ – индекс функции миокарда правого желудочка, индекс Тея) рассчитывался как соотношение суммы времени изоволюмического расслабления (IVR) и изоволюмического сокращения (IVCT) ко времени выброса:  $ИРМПЖ = (IVR + IVCT) / ET$  (в норме  $0,28 \pm 0,04$ ).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программ Statistica 10.0 и Medscale 11.5.0.0. Для проверки статистических гипотез при сравнении двух независимых количественных переменных использовали критерий Манна – Уитни, для сравнения двух зависимых – критерий Вилкоксона. Количественные данные представляли в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ . Качественные данные представляли в виде процентов и абсолютных значений.

Таблица 1

| Клинико-демографическая характеристика обследованных пациентов |                    |                    |               |
|----------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------|
| Показатель                                                     | Группа 1, $n = 33$ | Группа 2, $n = 53$ | $p$           |
| Возраст, годы, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                           | 52 [33; 71]        | 50 [31; 78]        | 0,717         |
| Индекс массы тела, $кг/м^2$ , $Me [Q_{25}; Q_{75}]$            | 36,1 [30,1; 74,8]  | 36,8 [30,06; 77,2] | 0,268         |
| ИАГ, ч, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                  | 46,0 [20,6; 85]    | 27,0 [14,0; 98,0]  | <b>0,0001</b> |
| $SPO_{2,cr}$ , %, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                        | 92 [83; 95,5]      | 93 [76; 96]        | 0,148         |
| Индекс десатурации, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                      | 44,8 [13,0; 85]    | 27,5 [4; 78]       | 0,0005        |
| ХСН ФК I (NYHA), $n$ (%)                                       | 8 (24,2)           | 21 (39,6)          | 0,142         |
| ХСН ФК II (NYHA), $n$ (%)                                      | 15 (45,5)          | 19 (35,8)          | 0,069         |
| NT-proBNP, пг/мл                                               | 338 [168; 678]     | 278 [177; 815]     | <b>0,024</b>  |
| Согласно ВОЗ:                                                  |                    |                    |               |
| ФК ЛАГ 1-й степени, $n$ (%)                                    | 12 (36,4)          | 29 (54,7)          | 0,097         |
| ФК ЛАГ 2-й степени, $n$ (%)                                    | 11 (33,3)          | 18 (33,9)          | 0,058         |
| ФК ЛАГ 3-й степени, $n$ (%)                                    | 1 (3,0)            | 4 (7,5)            | 0,105         |
| Тест 6-минутной ходьбы, м, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$               | 416 [318; 634]     | 527 [318; 640]     | 0,014         |
| САДср, мм рт. ст., $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                       | 132 [128; 138]     | 134 [128; 136]     | 0,376         |
| ДАДср, мм рт. ст., $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                       | 88 [75; 94]        | 88 [78; 95]        | 0,431         |
| ХОБЛ, $n$ (%)                                                  | 9 (27,3)           | 13 (24,5)          | 0,345         |
| Курение, $n$ (%)                                               | 12 (36,4)          | 15 (28,3)          | 0,877         |
| Дислипидемия, $n$ (%)                                          | 17 (51,5)          | 23 (43,4)          | 0,453         |
| Сахарный диабет, $n$ (%)                                       | 6 (18,2)           | 9 (17,0)           | 0,120         |
| ЖЭС (II–III по Lown), $n$ (%)                                  | 8 (24,2)           | 13 (24,5)          | 0,245         |
| Фибрилляция предсердий, $n$ (%)                                | 7 (21,2)           | 9 (17,0)           | 0,654         |

Примечание. ИАГ – индекс апноэ/гипопноэ (по данным полисомнографии),  $SPO_{2,cr}$  – средняя ночная сатурация (по данным полисомнографии), ФК – функциональный класс, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, NT-proBNP – предшественник мозгового натрийуретического пептида, ЛАГ – легочная артериальная гипертензия, САДср. – среднесуточное систолическое артериальное давление по данным СМАД, ДАДср. – среднесуточное диастолическое артериальное давление по данным СМАД, ЖЭС – желудочковая экстрасистолия, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких.

Для анализа качественных признаков использовали таблицы сопряженности с расчетом критерия  $\chi^2$  Пирсона. Если имелись ячейки с ожидаемой частотой меньше 5, то применяли двусторонний точный критерий Фишера.

Сравнение частот наступления неблагоприятных событий в группах проводили с помощью построения кривых Каплана – Мейера, для сравнения двух кривых использовали лог-ранговый критерий. Для выявления предикторов развития неблагоприятных конечных точек применяли однофакторный анализ, для выявления независимых предикторов – метод многофакторного анализа с расчетом отношения шансов (ОШ). Для определения «точки отсечения» – cut off предикторов неблагоприятных сердечно-сосудистых событий использовали ROC-анализ с расчетом AUC (площади под кривой). Критический

уровень значимости  $p$  для всех процедур анализа принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При проведении корреляционного анализа на этапе включения в исследование выявлена взаимосвязь ИАГ с ИМТ ( $r = 0,362$ ;  $p = 0,0006$ ), объемом левого предсердия ( $r = 0,570$ ;  $p < 0,00001$ ),  $\Delta$ СПЖ ( $r = -0,527$ ;  $p < 0,00001$ ), ИРМПЖ ( $r = -0,377$ ;  $p = 0,0003$ ), NT-proBNP ( $r = 0,611$ ;  $p < 0,00001$ ), ТШХ ( $r = -0,511$ ;  $p < 0,00001$ ).

По основным структурно-функциональным эхокардиографическим параметрам ЛЖ группы были сопоставимы. Выявлены значимые ассоциации показателей функции ПЖ –  $\Delta$ СПЖ ( $p = 0,031$ ) и ИРМПЖ ( $p = 0,022$ ) – с неблагоприятным клиническим течением ХСН (табл. 2).

Таблица 2

| Эхокардиографическая характеристика пациентов на момент включения в исследование |                    |                    |              |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Показатель                                                                       | Группа 1, $n = 33$ | Группа 2, $n = 53$ | $p$          |
| Левое предсердие, мм, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                      | 58 [55; 66]        | 5,5 [5,3; 6,0]     | 0,051        |
| Фракция выброса ЛЖ, %, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                     | 58 [51; 66]        | 58 [52; 62]        | 0,902        |
| КДР ЛЖ, мм, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                                | 62 [56; 69]        | 58 [55; 63]        | 0,051        |
| Межжелудочковая перегородка, мм, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                           | 13 [12; 14]        | 12 [11; 14]        | 0,195        |
| Задняя стенка ЛЖ, мм, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                      | 11 [10; 12]        | 11 [10; 12]        | 0,330        |
| Индекс массы миокарда ЛЖ, г/м <sup>2</sup> , $Me [Q_{25}; Q_{75}]$               | 114 [91,5; 134,5]  | 113 [98; 139]      | 0,811        |
| Диастолическая дисфункция, $n$ (%)                                               | 17 (51,5)          | 18 (34,0)          | 0,107        |
| Объем левого предсердия, см <sup>3</sup> , $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                 | 20,8 [18,8; 22,8]  | 18,4 [16,2; 22,6]  | 0,057        |
| $\Delta$ СПЖ, %, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                           | 40 [35; 47]        | 44 [40; 47]        | <b>0,031</b> |
| ИРМПЖ, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                                     | 0,25 [0,22; 0,25]  | 0,25 [0,24; 0,26]  | <b>0,022</b> |
| СДПЖ, мм рт. ст., $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                          | 30 [24; 41]        | 28 [21; 37]        | 0,321        |
| ТПСПЖ, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                                     | 5,0 [4,0; 6,0]     | 4,0 [4,0; 5,0]     | 0,186        |
| КДР правого желудочка, мм, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                                 | 26 [21; 36]        | 29 [20; 33]        | 0,608        |

Примечание. ЛЖ – левый желудочек, КДР – конечный диастолический размер,  $\Delta$ СПЖ – фракционное изменение площади правого желудочка, ИРМПЖ – индекс работы миокарда правого желудочка, СДПЖ – систолическое давление в правом желудочке, ТПСПЖ – толщина передней стенки правого желудочка.

Терапия, принимаемая пациентами на момент включения в исследование, была оптимальной и соответствовала современным рекомендациям [17]. По применению основных групп препаратов, используемых для лечения АГ и ХСН, группы были сопоставимы (табл. 3).

Таблица 3

| Терапия, принимаемая пациентами на момент включения в исследование, $n$ (%) |                    |                    |       |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|-------|
| Группа препаратов                                                           | Группа 1, $n = 33$ | Группа 2, $n = 53$ | $p$   |
| Ингибиторы АПФ                                                              | 20 (60,6%)         | 33 (62,3%)         | 0,581 |
| Бета-блокаторы                                                              | 22 (66,6%)         | 32 (60,4%)         | 0,472 |
| Диуретики                                                                   | 16 (48,5%)         | 26 (49%)           | 0,748 |
| Антагонисты кальция                                                         | 14 (42,4%)         | 20 (37,7%)         | 0,665 |
| Антагонисты рецепторов к $AT_2$                                             | 17 (51,5%)         | 25 (47,2%)         | 0,678 |

При проведении однофакторного анализа установлено, что  $\Delta$ СПЖ (ОШ 2,51; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 2,42–3,24;  $p = 0,0009$ ), NT-proBNP (ОШ 1,92; 95%-й ДИ 1,32–2,78;  $p = 0,003$ ), ИАГ (ОШ 3,93; 95%-й ДИ 2,87–4,11;  $p = 0,018$ ), являлись предикторами неблагоприятного течения ХСН, тогда как ИРМПЖ (ОШ 2,53; 95%-й ДИ 1,98–4,08;  $p = 0,0009$ ) оказался незначимым предиктором (ОШ 1,08; 95%-й ДИ 0,98–1,17;  $p = 0,082$ ).

По данным ROC-анализа установлено, что «точкой отсечения» – cut off, характеризующей неблагоприятное течение ХСН, являлись величина ИАГ  $\geq 33,5$  эпизодов в час (чувствительность 75,8%, специфичность 67,9%, AUC – 0,732;  $p < 0,0001$ ),  $\Delta$ СПЖ  $\geq 18,6$  % (чувствительность 75,8%, специфичность 54,7%, AUC – 0,62;  $p = 0,047$ ) и NT-proBNP  $\geq 311$  пг/мл (чувствительность 63,6%, специфичность

73,6%, AUC – 0,645;  $p < 0,0001$ ). При сравнении ROC-кривых ИАГ оставался наиболее значимым предиктором прогрессирования ХСН ( $p = 0,007$ ) в сравнении с NT-proBNP и  $\Delta$ СПЖ (рис. 1).

Для выявления ассоциации более высокого ИАГ с неблагоприятным течением ХСН проведен анализ

по Каплану – Мейеру, больные разделены по уровню cut off: группа А ( $n = 38$ ) – менее 33,5, группа В ( $n = 48$ ) – более 33,5. По результатам анализа по Каплану – Мейеру (рис. 2) установлено, что частота неблагоприятного течения ХСН в группах статистически значимо различалась ( $p = 0,014$ ).

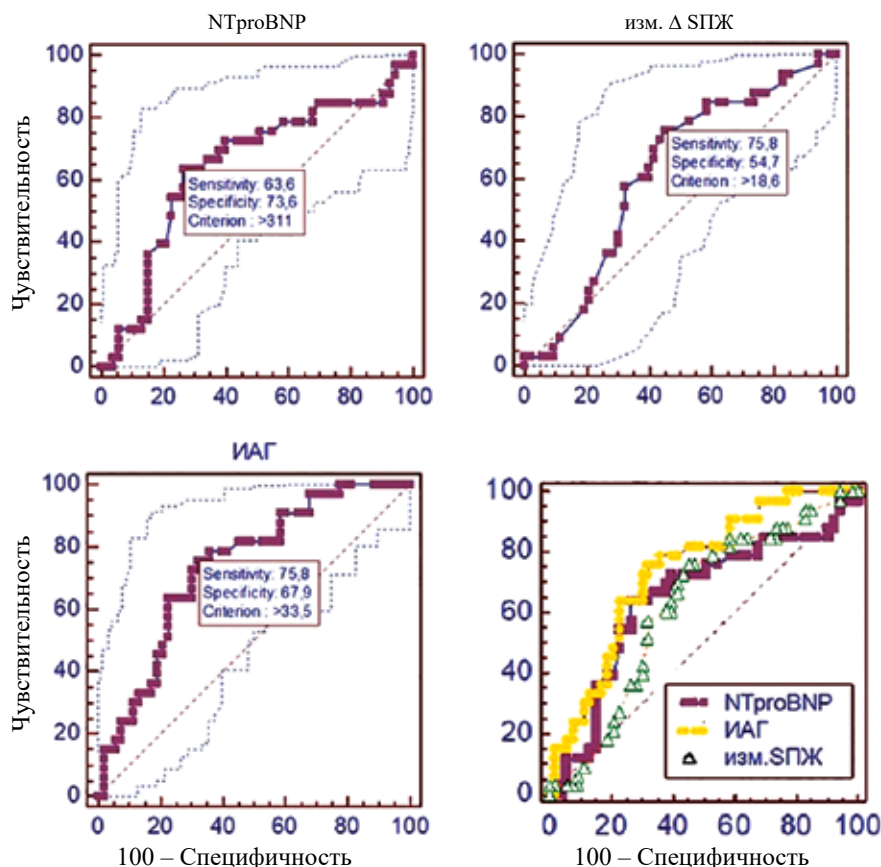


Рис. 1. Предикторы неблагоприятного течения хронической сердечной недостаточности (ROC-анализ): ИАГ – индекс апноэ/гипопноэ (по данным полисомнографии), NT-proBNP – предшественник мозгового натрийуретического пептида,  $\Delta$ СПЖ – фракционное изменение площади правого желудочка (здесь и на рис. 2)

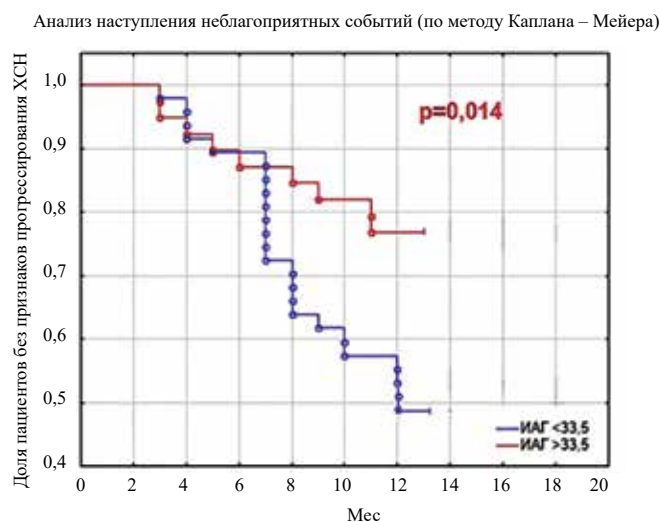


Рис. 2. Анализ частоты неблагоприятного течения ХСН в зависимости от индекса апноэ/гипопноэ Каплана – Мейера

Показано, что более высокий индекс апноэ/гипопноэ ассоциировался с более высокой частотой прогрессирования ХСН в течение 12 мес наблюдения.

При проведении многофакторного анализа с включением факторов риска прогрессирования ХСН (ИМТ, масса тела, ФВ ЛЖ, нарушения углеводного обмена, уровни NT-proBNP и др.) ИАГ оставался независимым предиктором неблагоприятного течения ХСН (ОШ 3,49; 95%-й ДИ 2,17–11,73;  $p = 0,0008$ ), добавление NT-proBNP значительно улучшало стратификацию риска неблагоприятного течения ХСН (ОШ 4,66; 95%-й ДИ 3,87–13,11;  $p < 0,0001$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования выявлено наличие взаимосвязи между тяжестью обструктивных нарушений дыхания во сне, оцениваемой по ИАГ и эхокардиографическими ( $\Delta$ СПЖ, ИРМПЖ) параметрами правожелудочковой дисфункции, и уровнем NT-proBNP. Напротив, значимых корреляций вышеуказанных показателей с выраженностью ночной гипоксемии (показатель  $SPO_{2,cr}$ ) не установлено. Это может указывать на ключевую патогенетическую роль в формировании правожелудочковой дисфункции при СОАС длительного избыточного повышения внутрибрюшного и внутригрудного давления в течение повторных эпизодов апноэ.

С этой точки зрения именно частота эпизодов апноэ, а не оксигенация крови, представляется основным фактором, определяющим дисфункцию правого желудочка и клиническое течение заболевания в целом. Значение хронической ночной гипоксемии, как фактора формирования механизма устойчивой легочной гипертензии, при этом отходит на второй план. Это согласуется с данными ряда уже опубликованных исследований [18, 19].

Как показал анализ полученных данных, тяжесть обструктивных нарушений дыхания во сне, основным параметром которой является ИАГ, достоверно коррелирует с неблагоприятным клиническим течением ХСН с сохраненной ФВ. Наиболее неблагоприятное течение отмечается у пациентов с тяжелой формой СОАС (ИАГ более 33,5 в час согласно анализу по Каплану – Мейеру). Это ассоциация, вероятно, обусловлена общностью целого ряда патогенетических звеньев синдрома обструктивного апноэ во сне и патогенеза классического сердечно-сосудистого континуума: гиперактивации симпатической нервной системы, оксидативного стресса, запуска системных воспалительных реакций. Наряду с этим статистический анализ не выявил значимых корреляций выраженности ночной гипоксемии (показатель  $SPO_{2,cr}$ ) с характером клинического течения ХСН у

исследуемых пациентов, что еще раз может указывать на вторичную роль ночной гипоксемии, вызванной обструктивным апноэ, в формировании правожелудочковой дисфункции у этих пациентов.

Обращает на себя внимание отсутствие достоверных ассоциаций выраженности легочной гипертензии с характером клинического течения заболевания. Это, возможно, связано с методом оценки степени легочной гипертензии, который был выбран для данного исследования: оценка проводилась расчетным путем по степени трикуспидальной регургитации. При этом степень трикуспидальной регургитации могла быть опосредована в определенной мере собственно правожелудочковой дисфункцией. Для уточнения значения легочной гипертензии, как маркера клинического течения СОАС, необходимо рассмотреть по-видимому, другой, более точный вариант оценки данного параметра.

Вместе с тем результаты исследования продемонстрировали, что эхокардиографический параметр правожелудочковой дисфункции  $\Delta$ СПЖ и лабораторный маркер NT-proBNP являются независимыми предикторами неблагоприятного клинического течения ХСН с сохраненной ФВ и СОАС. Учитывая имеющуюся на данный момент в работах большинства исследователей патогенетическую концепцию о первоначальном поражении именно правых отделов сердца [20], полученные в нашем исследовании факты выглядят вполне логичными. Появление структурных и функциональных нарушений в работе правых отделов сердца может свидетельствовать о значительном по времени и силе предшествующем патогенетическом воздействии обструктивных нарушений дыхания во сне и сопровождаться соответствующей клинической картиной либо указывать на скорое ее появление. Маркеры правожелудочковой дисфункции при этом могут появляться значительно раньше соответствующих нарушений в работе левого желудочка и служить критерием тяжести синдрома и важным прогностическим признаком.

В ряде исследований показана прогностическая значимость различных форм легочной гипертензии в качестве маркера неблагоприятного прогноза сердечно-сосудистой смертности больных с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями: приобретенными пороками сердца, ИБС, ХСН [20, 21]. Вместе с тем на данный момент времени вопросы формирования хронической легочной гипертензии и правожелудочковой дисфункции на фоне синдрома апноэ во сне, а также прогностическая роль этих нарушений мало изучены. Данные об эпидемиологии и распространенности легочной гипертензии при синдроме обструктивного апноэ во сне как в российской

популяции, так и в экономически развитых странах весьма противоречивы [18, 19, 22, 23].

Рядом исследователей считается доказанным факт повышения давления в легочной артерии при развитии обструктивного апноэ во время REM-фазы сна независимо от степени артериальной гипоксемии [24]. Кроме того, некоторые исследователи считают, что СОАС индуцирует развитие легочной гипертензии преимущественно или исключительно у больных ХОБЛ или при СОАС, ассоциированной с первичной легочной гипертензией [25–27].

В практическом плане появление маркеров правожелудочковой дисфункции может быть полезным при выборе терапевтической стратегии для этих пациентов, являясь сигналом к более агрессивной лечебной тактике с более ранним решением вопроса о начале аппаратной СИПАП-терапии. При этом выраженность ночной гипоксемии не показала столь значимых ассоциаций ни с маркерами правожелудочковой дисфункции, ни с характером клинического течения заболевания. Очевидно, что гипоксемия была опосредована обструктивными нарушениями дыхания во сне и носила вторичный характер.

С этих позиций при определении лечебной тактики предпочтительным выбором является аппаратная СИПАП-терапия, а не продленная ингаляция кислорода, что согласуется с существующими клиническими рекомендациями и согласительными документами [28, 29]. Безусловно, для уточнения прогностической роли отдельных показателей правожелудочковой дисфункции и более детального исследования патогенеза сердечно-сосудистых осложнений при СОАС перспективным представляется оценка данных эхокардиографических параметров в динамике при более продолжительном наблюдении этой категории пациентов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования установлено наличие значимых корреляций между выраженностью обструктивных нарушений дыхания во сне и эхокардиографическими и лабораторными маркерами формирующейся правожелудочковой дисфункции у пациентов с синдромом обструктивного апноэ во сне, что может указывать на важную патогенетическую роль этих нарушений в реализации сердечно-сосудистых осложнений при изучаемой патологии. При оценке клинического течения были выявлены взаимосвязи эхокардиографических ( $\Delta$ СПЖ) параметров правожелудочковой дисфункции и лабораторных (NT-proBNP) маркеров с неблагоприятным клиническим течением у данной категории пациентов.

Полученные данные позволяют оценивать данные маркеры в качестве независимых предикторов неблагоприятного клинического течения заболевания. В перспективе их можно использовать при стратификации клинического риска сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка и определения лечебной тактики у пациентов с синдромом обструктивного апноэ во сне.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Butt M., Dwivedi G., Khair O., Lip G.Y.H. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease. *Int. J. Cardiol.* 2010; 139: 7–16. DOI: 10.1016/j.ijcard.2009.05.021.
2. Чазова И.Е., Литвин А.Ю. Синдром обструктивного апноэ сна и связанные с ним сердечно-сосудистые осложнения. *Кардиология.* 2002; 11: 86–92.
3. Marin J.M., Agusti A., Villar I., Forner M., Nieto D., Carrizo S.J., Barbé F., Vicente E., Wei Y., Nieto F.J., Jelic S. Association between treated and untreated obstructive sleep apnea and risk of hypertension. *JAMA.* 2012; 307 (20): 2169–2176. DOI: 10.1097/sa.0b013e31827f34f1.
4. Mentz R.J., Fiuzat M. Sleep-disordered breathing in patients with heart failure. *Heart Fail Clin.* 2014; 10 (2): 243–250. DOI: 10.1016/j.hfc.2013.10.001.
5. Bitter T., Westerheide N., Prinz C., Hossain M.S., Vogt J., Langer C., Horstkotte D., Oldenburg O. Cheyne-stokes respiration and obstructive sleep apnoea are independent risk factors for malignant ventricular arrhythmias requiring appropriate cardioverter-defibrillator therapies in patients with congestive heart failure. *Eur. Heart J.* 2011; 32: 61–74. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq327.
6. Lindberg E., Gislason T. Epidemiology of sleep-related obstructive breathing. *Sleep Med. Rev.* 2000; 4: 321–327. DOI: 10.1053/smr.2000.0118.
7. Lindberg E. Epidemiology of OSA. *Eur. Respir. Mon.* 2010; 50: 51–68. DOI: 10.1183/1025448x.00025909.
8. Peppard P.E., Young T., Barnett J.H., Palta M., Hagen E.W., Hla K.M. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am. J. Epidemiol.* 2013; 177 (9): 1006–1014. DOI: 10.1093/aje/kws342.
9. Fletcher E.C. Effect of episodic hypoxia on sympathetic activity and blood pressure. *Respir. Physiol.* 2000; 119 (2–3): 189–197. DOI: 10.1016/s0034-5687(99)00114-0.
10. Ziegler M.G., Mills P.J., Loreda J.S., Ancoli-Israel S., Dimsdale J.E. Effect of continuous positive airway pressure on sympathetic nervous activity in patients with obstructive sleep apnea. *Chest.* 2001; 120 (3): 887–893. DOI: 10.1378/chest.120.3.887.
11. Kasai T., Bradley T.D. Obstructive sleep apnea and heart failure: pathophysiologic and therapeutic implications. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011; 57 (2): 119–127. DOI: 10.1016/j.jacc.2010.08.627.
12. Frantz R.P., Farber H.W., Badesch D.B., Elliott C.G., Frost A.E., McGoon M.D., Zhao C., Mink D.R., Sele J., Benza R.L. Baseline and serial brain natriuretic peptide level predicts 5-year overall survival in patients with pulmonary

- arterial hypertension. *Chest*. 2018; 154 (1): 126–135. DOI: 10.1016/j.chest.2018.01.009.
13. Tugcu A., Yildirimturk O., Tayyareci Y., Demiroglu C., Aytekin S. Evaluation of subclinical right ventricular dysfunction in obstructive sleep apnea patients using velocity vector imaging. *Circ. J.* 2010; 74 (2): 312–319. DOI: 10.1253/circj.cj-09-0562.
  14. Van Deursen V.M., Urso R., Laroche C., Damman K., Dahlström U., Tavazzi L., Maggioni A.P., Voors A.A. Comorbidities in patients with heart failure: an analysis of the European Heart Failure Pilot Survey. *Eur. J. Heart Fail.* 2014; 16 (1): 103–111. DOI: 10.1016/s0735-1097(13)60738-x.
  15. Schulz R., Grebe M., Eisele H.J., Mayer K., Weissmen N. Obstructive sleep apnea-related cardiovascular disease. *Med. Klin. (Munich)*. 2006; 101 (4): 321–327. DOI: 10.1159/000325110.
  16. Williams B., Mancia G., Spiering W., Agabiti Rosei E., Azizi M., Burnier M., Clement D.L., Coca A., de Simone G., Dominiczak A., Kahan T., Mahfoud F., Redon J., Ruilope L., Zanchetti A., Kerins M., Kjeldsen S.E., Kreutz R., Laurent S., Lip G.Y.H., McManus R., Narkiewicz K., Ruschitzka F., Schmieder R.E., Shlyakhto E., Tsoufou C., Aboyans V., Desormais I. ESC scientific document group. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur. Heart J.* 2018; 39 (33): 3021–3104. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy339.
  17. Lim H.E., Kim Y.H., Kim S.H., Kim E.J., Pak H.N., Kim Y.H., Baik I., Shin C. Impact of obstructive sleep apnea on the atrial electromechanical activation time. *Circ. J.* 2009; 73 (2): 249–255. DOI: 10.1253/circj.cj-08-0813.
  18. Sanner B.M., Konermann M., Sturm A., Muller H.J., Zidek W. Right ventricular dysfunction in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Eur. Respir. J.* 1997; 10 (9): 945–951. DOI: 10.1183/09031936.97.10092079.
  19. Romero-Corral A., Somers V.K., Pellicka P.A., Olson E.J., Bailey K.R., Korinek J., Orban M., Sierra-Johnson J., Kato M., Amin R.S., Lopez-Jimenez F. Decreased right and left ventricular myocardial performance in obstructive sleep apnea. *Chest*. 2007; 132 (6): 1863–1870. DOI: 10.1378/chest.07-0966.
  20. Awdish R., Cajigas H. Definition, epidemiology and registries of pulmonary hypertension. *Heart Fail Rev.* 2016; 21 (3): 223–228. DOI: 10.1007/s10741-015-9510-y.
  21. Benza R.L., Miller D.P., Gomberg-Maitland M., Frantz R.P., Foreman A.J., Coffey C.S., Frost A., Barst R.J., Badesch D.B., Elliott C.G., Liou T.G., McGoon M.D. Predicting survival in pulmonary arterial hypertension: insights from the Registry to Evaluate Early and Long-Term Pulmonary Arterial Hypertension Disease Management (REVEAL). *Circulation*. 2010; 122 (2): 164–172. DOI: 10.1161/circulationaha.109.898122.
  22. Tugcu A., Guzel D., Yildirimturk O., Aytekin S. Evaluation of right ventricular systolic and diastolic function in patients with newly diagnosed obstructive sleep apnea syndrome without hypertension. *Cardiology*. 2009; 113 (3): 184–192. DOI: 10.1159/000193146.
  23. Weitzenblum E., Krieger J., Apprill M., Vallée E., Ehrhart M., Ratomaharo J., Oswald M., Kurtz D. Daytime pulmonary hypertension in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988; 138 (2): 345–349. DOI: 10.1164/ajrccm/138.2.345.
  24. Chaouat A., Weitzenblum E., Krieger J., Oswald M., Kessler R. Pulmonary hemodynamics in the obstructive sleep apnea syndrome: Results in 220 consecutive patients. *Chest*. 1996; 109 (2): 380–386. DOI: 10.1378/chest.109.2.380.
  25. Bradley T.D., Rutherford R., Grossman R.F., Lue F., Zamel N., Moldofsky H., Zamel N., Phillipson E.A. Physiological determinants of nocturnal arterial oxygenation in patients with obstructive sleep apnea. *J. Appl. Physiol.* 1985; 59 (5): 1364–1368. DOI: 10.1152/jappl.1985.59.5.1364.
  26. Fletcher E.C., Schaaf J.W., Miller J., Fletcher J.C. Long-term cardiopulmonary sequelae in patients with sleep apnea and chronic lung disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987; 135 (3): 525–533. DOI: 10.1378/chest.92.4.604.
  27. Arias M.A., García-Río F., Alonso-Fernández A., Martínez I., Villamor J. Pulmonary hypertension in obstructive sleep apnoea: Effects of continuous positive airway pressure: a randomized, controlled cross-over study. *Eur. Heart J.* 2006; 27 (9): 1106–1113. DOI: 10.1093/eurheartj/ehi807.
  28. Epstein L.J., Kristo D., Strollo P.J. Jr, Friedman N., Malhotra A., Patil S.P., Ramar K., Rogers R., Schwab R.J., Weaver E.M., Weinstein M.D. Adult obstructive sleep apnea task force of the American Academy of Sleep Medicine. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J. Clin. Sleep Med.* 2009; 5 (3): 263–276. DOI: 10.5664/jcsm.27497.
  29. Nakamura S., Asai K., Kubota Y., Murai K., Takano H., Tsukada Y.T., Shimizu W. Impact of sleep-disordered breathing and efficacy of positive airway pressure on mortality in patients with chronic heart failure and sleep-disordered breathing: a meta-analysis. *Clin. Res. Cardiol.* 2015; 104 (3): 208–216. DOI: 10.1007/s00392-014-0774-3.

## Вклад авторов

Тепляков А.Т., Шилов С.Н. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Яковлев А.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Березикова Е.Н. – разработка концепции и дизайна. Гракова Е.В., Маянская С.Д. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Копьева К.В. – анализ и интерпретация данных.

## Сведения об авторах

**Тепляков Александр Трофимович**, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-0721-0038.

**Яковлев Алексей Владимирович**, канд. мед. наук, доцент, кафедра терапии, гематологии и трансфузиологии, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-4763-0961.

**Шилов Сергей Николаевич**, д-р мед. наук, доцент, кафедра патологической физиологии и клинической патофизиологии, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-7777-6419.

**Яковлева Наталья Фаритовна**, канд. мед. наук, ассистент, кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-4736-6486.

**Березикова Екатерина Николаевна**, д-р мед. наук, доцент, кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-9630-0213.

**Гракова Елена Викторовна**, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4019-3735.

**Копьева Кристина Васильевна**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2285-6438.

**Маянская Светлана Дмитриевна**, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии, КГМУ, г. Казань. ORCID 0000-0001-6701-5395.

(✉) **Яковлев Алексей Владимирович**, e-mail: alex-yak-card@mail.ru

Поступила в редакцию 03.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Высокая остаточная агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца: новый методический подход к выявлению

Трубачева О.А.<sup>1</sup>, Суслова Т.Е.<sup>1</sup>, Гусакова А.М.<sup>1</sup>, Кологривова И.В.<sup>1</sup>, Шнайдер О.Л.<sup>1</sup>, Завадовский К.В.<sup>1</sup>, Петрова И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – разработать новый методический подход к оценке коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и определить информативность методик выявления высокой остаточной реактивности тромбоцитов для прогнозирования риска нарушения миокардиальной перфузии.

**Материалы и методы.** Обследованы 36 пациентов (10 мужчин и 26 женщин) в возрасте 41–83 лет со стабильной формой ИБС, находящихся на непрерывной антиагрегационной терапии в течение 6 мес. Оценку агрегации тромбоцитов проводили на лазерном анализаторе с индуктором агрегации коллагеном по стандартной методике 1 и по собственной запатентованной методике – методике 2. Оценивали степень агрегации тромбоцитов (%) и размер агрегатов (отн. ед.) в суспензии тромбоцитов. Перфузионную сцинтиграфию миокарда с <sup>99m</sup>Tc-метокси-изобутилизонитрилом выполняли по двухдневному протоколу «нагрузка – покой». Для анализа использовали значения SSS, при SSS < 4 делали вывод о нормальной миокардиальной перфузии.

**Результаты.** Степень агрегации тромбоцитов по методике 1 составила 12 (5; 64)%, размер агрегата – 3 (2; 7) отн. ед. Степень агрегации тромбоцитов по методике 2 составила 44 (13; 78)%, а размер агрегата – 5 (4; 8) отн. ед. Методика 2 позволила диагностировать наличие нарушений миокардиальной перфузии при степени агрегации  $\geq 44,9\%$  с чувствительностью 84% и специфичностью 92% (AUC = 0,89;  $p < 0,0001$ ; отношение шансов (ОШ) 2,18; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 0,57–0,98) и увеличение размеров агрегатов  $\geq 4,80$  отн. ед. с чувствительностью 84% и специфичностью 84% (AUC = 0,95;  $p < 0,00001$ ; ОШ 5,83; 95%-й ДИ 0,72–0,99).

**Заключение.** У пациентов с ишемической болезнью сердца выявление высоких показателей коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов с помощью запатентованной методики ассоциируется с риском нарушения миокардиальной перфузии. Разработанный новый методический подход по выявлению высокой остаточной реактивности тромбоцитов позволил определить наличие высокого риска развития атеротромботических осложнений дополнительно у 22% обследованных пациентов.

**Ключевые слова:** агрегация, тромбоцит, коллаген, ишемическая болезнь сердца, остаточная реактивность.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках фундаментальной темы НИИ кардиологии (№ АААА-А15-115123110026-3).

**Соответствие принципам этики.** Информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 139 от 18.11.2015).

**Для цитирования:** Трубачева О.А., Суслова Т.Е., Гусакова А.М., Кологривова И.В., Шнайдер О.Л., Завадовский К.В., Петрова И.В. Высокая остаточная агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца: новый методический подход к выявлению. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 113–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-113-119>.

## High residual platelet aggregation in patients with coronary artery disease: a new methodological approach to detection

Trubacheva O.A.<sup>1</sup>, Suslova T.E.<sup>1</sup>, Gusakova A.M.<sup>1</sup>, Kologrivova I.V.<sup>1</sup>, Schneider O.L.<sup>1</sup>, Zavadovsky K.V.<sup>1</sup>, Petrova I.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University (SSMU) 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To develop a new methodological approach to assessment of collagen-induced platelet aggregation in patients with coronary artery disease (CAD) and to determine the quality of various methods for detecting high residual platelet reactivity (HRPR) to predict the risk of myocardial perfusion disturbance.

**Materials and methods.** 36 patients (10 men and 26 women) aged 41–83 years and having stable CAD were examined. All patients had been undergoing continuous antiaggregation therapy for 6 months. We evaluated platelet aggregation using a laser analyzer with collagen as an aggregation inducer by the standard method 1 and our own patented method 2. The degree of platelet aggregation (%) and the size of aggregates in relative units (r.u.) in platelet-rich plasma were estimated. Myocardial perfusion scintigraphy with 99mTc-methoxy-isobutylisonitrile was performed according to a two-day stress-rest protocol. The summed stress score (SSS) values were used for analysis. SSS < 4 was regarded as normal myocardial perfusion.

**Results.** The degree of platelet aggregation according to method 1 was 12 (5; 64)%, the aggregate size was 3 (2; 7) r.u. The degree of platelet aggregation according to method 2 was 44 (13; 78)%, and the aggregate size was 5 (4; 8) r.u. Method 2 allowed to diagnose the presence of myocardial ischemia with an aggregation degree  $\geq 44.9\%$  with sensitivity of 84% and specificity of 92% (area under the curve (AUC) = 0.89;  $p < 0.0001$ ; odds ratio (OR) 2.18; 95% confidence interval (CI) 0.57–0.98) and an increase in aggregate size  $\geq 4.80$  r.u. with sensitivity of 84% and specificity of 84% (AUC = 0.95;  $p < 0.00001$ ; OR 5.83; 95% CI 0.72–0.99).

**Conclusion.** In patients with CAD, detection of high rates of collagen-induced platelet aggregation using the patented technique is associated with the risk of impaired myocardial perfusion. The developed new methodological approach to detection of HRPR allowed to determine high risk of atherothrombotic complications in additional 22% of the examined patients.

**Key words:** aggregation, platelet, collagen, coronary artery disease, residual reactivity.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was performed within the fundamental theme of the Cardiology Research Institute (No. AAAA-A15-115123110026-3).

**Conformity with the principles of ethics.** Each patient signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС (Protocol No. 139 of 18.11.2015).

**For citation:** Trubacheva O.A., Suslova T.E., Gusakova A.M., Kologrivova I.V., Schneider O.L., Zavadovsky K.V., Petrova I.V. High residual platelet aggregation in patients with coronary artery disease: a new methodological approach to detection. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 113–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-113-119>.

## ВВЕДЕНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) остается наиболее распространенным заболеванием сердечно-сосудистой системы, сопровождающимся высоким риском сосудистых событий и смерти. Высокая остаточная реактивность тромбоцитов (ВОРТ) у пациентов ассоциируется с развитием ишемических осложнений, что доказано в многочисленных исследованиях и данных метаанализа [1, 2]. Но в повседневной практике врача-кардиолога оценка функции тромбоцитов не проводится в связи со слабой доказательной базой. Мониторирование агрегации тромбоцитов целесообразно использовать лишь в определенных клинических ситуациях (класс рекомендаций IIb) [1, 2]. Однако, несмотря на сформулированные рекомендации, дискуссия о рутинном применении тестирования функции тромбоцитов продолжается. Известно, что золотым стандартом в оценке агрегации тромбоцитов является световая трансмиссионная агрегометрия [1]. Однако чувствительности используемых в настоящее время методик оценки остаточной агрегации тромбоцитов часто оказывается недостаточно.

В настоящей работе наряду со стандартным обследованием пациентов с ИБС выполнена оценка значений ВОРТ методом световой трансмиссионной агрегометрии с использованием двух подходов; определены пороговые значения показателей тромбоцитарной агрегации и проведена оценка их взаимосвязи с нарушением миокардиальной перфузии по данным перфузионной сцинтиграфии миокарда. Знания в данной области исследований актуальны как для клинической и фундаментальной медицины, так и для разработки новых методов диагностики.

Цель – разработать новый методический подход к оценке коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца и определить информативность различных методик выявления высокой остаточной реактивности тромбоцитов для прогнозирования риска нарушения миокардиальной перфузии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено поперечное (одномоментное) исследование. Набор пациентов проводился на базе Научно-исследовательского института кардиологии в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Обследованы 36 пациентов (10 мужчин и 26 женщин) в возрасте 41–83 лет со стабильной формой ИБС, находящихся на непрерывной антиагрегационной терапии в течение 6 мес. Все обследованные

пациенты получали регулярную комбинированную базисную терапию в соответствии с современными рекомендациями для лечения ИБС. Всем пациентам в соответствии с рекомендациями по диагностике и лечению ИБС выполняли лабораторные и инструментальные методы исследования, в том числе агрегацию тромбоцитов и ЭКГ-синхронизированную перфузионную сцинтиграфию миокарда. Критерии включения в исследование: стабильная форма ИБС и непрерывный прием антиагрегационной терапии в течение 6 мес (кардиомагнил в дозе 75 мг). Критерии исключения из исследования: отказ от терапии; острые сосудистые осложнения давностью менее 6 мес; тяжелая сопутствующая патология; клинические и лабораторные признаки острого воспаления; уровень сывороточного креатинина более 120 мкмоль/л; фибрилляция предсердий; желудочковая аритмия высокой градации по Lown и нежелание участвовать в исследовании.

Специальное исследование по оценке агрегации тромбоцитов проводили с помощью метода Г. Борна в модификации З.А. Габбасова на двухканальном лазерном анализаторе 220 LA (НПФ «Биола», Россия) по двум методикам. Методика 1 (стандартный подход): использовали индуктор агрегации коллаген, вносили однократно в конечной концентрации 2 мкмоль/л на 10 с. Методика 2: коллаген вносили пятикратно по 2 мкмоль/л на 10 с, определяли агрегацию тромбоцитов на 1, 2, 3 и 4-й мин. Подробно новый методический подход описан в патенте на изобретение RU 2686700 C1 [3].

Для выделения суспензии тромбоцитов использовали периферическую венозную кровь с цитратом натрия (3,8%) в качестве антикоагулянта. Для каждого образца крови пациента определяли экспериментальные значения светопропускания, где бедная тромбоцитами плазма принимается за 0%, а богатая тромбоцитами плазма – за 100% агрегации у данного пациента. По максимальной величине светопропускания судили о степени агрегации тромбоцитов (%), а по кривой среднего размера агрегатов (отн. ед.) – о размере агрегата. Значения агрегации, установленные по кривой светопропускания, в диапазоне 45–100% свидетельствовали о ВОРТ у пациентов.

Перфузионную сцинтиграфию миокарда (ПСМ) с  $^{99m}\text{Tc}$ -метокси-изобутилизонитрилом ( $^{99m}\text{Tc}$ -МИБИ) выполняли согласно двухдневному протоколу «нагрузка – покой». Исследования были проведены на гибридном 64-срезовом однофотонном эмиссионном компьютерном томографе Discovery NM/CT 570c (GE Healthcare, США), оснащенном гамма-камерой с кадмий-цинк-теллуровыми детекторами [4].

В качестве стресс-теста использовали внутривенную инфузию аденозина в дозе 140 мг/кг/мин в течение 4 мин. Оценку миокардиальной перфузии осуществляли с использованием специализированного программного обеспечения Corridor 4DM SPECT (INVIA, Ann Arbor, MI, США). Согласно общепринятому подходу, нарушения миокардиальной перфузии определяли по сумме баллов для исследования при нагрузке (SSS), в покое (SRS) и по их разнице (SDS) для всего миокарда левого желудочка [5]. Значения SSS < 4 свидетельствовали о нормальной миокардиальной перфузии.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ SPSS (версия 19), Statistica 10.0. Для оценки распределения количественных признаков был использован критерий Шапиро – Уилка. Распределение количественных показателей агрегации не подчинялось нормальному закону распределения; данные агрегации представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_1; Q_3)$ . Данные по ПСМ представлены в виде абсолютного и относительного числа ( $n$ , %). Достоверность различий для парных или зависимых выборок оценивали с использованием Т-критерия Вилкоксона. Для оценки корреляции между переменными использовали непараметрический тест Спирмена ( $r$ ). Для определения чувствительности и специфичности уровня показателей агрегации в стратификации риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий использовали ROC-анализ. Значимым считали значение  $AUC > 0,70$ . Для выявления факторов, оказывающих значимое влияние на течение заболевания, производили расчет отношения шансов

(ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (ДИ). Различия между выборками считали статистически значимыми при значении вероятности  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе обследованных пациентов были широко распространены следующие факторы сердечно-сосудистого риска: курение – 27 (75%) пациентов, избыточная масса тела и ожирение – 14 (39%), артериальная гипертензия – 31 (86%), дислипидемия – 33 (92%), сахарный диабет 2-го типа – 12 (33%) пациентов. Преобладали пациенты со стенокардией напряжения функционального класса (ФК) III – 15 (42%) и ФК II – 11 (30%). В анамнезе 8 (22%) пациентов перенесли Q-инфаркт миокарда (ИМ) давностью 6 мес и более. В большинстве случаев у включенных пациентов диагностировали многососудистое поражение коронарных артерий – 30 (83%).

Исследование агрегации тромбоцитов у пациентов с ИБС выявило значимые различия между показателями степени агрегации тромбоцитов и размеров агрегатов, полученных в ходе выполнения стандартной методики, по сравнению с собственной запатентованной методикой.

При использовании разработанного нами нового методического подхода (методика 2) установлено, что у больных с ИБС увеличен размер агрегатов и повышена степень агрегации тромбоцитов по сравнению с соответствующими значениями показателей, полученных в ходе проведения методики 1 (таблица). Методика 1 позволила выявить ВОРТ у 9 (25%) пациентов, методика 2 – дополнительно еще у 8 (22%), что в сумме составило 47% от всех пациентов.

Таблица

| Показатели значений агрегации тромбоцитов и логистической регрессии пациентов с ишемической болезнью сердца по двум методикам |                                                 |      |           |                                                 |      |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------|-----------|-------------------------------------------------|------|-----------|
| Показатель                                                                                                                    | Методика 1                                      |      |           | Методика 2                                      |      |           |
|                                                                                                                               | Значения показателей агрегации, $Me (Q_1; Q_3)$ | ОШ   | 95%-й ДИ  | Значения показателей агрегации, $Me (Q_1; Q_3)$ | ОШ   | 95%-й ДИ  |
| Степень агрегации, %                                                                                                          | 12 (5; 64)                                      | 1,46 | 0,58–0,93 | 44 (13; 78)*                                    | 2,18 | 0,57–0,98 |
| Размер агрегата, отн. ед.                                                                                                     | 3 (2; 7)                                        | 1,79 | 0,61–0,95 | 5 (4; 8)*                                       | 5,83 | 0,72–0,99 |

\* различия показателей между методиками с уровнем статистической значимости  $p < 0,05$ .

Показанием к проведению исследованию перфузионной сцинтиграфии миокарда у 16 (39%) пациентов была диагностика ИБС с претестовой вероятностью 16–85%, у 12 (33%) – оценка миокардиальной перфузии и состояния коронарных стентов, у 8 (22%) пациентов – оценка состояния аортокоронарных шунтов. По данным ПСМ, у 7 (19%) пациентов миокардиальная перфузия в нагрузке была в пределах нормы (SSS < 4). У 14 (39%) пациентов отмечено

минимальное (SSS 4–8), у 9 (25%) – умеренное (SSS 9–13) и у 6 (22%) пациентов – выраженное (SSS > 13) нарушение миокардиальной перфузии.

Корреляционный анализ показал наличие ассоциаций степени агрегации и размера агрегата по методике 1 со значением SSS средней силы связи ( $r = 0,54$  и  $r = 0,61$  соответственно;  $p < 0,002$ ), тогда как по методике 2 выявлена связь высокой силы ( $r = 0,78$  и  $r = 0,61$  соответственно;  $p < 0,002$ ).

Результаты логистического регрессионного анализа показали, что параметры агрегации тромбоцитов, полученные в ходе исследования по методике 2, ассоциированы с увеличением риска развития миокардиальной ишемии (см. таблицу).

Для изучения и сравнения диагностических и прогностических характеристик (чувствительности и специфичности) различных методик оценки агрегационной активности был проведен ROC-анализ. В качестве предиктора был использован показатель наличия (отсутствия) миокардиальной ишемии. По результатам ROC-анализа установлено,

что исследование агрегации тромбоцитов пациентов с ИБС по методике 1 позволяет выявить наличие нарушений миокардиальной перфузии при увеличении степени агрегации 16,6% и более ( $p < 0,0001$ ) и размера агрегатов 2,97 отн. ед. и более ( $p < 0,0004$ ).

Для методики 2 характерна большая специфичность. Показано, что методика 2 позволяла диагностировать наличие нарушений миокардиальной перфузии при степени агрегации 44,9% и более ( $p < 0,0001$ ) и увеличении размеров агрегатов 4,80 отн. ед. и более ( $p < 0,0001$ ) (рис.).

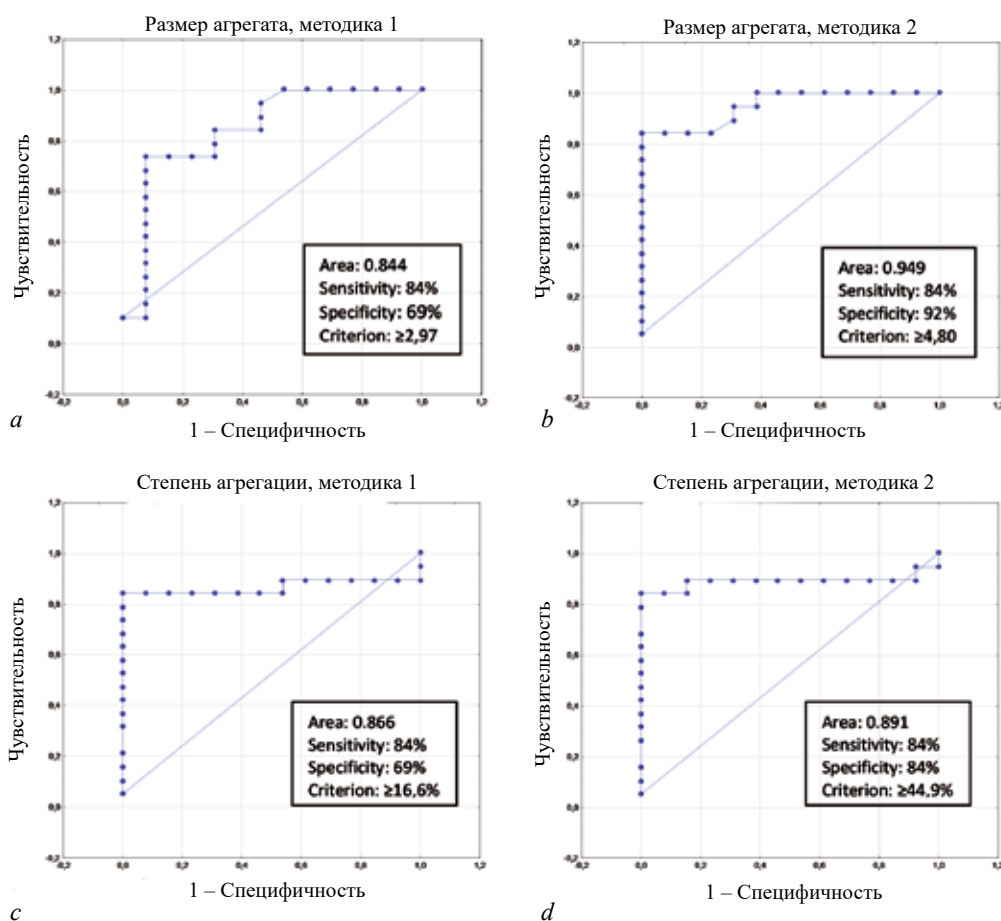


Рисунок. Показатели ROC-анализа агрегации тромбоцитов пациентов с ишемической болезнью сердца по двум методикам в качестве предиктора миокардиальной ишемии: *a* – размер агрегата (методика 1); *b* – размер агрегата (методика 2); *c* – степень агрегации (методика 1); *d* – степень агрегации (методика 2)

## ОБСУЖДЕНИЕ

Современная терапия в условиях стационара является весьма затратной, поэтому поиск простых и недорогих диагностических тестов становится все более актуальным. Дискуссия по поводу целесообразности исследования агрегации тромбоцитов у пациентов с ИБС все еще продолжается, что определяет необходимость проведения исследований в данной области.

Настоящая работа носила характер открытого одноцентрового одномоментного наблюдения. В проведенном исследовании методом световой трансмиссионной агрегометрии определены пороговые значения параметров агрегации для данной субпопуляции пациентов с ИБС, при достижении которых можно сделать вывод о наличии ВОРТ у пациентов. По стандартной методике 1 заключение о наличии ишемии миокарда можно сделать при степени агрегации 16,6% и более, среднем размере агрегатов, который равен 2,97 отн. ед.

и более. При исследовании агрегации по методике 2 пороговые величины составили: 44,9% для степени агрегации и 4,80 отн. ед. для размера агрегатов. Кроме того, мы показали, что стандартные методы исследования агрегации не всегда являются достаточными для выявления ВОРТ. Использование повышенных концентраций индуктора коллагена при пятикратном добавлении во время исследования агрегации тромбоцитов повышает точность оценки коллаген-индуцированной агрегации у пациентов с ИБС.

Данные о взаимосвязи риска развития сердечно-сосудистых осложнений с недостаточным подавлением активности тромбоцитов у больных ИБС остаются противоречивыми. Результаты нескольких независимых метаанализов с участием более 10 тыс. пациентов показали, что ВОРТ была ассоциирована со значительным повышением частоты развития ИМ, тромбоза стента и смерти от сердечно-сосудистых причин [2, 5, 6]. В то же время имеются данные, свидетельствующие об отсутствии взаимосвязи между кардиоваскулярным риском и ВОРТ у пациентов.

Так, опубликован французский регистр VERIFRENCHY, где изучалась прогностическая важность оценки функции тромбоцитов, и итоги годичного наблюдения не выявили значимых различий в частоте определенного (вероятного) тромбоза стента, сердечно-сосудистой смерти или ИМ (1 001 пациент, прибор VerifyNow, производитель Instrumentation Laboratory, США) [1]. С нашей точки зрения, отрицательные результаты, полученные в приведенных исследованиях, могут быть обусловлены тем, что все используемые в настоящее время методы агрегометрии имеют ограничения в чувствительности, специфичности, удобстве использования и прогностической ценности.

В соответствии с данными, полученными на сегодняшний день, процесс образования тромбоцитарных агрегатов выглядит следующим образом. При повреждении сосуда на его стенке обнажается коллаген, который является как субстратом, так и сильным активатором агрегации тромбоцитов. Тромбоциты адгезируются к поврежденному эндотелию сосудистой стенки с помощью специфических коллагеновых рецепторов, что является одним из пусковых механизмов в развитии пристеночного тромба коронарных артерий. В последующем тромбоциты активируют друг друга, образуя тромбоцитарные тромбы [7, 8]. Поэтому мы считаем, что только неоднократное добавление индуктора коллагена к богатой тромбоцитами плазме при исследовании агрегационной активности тромбоцитов может дать объективную информацию о наличии ВОРТ у пациентов. Использование разработанного нами нового методического подхода с дополнительным вне-

сением индуктора агрегации коллагена при оценке коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов позволяет получить дополнительную информацию о риске развития ишемии миокарда, что определяет новизну проведенного нами исследования.

В результате проведенного ROC-анализа мы показали, что наша собственная запатентованная методика (методика 2) обладает большей специфичностью для стратификации риска развития ишемии миокарда у пациентов с ИБС. Полученные данные согласуются с результатами исследований различных авторов, подтвердивших ассоциацию ВОРТ с развитием неблагоприятных кардиальных осложнений [1, 2, 5].

Сравнение методик показало, что неоднократное добавление индуктора коллагена позволяет выявить тромбоциты с высокой остаточной активностью и склонностью к образованию агрегатов крупных размеров. Отсутствие ответа на однократное добавление коллагена может быть связано с частичной активацией тромбоцитов с тенденцией к последующему дезагрегированию. Выполнение исследования агрегации с использованием аденозиндифосфата или арахидоновой кислоты в качестве индукторов, а не коллагена, может привести к ложному заключению об эффективности антиагрегантной терапии, в то время как в действительности склонность тромбоцитов к активации в ответ на взаимодействие с поврежденным эндотелием остается повышенной. В настоящее время клинические данные свидетельствуют о том, что ни ацетилсалициловая кислота, ни клопидогрел в стандартных дозах при отсутствии контроля активности тромбоцитов не могут в полной мере гарантировать эффективность антиагрегантной терапии, направленной на снижение риска развития повторных острых сосудистых событий [5, 7]. Лекарственные препараты, эффективно действующие на коллагеновые рецепторы, в настоящий момент не запатентованы и не применяются.

С нашей точки зрения, выявление высокой остаточной реактивности тромбоцитов с помощью нового методического подхода позволит не только определить наличие повышенного кардиоваскулярного риска у пациентов, но и предположить возможные причины неэффективности проводимой антиагрегантной терапии. К ограничениям проведенного исследования можно отнести его одномоментный дизайн и относительно небольшое число обследованных пациентов. Однако полученные результаты подчеркивают необходимость проведения дальнейших исследований по изучению клинических последствий высокой остаточной реактивности тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца и совершенствованию методик для первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых событий.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проанализирована клинико-прогностическая значимость высокой остаточной реактивности тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца. Показано, что у пациентов выявление высоких показателей коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов с помощью собственной запатентованной методики ассоциируется с риском нарушения перфузии по данным перфузионной сцинтиграфии миокарда. Проведенное исследование агрегации тромбоцитов показало, что разработанный новый методический подход по выявлению высокой остаточной реактивности тромбоцитов позволил определить наличие высокого риска развития атеротромботических осложнений дополнительно у 22% обследованных пациентов по сравнению со стандартной методикой.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мирзаев К.Б., Андреев Д.А., Сычев Д.А. Оценка агрегации тромбоцитов в клинической практике. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2015; 11 (1): 85–91. DOI: 10.20996/1819-6446-2015-11-1-85-91.
2. Stone G.W., Witzencbichler B., Weisz G., Rinaldi M.J., Neumann F.-J., Metzger D.C. et al. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet*. 2013; 382 (9892): 614–623. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61170-8.
3. Трубачева О.А., Суслова Т.Е., Кологривова И.В., Гусакова А.М., Павлюкова Е.Н., Шнайдер О.Л., Петрова И.В. Способ определения резистентности тромбоцитов к антиагрегатным препаратам у пациентов с ишемической болезнью сердца. Патент России RU 2686700 C1. Оpubл. 30.04.2019.
4. Завадовский К.В., Гуля М.О., Саушкин В.В., Саушкина Ю.В., Лишманов Ю.Б. Совмещенная однофотонная эмиссионная и рентгеновская компьютерная томография сердца: методические аспекты. *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2016; 97 (4): 235–242. DOI: 10.20862/0042-4676-2016-97-4-8-15.
5. Udell J.A., Bonaca M.P., Collet J.-P., Lincoff A.M., Kereiakes D.J., Costa F. et al. Long-term dual antiplatelet therapy for secondary prevention of cardiovascular events in the subgroup of patients with previous myocardial infarction: a collaborative meta-analysis of randomized trials. *European Heart Journal*. 2016; 37 (4): 390–399. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv443.
6. Aradi D., Storey R.F., Komocsi A., Trenk D., Gulba D., Kiss R.G. et al. Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *European Heart Journal*. 2014; 35 (4): 209–215. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv375.
7. Jastrzebska M., Marcinowska Z., Oledzki S. et al. Variable gender-dependent platelet responses to combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary-artery disease. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018; 69 (4): 595–605. DOI: 10.26402/jpp.2018.4.10.
8. Бакунович А.В., Буланова К.Я., Лобанок Л.М. Молекулярные механизмы агрегации тромбоцитов. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2017; 4: 40–51.

## Вклад авторов

Трубачева О.А., Гусакова А.М., Кологривова И.В. – разработка концепции и дизайна, выполнение экспериментальной части исследования, интерпретация и анализ данных, написание рукописи. Суслова Т.Е., Завадовский К.В., Петрова И.В. – проверка интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации. Шнайдер О.Л. – опрос и подбор пациентов, проведение необходимого перечня обследований.

## Сведения об авторах

**Трубачева Оксана Александровна**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1253-3352.

**Суслова Татьяна Евгеньевна**, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9645-6720.

**Гусакова Анна Михайловна**, канд. фармацевт. наук, науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-3147-3025.

**Кологривова Ирина Вячеславовна**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4537-0008.

**Шнайдер Ольга Леонидовна**, врач-кардиолог, отделение атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск.

**Завадовский Константин Валерьевич**, д-р мед. наук, зав. лабораторией радионуклидных методов исследования, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1513-8614.

**Петрова Ирина Викторовна**, д-р биол. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9034-4226.

(✉) Труба́чева Оксана Александровна, e-mail: otrubacheva@inbox.ru

Поступила в редакцию 06.04.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Роль позитронной эмиссионной и компьютерной томографии с $^{18}\text{F}$ -флуоро-2-дезоксид-глюкозой в оценке эффективности терапии и прогнозе лимфом

Чанчикова Н.Г.<sup>1</sup>, Чернов В.И.<sup>2,3</sup>, Дудникова Е.А.<sup>2</sup>, Карлова Е.А.<sup>1</sup>,  
Савельева А.С.<sup>1</sup>, Силкина О.А.<sup>1</sup>, Зельчан Р.В.<sup>2,3</sup>, Брагина О.Д.<sup>2,3</sup>,  
Медведева А.А.<sup>2</sup>, Березнеева Е.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства (ФСНКЦ ФМБА)

Россия, 660037, г. Красноярск, ул. Коломенская, 26, а/я 6213

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>3</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)

Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Определение диагностической значимости позитронной эмиссионной и компьютерной томографии (ПЭТ/КТ) с меченной  $^{18}\text{F}$ -флуоро-2-дезоксид-глюкозой ( $^{18}\text{F}$ -ФДГ) в оценке эффективности и прогнозе лечения лимфом.

**Материалы и методы.** Проанализированы ретроспективные данные ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ 30 человек со злокачественными лимфомами: до лечения (ПЭТ1), через два курса (ПЭТ2) и после завершения полихимиотерапии (ПЭТ3).

**Результаты.** При анализе результатов ПЭТ2 полный метаболический ответ на два курса химиотерапии (ПЭТ2–) наблюдался у 21 (70%) пациента. У 9 пациентов через два цикла химиотерапии были установлены: частичный метаболический ответ (6 человек), отсутствие метаболического ответа (2 человека) или метаболическое прогрессирование (1 человек). Эти больные составили группу ПЭТ2+.

После окончания химиотерапии полный метаболический ответ (ПЭТ3–) был диагностирован у 26 (87%) пациентов. Такой эффект был достигнут у 21 (100%) больного с ПЭТ2– и 5 (66%) человек с ПЭТ2+. Из 9 пациентов группы ПЭТ2+ у 4 (44%) пациентов после завершения химиотерапии был диагностирован частичный метаболический ответ или его отсутствие. Дальнейшее наблюдение за этими пациентами показало, что в двух случаях было диагностировано прогрессирование, а у 2 больных последующее лечение привело к полной ремиссии.

При двухлетнем наблюдении за пациентами обнаружено, что ремиссия наблюдалась у 20 (67%) пациентов. Анализ результатов ПЭТ2 показал, что при ПЭТ2+ рецидив заболевания наблюдался в 6 (67%) случаях, ремиссия – в 3 (33%). В то время как при ПЭТ2– рецидив диагностирован у 4 (19%) человек, ремиссия установлена у 17 (81%).

**Заключение.** ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ, выполненная на ранних этапах химиотерапии, позволяет предсказать эффект лечения у пациентов со злокачественными лимфомами. Метод показан к широкому использованию в клинической практике на этапах терапии этой патологии.

**Ключевые слова:** лимфома Ходжкина, Неходжкинские лимфомы, компьютерная томография, позитронная эмиссионная томография, мониторинг терапии лимфом, прогноз терапии лимфом.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № 075-15-2019-1925, Постановление Правительства РФ 220.2019).

**Для цитирования:** Чанчикова Н.Г., Чернов В.И., Дудникова Е.А., Карлова Е.А., Савельева А.С., Силкина О.А., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Медведева А.А., Березнеева Е.В. Роль позитронной эмиссионной и компьютерной томографии с  $^{18}\text{F}$ -флуоро-2-дезоксид-глюкозой в оценке эффективности терапии и прогнозе лимфом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 120–129. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-120-129>.

## The role of $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT in evaluation of therapy effectiveness and prognosis of lymphomas

Chanchikova N.G.<sup>1</sup>, Chernov V.I.<sup>2,3</sup>, Dudnikova E.A.<sup>2</sup>, Karlova E.A.<sup>1</sup>, Savelyeva A.S.<sup>1</sup>, Silkina O.A.<sup>1</sup>, Zelchan R.V.<sup>2,3</sup>, Bragin O.D.<sup>2,3</sup>, Medvedeva A.A.<sup>2</sup>, Berezneeva E.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Federal Siberian Research Clinical Center, Federal Medical Biological Agency  
PO Box 6213, 26, Kolomenskaya Str., Krasnoyarsk, 660037, Russian Federation

<sup>2</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMCC) Russian Academy of Sciences  
5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

<sup>3</sup> National Research Tomsk Polytechnic University (NR TPU)  
30 Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To determine the diagnostic value of positron emission tomography (PET)/computed tomography (CT) with F-18 fluorodeoxyglucose ( $^{18}\text{F}$ -FDG) for monitoring the effectiveness and prognosis of lymphoma therapy.

**Materials and methods.** Retrospective data of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT (before treatment (PET1), after two cycles (PET2), and after completion of chemotherapy (PET3)) in 30 people with lymphomas were analyzed.

**Results.** A complete metabolic response in PET2 (PET2–) was observed in 21 patients (70%). In 9 patients in PET2–, a partial metabolic response (6 people), lack of metabolic response (2 people), or metabolic progression (1 person) were detected. These patients comprised the PET2+ group.

After chemotherapy, a complete metabolic response (PET3–) was diagnosed in 26 patients (87%). This effect was achieved in 21 patients (100%) with PET2– and in 5 patients (66%) with PET2+. Of the 9 patients in the PET2+ group, in 4 (44%) patients, a partial metabolic response or no metabolic response was diagnosed. Further monitoring of these patients showed that progression was diagnosed in 2 cases, and in 2 patients, further treatment resulted in complete remission.

A two-year follow-up of patients revealed that remission was observed in 20 (67%) patients. The analysis of the results of PET2 showed that a relapse of the disease was observed in 6 (67%) PET2+ patients and remission was noted in 3 (33%) patients. In PET2– patients, a relapse was diagnosed in 4 (19%) persons, and remission was established in 17 (81%) patients.

**Conclusion.** Early PET/CT with  $^{18}\text{F}$ -FDG allows to predict the effect of lymphoma treatment. The method can be recommended for monitoring lymphoma therapy.

**Key words:** Hodgkin's lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma, computed tomography, positron emission tomography, monitoring of lymphoma therapy, prognosis of lymphoma therapy.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Project No. 075-15-2019-1925, Resolution of the Government of the Russian Federation 220.2019).

**For citation:** Chanchikova N.G., Chernov V.I., Dudnikova E.A., Karlova E.A., Savelyeva A.S., Silkina O.A., Zelchan R.V., Bragin O.D., Medvedeva A.A., Berezniceva E.V. The role of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT in evaluation of therapy effectiveness and prognosis of lymphomas. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 120–129. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-120-129>.

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в России доля злокачественных новообразований лимфатической и кровеносной ткани составляет 5% от выявленных за год опухолей у мужчин и 4,6% – у женщин. В 2016 г. в Российской Федерации заболеваемость этой патологией была равна 19,58 на 100 тыс. населения, при этом среднегодовой темп прироста составлял 1,78% [1]. Каждый год лимфопролиферативные процессы становятся причиной смерти 5% пациентов от всех опухолевых заболеваний. Лимфома Ходжкина (ЛХ) является наиболее распространенной среди лимфопролиферативных заболеваний (30%). Из Неходжкинских лимфом (НХЛ) наиболее часто диагностируется диффузная В-крупноклеточная лимфома и фолликулярная лимфома (33 и 22% соответственно). Частота встречаемости других типов лимфом – менее 10% [1].

Мониторинг эффективности лечения лимфом, как правило, выполняют с помощью динамической оценки размера опухоли с использованием методов анатомической визуализации, чаще всего компьютерной томографии (КТ). В то же время КТ не является оптимальной для этой цели. Так, после завершения терапии более чем у 60% больных ЛХ и 40% пациентов с агрессивными НХЛ по данным КТ визуализируется остаточная опухолевая масса, в которой могут содержаться участки фиброза и некроза, а также опухолевые клетки [2]. При этом КТ не может дифференцировать жизнеспособную опухолевую массу от остаточной рубцовой ткани. Кроме того, анатомические методы визуализации, как правило, не позволяют определить ответ опухоли на ранних стадиях лечения, поскольку уменьшение объема новообразования требует времени [3].

В связи с изложенным растет интерес к новым методам диагностики лимфопролиферативных заболеваний. В полной мере это относится к позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) с меченной  $^{18}\text{F}$ -флуоро-2-дезоксид-глюкозой ( $^{18}\text{F}$ -ФДГ) [4, 5] и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) с  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -1-тио-Д-глюкозой [6–8]. Данные современных исследований показывают высокую эффективность и подтверждают прогностическую значимость методов ядерной медицины, позволяющих определять степень распространенно-

сти лимфом, а также оценивать эффективность проводимой терапии и определять наличие либо отсутствие показаний для проведения лучевой терапии. Так, согласно литературным данным, ПЭТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ дает возможность визуализировать повышенную метаболическую активность у 30–64% пациентов с остаточным опухолевым объемом после завершения терапии [4]. Наличие таких гиперметаболических образований в 62–100% случаев сопровождается рецидивом после первой линии химиотерапии [9].

Следует отметить, что широкое применение ПЭТ в Российской Федерации в настоящее время ограничено в связи с высокой стоимостью процедуры и недостаточным числом ПЭТ-центров, которые располагаются в основном в европейской части страны. Учитывая высокую эффективность и востребованность этого метода, в последние годы в восточной части России были построены современные центры ПЭТ, в их числе – Центр ядерной медицины ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России в г. Красноярске. Открытие этого центра сделало доступной высокотехнологичную диагностическую помощь для жителей Сибирского федерального округа.

Целью настоящего исследования явилось определение диагностической значимости позитронной эмиссионной и компьютерной томографии (ПЭТ/КТ) с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ в оценке эффективности и прогнозе лечения лимфом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы ретроспективные данные ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ 30 человек со злокачественными лимфомами: до лечения (ПЭТ1), через два курса (ПЭТ2) и после завершения (6–8 циклов) полихимиотерапии (ПЭТ3). При этом ПЭТ2 проводили перед введением третьего цикла химиотерапии, а ПЭТ3 – через 2 нед после введения последней дозы. В 12 случаях выполнялась дополнительная ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ (ПЭТ4) на этапах динамического наблюдения за пациентами (6–12 мес после завершения лечения). Обследование выполнялось в г. Красноярске, в Центре ядерной медицины ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России с 2015 по 2017 г.

В исследовании приняли участие 13 мужчин и 17 женщин 19–74 лет (средний возраст 42 года). Всем пациентам проводили иммуногистохимическое исследование, по данным которого у 12 чело-

век была диагностирована ЛХ, а у оставшихся 18 – агрессивные НХЛ: диффузная В-крупноклеточная лимфома (11 случаев) и фолликулярная лимфома (7 случаев). В соответствии с данными исходных клинико-инструментальных исследований (клинический осмотр, КТ, магнитно-резонансная томография (МРТ), ультразвуковое исследование (УЗИ), биопсия костного мозга) I стадия заболевания была выставлена 3 (10%) пациентам, II – 8 (27%), III – 8 (27 %) и IV – 11 (36%) пациентам.

Референтными методами верификации полученных результатов были гистологическое исследование или, при невозможности его выполнения, длительное (не менее 1 года) клиническое наблюдение за пациентом с чередой контрольных инструментальных исследований (КТ, МРТ, УЗИ, ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ).

Большинство пациентов получали лечение по схеме R-CHOP (14 пациентов) (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизолон). У 9 больных использовали схему BEACOPP (блеомицин, этопозид, доксорубицин, циклофосфамид, винкристин, прокарбазин, преднизолон), у 4 – RB (ритуксимаб, бендамустин), 3 – ABVD (адриамицин, блеомицин, винбластин и дакарбазин).

Традиционные методы оценки эффективности лечения включали: тщательный осмотр пациента, лабораторные исследования и компьютерную томографию органов грудной стенки и брюшной полости. Такая оценка проводилась после 2–3 циклов химиотерапии и после завершения всей программы лечения. В соответствии с «Клиническими рекомендациями по диагностике и лечению лимфоопролиферативных заболеваний» [10] состояние пациента оценивалась как полная ремиссия (ПР), неуверенная полная ремиссия (ПРН), частичная ремиссия (ЧР), стабилизация (Ст), рецидив (после ПР) или прогрессирование (после ЧР или Ст).

Процедуру ПЭТ выполняли в режиме whole body (от уровня глазниц до средней трети бедра) с одновременным низкодозным КТ-сканированием для коррекции аттенуации. Исследование осуществляли на ПЭТ/КТ сканере Discovery PET/CT 600. Прием пищи допускался не позднее, чем за 6 ч до проведения исследования. Внутривенно выполняли введение радиофармпрепарата (РФП)  $^{18}\text{F}$ -ФДГ в дозе 300–550 МБк, а спустя 60–90 мин осуществляли сканирование. При помощи стандартных программ проводили реконструкцию полученных изображений. Результаты всех исследований интерпретировали и анализировали специалисты по радиологии и рентгенологии.

Результаты ПЭТ2 и ПЭТ3 расценивали: как полный метаболический ответ (1, 2 и 3 балла по пяти-

балльной шкале Довиль в лимфатических узлах или экстранодальных участках с остаточной массой опухоли или без нее); частичный метаболический ответ (4 или 5 баллов по шкале Довиль с визуально уменьшенным поглощением РФП по сравнению с исходным уровнем и остаточной массой опухоли любого размера); отсутствие метаболического ответа (4 или 5 баллов по шкале Довиль без значительного изменения поглощения по сравнению с исходным уровнем) и метаболическое прогрессирование (4 или 5 баллов по шкале Довиль с увеличением поглощения РФП по сравнению с исходным уровнем и (или) появлением метаболически активных новых очагов, связанных с лимфомой) [11].

Для изучения прогностической значимости результатов обследования пациентов на этапах лечения в качестве конечной точки была выбрана выживаемость без прогрессирования (ВБП) – время от постановки диагноза до первых признаков прогрессирования или рецидива или до смерти, связанной с заболеванием. Кривые выживания были получены с использованием метода Каплана – Мейера. Различия между группами были проанализированы с использованием лог-рангового теста.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно референтным методам верификации, у 30 больных злокачественными лимфомами был обнаружен 191 лимфатический узел, вовлеченный в патологический процесс. Чаще всего имело место поражение шейных (21%), над- и подключичных (20%), медиастинальных (13%), аксиллярных (10%) и бронхопульмональных (10%) лимфатических узлов. Реже диагностировали изменения мезентериальных (6%), паховых (6%) и парааортальных (5%) узлов.

По данным ПЭТ/КТ, патологическое включение  $^{18}\text{F}$ -ФДГ в лимфатические узлы наблюдали у всех вошедших в исследование пациентов. Гиперметаболическими оказались 169 (88%) из 191 пораженного узла. Метод ПЭТ/КТ оказался наиболее эффективен при диагностике состояния подвздошных, медиастинальных, мезентериальных и паховых лимфатических узлов, когда его чувствительность превышала 90%.

У 16 пациентов с помощью референтных методов верификации были диагностированы 33 экстранодальных очага поражения. Чаще всего имела место диссеминация злокачественных лимфом в легкие (10 человек), селезенку (11 пациентов) и красный костный мозг (7 больных), в единичных случаях – в печень и мягкие ткани.

По данным ПЭТ/КТ, патологическое включение  $^{18}\text{F}$ -ФДГ наблюдали в 30 (91%) из 33 экстранодаль-

ных очагов. Метод ПЭТ/КТ оказался наиболее эффективен при диагностике состояния красного костного мозга, мягких тканей, легких и селезенки, когда его чувствительность составляла 90% и более. При оценке состояния печени удалось визуализировать два патологических очага из трех.

При анализе результатов ПЭТ2 полный метаболический ответ на два курса химиотерапии (ПЭТ2–) наблюдался у 21 (70%) пациента: у 9 (75%) боль-

ных ЛХ и 12 (67%) пациентов с НХЛ (рис. 1). В этой группе больных чаще встречались пациенты с ранними стадиями лимфом (I–II стадии) – 9 (82%) из 11 и лица без признаков экстранодального поражения 11 (79%) из 14. При III–IV стадиях лимфом и наличии распространения злокачественного процесса экстранодально ПЭТ2– имела место у 12 (63%) и 10 (62%) пациентов соответственно (табл. 1).

Таблица 1

| Ранняя ПЭТ/КТ с <sup>18</sup> F-ФДГ (ПЭТ2) и результаты ПЭТ/КТ с <sup>18</sup> F-ФДГ после окончания химиотерапии (ПЭТ3) у больных лимфомами |       |       |       |       |          |       |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|
| Пациенты                                                                                                                                     | ЛХ    |       | НХЛ   |       | ЛХ + НХЛ |       | Всего |
|                                                                                                                                              | ПЭТ2– | ПЭТ2+ | ПЭТ2– | ПЭТ2+ | ПЭТ2–    | ПЭТ2+ |       |
| Всего по группе:                                                                                                                             | 9     | 3     | 12    | 6     | 21       | 9     | 30    |
| ПЭТ3–                                                                                                                                        | 9     | 2     | 12    | 3     | 21       | 5     | 26    |
| ПЭТ3+                                                                                                                                        | 0     | 1     | 0     | 3     | 0        | 4     | 4     |
| Ранние стадии (I–II):                                                                                                                        | 3     | 1     | 6     | 1     | 9        | 2     | 11    |
| ПЭТ3–                                                                                                                                        | 3     | 1     | 6     | 0     | 9        | 1     | 10    |
| ПЭТ3+                                                                                                                                        | 0     | 0     | 0     | 1     | 0        | 1     | 1     |
| Распространенные стадии (III–IV):                                                                                                            | 6     | 2     | 6     | 5     | 12       | 7     | 19    |
| ПЭТ3–                                                                                                                                        | 6     | 1     | 6     | 3     | 12       | 4     | 16    |
| ПЭТ3+                                                                                                                                        | 0     | 1     | 0     | 2     | 0        | 3     | 3     |
| Экстранодальное поражение–:                                                                                                                  | 5     | 1     | 6     | 2     | 11       | 3     | 14    |
| ПЭТ3–                                                                                                                                        | 5     | 1     | 6     | 2     | 11       | 3     | 14    |
| ПЭТ3+                                                                                                                                        | 0     | 0     | 0     | 0     | 0        | 0     | 0     |
| Экстранодальное поражение+:                                                                                                                  | 4     | 2     | 6     | 4     | 10       | 6     | 16    |
| ПЭТ3–                                                                                                                                        | 4     | 1     | 6     | 1     | 10       | 2     | 12    |
| ПЭТ3+                                                                                                                                        | 0     | 1     | 0     | 3     | 0        | 4     | 4     |

У 9 пациентов через два цикла химиотерапии были установлены: частичный метаболический ответ (6 человек), отсутствие метаболического ответа (2 человека) или метаболическое прогрессирование (1 человек) (рис. 2). Эти больные составили группу ПЭТ2+. В указанную группу вошли 3 (25%) пациента с ЛХ и 6 (33%) больных НХЛ. Признаки метаболической активности опухоли на промежуточных ПЭТ/КТ сканах наблюдались в 2 (18%) случаях при ранних стадиях лимфом и у 7 (37%) пациентов при распространенных стадиях. Кроме того, положительная промежуточная ПЭТ чаще встречалась при наличии экстранодальных поражений (6 (38%) больных), чем при их отсутствии – 3 (21%) пациента (см. табл. 1).

После окончания химиотерапии полный метаболический ответ (ПЭТ3–) был диагностирован у 26 (87%) пациентов. Такой эффект был достигнут у 21 (100%) больного с ПЭТ2– и у 5 (66%) человек с ПЭТ2+ (рис. 3, см. табл. 1).

Из 9 пациентов группы ПЭТ2+ у 4 (44%) пациентов после завершения химиотерапии был диагностирован частичный метаболический ответ (3 человека) или отсутствие метаболического ответа (1 человек)

(см. рис. 1, табл. 1). Дальнейшее наблюдение за этими пациентами показало, что в 2 случаях было диагностировано прогрессирование, а у 2 больных дальнейшее лечение привело к полной ремиссии.

При двухлетнем наблюдении за пациентами было обнаружено, что ремиссия наблюдалась у 20 (67%) пациентов (полная ремиссия у 15 человек, неустойчивая полная ремиссия у 5 больных). В группу «ремиссия» вошли 10 (83%) пациентов с ЛХ и 10 (56%) с НХЛ. Группу «рецидив» составили 10 (40%) случаев, при этом у 6 пациентов был установлен рецидив заболевания, у 4 – прогрессирование (рис. 4, 5, табл. 2). Чаще рецидив или прогрессирование наблюдалось при НХЛ – 8 (56%) случаев, реже – при ЛХ, у 2 (17%) пациентов (рис. 6, см. табл. 2). Пациенты с ранними стадиями лимфом чаще, чем больные с распространенными стадиями, попадали в группу «ремиссия» – 72 и 63% соответственно. Следует также отметить, что ремиссия чаще наблюдалась у больных с отсутствием экстранодальных поражений (76%), чем у лиц с распространением патологического процесса экстранодально (56%) (см. табл. 2).

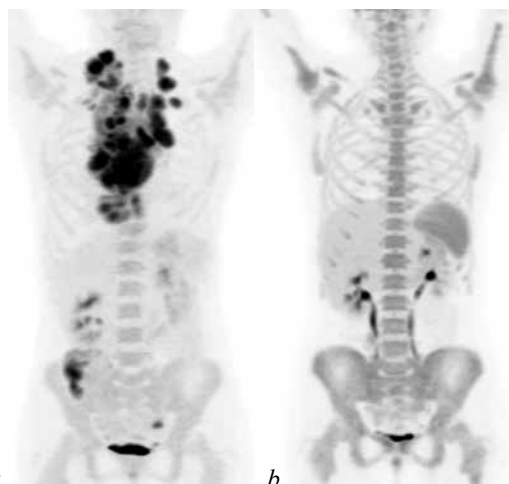


Рис. 1. Больная Т., 25 лет. Диагноз: лимфома Ходжкина: *a* – ПЭТ1 (признаки лимфопролиферативного заболевания с множественным метаболически активным поражением лимфатических узлов переднего и заднего средостения, шейных, над- и подключичных, бронхопульмональных, внутрибрюшных); *b* – ПЭТ2 (полная метаболическая регрессия)

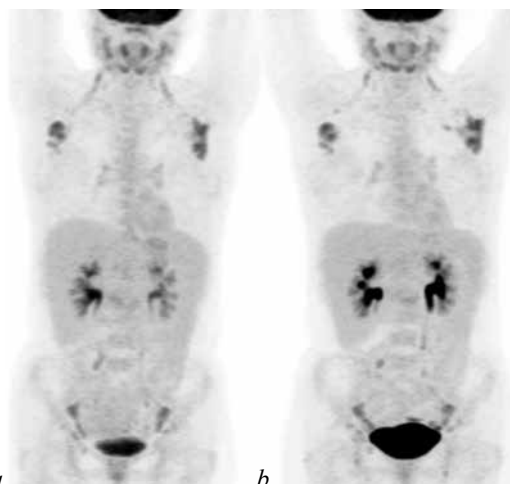


Рис. 2. Больная Ц., 38 лет. Диагноз: лимфома Ходжкина, нодулярный склероз: *a* – ПЭТ1 (признаки лимфопролиферативного заболевания с метаболически активным поражением шейных, подмышечных, подвздошных и паховых лимфатических узлов); *b* – ПЭТ2 (по сравнению с ПЭТ1 – без динамики)

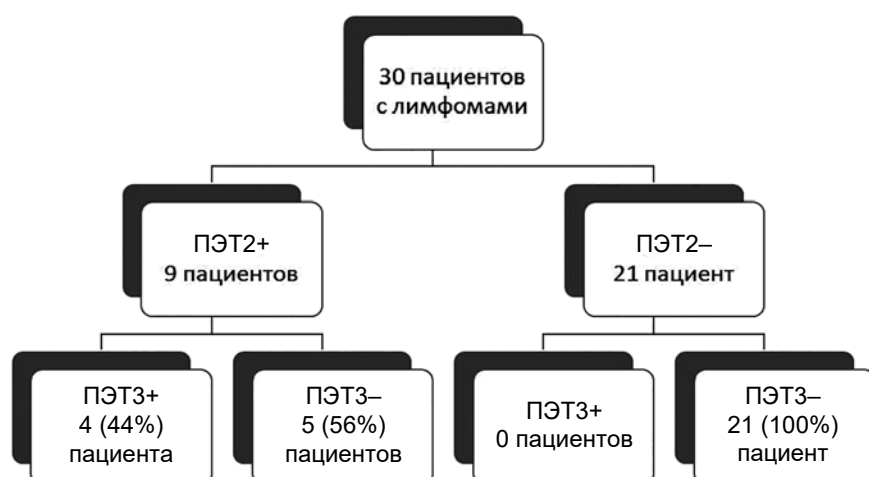


Рис. 3. Результаты ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ после окончания химиотерапии лимфом в группах ПЭТ2+ и ПЭТ2–



Рис. 4. Результаты долгосрочного наблюдения за группами ПЭТ2+ и ПЭТ2–

Таблица 2

| Ранняя ПЭТ/КТ с $^{18}\text{F}$ -ФДГ (ПЭТ2) и отдаленный прогноз у больных лимфомами |       |       |       |       |        |       |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| Пациенты                                                                             | ЛХ    |       | НХЛ   |       | ЛХ+НХЛ |       | Всего |
|                                                                                      | ПЭТ2– | ПЭТ2+ | ПЭТ2– | ПЭТ2+ | ПЭТ2–  | ПЭТ2+ |       |
| Всего по группе:                                                                     | 9     | 3     | 12    | 6     | 21     | 9     | 30    |
| ремиссия                                                                             | 9     | 1     | 8     | 2     | 17     | 3     | 20    |
| рецидив                                                                              | 0     | 2     | 4     | 4     | 4      | 6     | 10    |
| Ранние стадии (I–II):                                                                | 3     | 1     | 6     | 1     | 9      | 2     | 11    |
| ремиссия                                                                             | 3     | 0     | 4     | 1     | 7      | 1     | 8     |
| рецидив                                                                              | 0     | 1     | 2     | 0     | 2      | 1     | 3     |
| Распространенные стадии (III–IV):                                                    | 6     | 2     | 6     | 5     | 12     | 7     | 19    |
| ремиссия                                                                             | 6     | 1     | 4     | 1     | 10     | 2     | 12    |
| рецидив                                                                              | 0     | 1     | 2     | 4     | 2      | 5     | 7     |
| Экстранодальное поражение–:                                                          | 5     | 1     | 6     | 2     | 11     | 3     | 14    |
| ремиссия                                                                             | 4     | 1     | 5     | 1     | 9      | 2     | 11    |
| рецидив                                                                              | 1     | 0     | 1     | 1     | 2      | 1     | 3     |
| Экстранодальное поражение+:                                                          | 4     | 2     | 6     | 4     | 10     | 6     | 16    |
| ремиссия                                                                             | 3     | 0     | 4     | 2     | 7      | 2     | 9     |
| рецидив                                                                              | 1     | 2     | 2     | 2     | 3      | 4     | 7     |

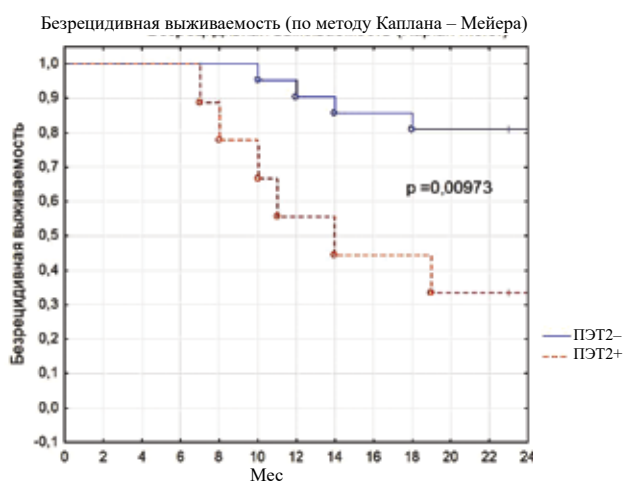


Рис. 5. Двухлетняя безрецидивная выживаемость у пациентов с лимфомами с наличием (ПЭТ2–) и отсутствием (ПЭТ2+) метаболического ответа на два курса химиотерапии

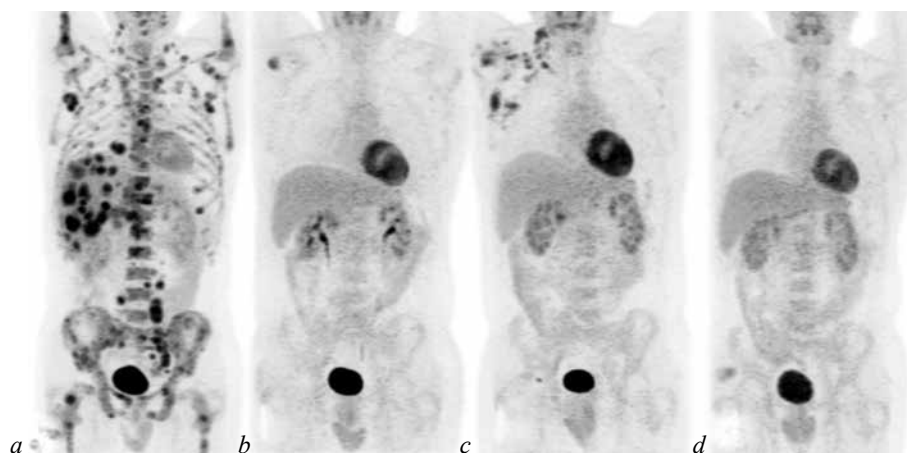


Рис. 6. Больной К., 31 год. Диагноз «Лимфома Ходжкина с поражением периферических лимфоузлов, кожи»: *a* – ПЭТ1 (признаки лимфопролиферативного заболевания с множественным метаболически активным поражением печени, лимфатических узлов выше и ниже диафрагмы, костного мозга); *b* – ПЭТ2 (признаки лимфопролиферативного заболевания с метаболически активным поражением акромиального отростка правой лопатки; по сравнению с ПЭТ1 – положительная динамика); *c* – ПЭТ3 (метаболическая активность в шейных, надключичных и подмышечных лимфатических узлах справа, единичном паховом лимфатическом узле справа, в акромиальном отростке правой лопатки; по сравнению с ПЭТ2 – отрицательная динамика); *d* – ПЭТ4 (метаболическая активность РФП в единичных подмышечных лимфатических узлах справа, расценена как проявление основного заболевания; по сравнению с ПЭТ3 – положительная динамика)

Анализ результатов ПЭТ2 показал, что при ПЭТ2+ рецидив заболевания наблюдался в 6 (67%) случаях, а ремиссия – в 3 (33%). В то время как при ПЭТ2– имела место обратная закономерность: у 4 (19%) человек был диагностирован рецидив и у 17 (81%) – установлена ремиссия (см. рис. 4, 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования подтверждают мировой опыт применения ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ. При лимфомах метаболическая активность опухоли меняется довольно быстро после начала лечения, еще до того, как обнаруживается изменение размера опухоли [12]. Во многих исследованиях показано, что ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ, выполненная на ранних этапах проведения химиотерапии (промежуточная ПЭТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ) позволяет предсказать эффективность лечения. В свою очередь, такая стратификация пациентов дает возможность персонализировать стратегию лечения и положительно влияет на исход заболевания [13]. У пациентов с лимфомой промежуточная ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ обычно проводится после завершения 1–4 курсов химиотерапии (чаще двух) из 6–8 запланированных циклов лечения.

Промежуточная ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ позволяет дифференцировать пациентов с благоприятным течением лимфомы, которым достаточно выполнения стандартной терапии, и больных высокого риска, которым требуется более интенсивное лечение с применением высокодозных режимов химиотерапии. Метод хорошо зарекомендовал себя в определении чувствительности опухолевой ткани к химиотерапии, особенно у пациентов с распространенной стадией заболевания и неблагоприятным вариантом течения лимфопролиферативного процесса, которым может понадобиться выполнение дополнительной лучевой терапии [14]. Кроме того, у больных низкого риска промежуточная ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ позволяет уменьшить побочные эффекты и ненужную токсичность, связанную с лечением, давая возможность выбрать наиболее щадящие протоколы и сократить количество курсов. Согласно рекомендациям ESMO, у пациентов с ЛХ [15] промежуточная ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ уже после проведения 1–2 циклов химиотерапии может выделить группу с высокой вероятностью достижения полного метаболического ответа после завершения лечения и отсутствием показаний к консолидирующей лучевой терапии [13]. На более поздних стадиях заболевания указанный метод применяется с целью выявления лиц, нуждающихся в изменении режима химиотерапии.

В исследовании J. Radford и соавт. [13], выполненном на основе анализа результатов ПЭТ/КТ с

$^{18}\text{F}$ -ФДГ у 602 пациентов с ранней стадией ЛХ, получавших химиотерапию по схеме ABVD, было показано, что если после проведения трех курсов не выявляется метаболическая активность в опухолевых очагах, то в дальнейшей лучевой терапии нет необходимости. При этом ВБП остается неизменным. Ретроспективное исследование 260 пациентов с ЛХ, получавших терапию в режиме ABVD, подтвердило прогностическую роль промежуточной ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ с использованием критериев Довиля для прогнозирования ответа на лечение [16].

В другом исследовании наблюдение за больными с распространенной стадией ЛХ было отмечено, что полный метаболический ответ опухоли после двух циклов химиотерапии по схеме ABVD имеет высокий уровень отрицательной прогностической значимости (ОПЗ) (94%) и положительной прогностической значимости (ППЗ) (73%) при прогнозировании 3-летней ВБП [17]. Сходные данные были представлены в статье J. Markova и соавт., в которой анализ результатов промежуточной ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ у больных с распространенными стадиями ЛХ после проведения четырех курсов химиотерапии по программе BEACOPP продемонстрировал, что полный метаболический ответ при прогнозировании 4-летней ВБП имеет уровень ОПЗ и ППЗ 98 и 96% соответственно [18]. Помимо высокого прогностического значения для оценки ВБП промежуточный ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ может использоваться для определения показаний к проведению консолидирующей лучевой терапии [18].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ, выполненная на ранних этапах проведения химиотерапии, с высокой точностью позволяет предсказать эффект лечения заболевания у пациентов со злокачественными лимфомами. Метод показан к широкому использованию в клинической практике на этапах терапии этой патологии.

## ЛИТЕРАТУРА

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018: 250.
- Рукавицын О.А. Гематология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015: 776.
- Zucca E., Copie-Bergman C., Ricardi U., Thieblemont C., Raderer M., Ladetto M. Gastric marginal zone lymphoma of MALT type: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2013; 24: 144–148. DOI: 10.1093/annonc/mdt343.
- Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синил-

- кин И.Г., Брагина О.Д., Попова Н.О., Гольдберг А.В. Позитронная эмиссионная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2018; 63 (6): 41–50. DOI: 10.12737/article\_5c0b8d72a8bb98.40545646.
5. Чанчикова Н.Г., Дудникова Е.А., Карлова Е.А., Савельева А.С., Силкина О.А., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Медведева А.А., Чернов В.И. Возможности ПЭТ/КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ в диагностике и стадировании лимфом. *Вопросы онкологии*. 2019; 65 (1): 147–153. DOI: 10.37469/0507-3758-2019-65-1-147-153.
6. Chernov V.I., Dudnikova E.A., Zelchan R.V., Kravchuk T.L., Danilova A.V., Medvedeva A.A., Sinilkin I.G., Bragina O.D., Goldberg V.E., Goldberg A.V., Frolova I.G. The first experience of using  $^{99\text{mTc}}$ -l-thio-d-glucose for single-photon emission computed tomography imaging of lymphomas. *Siberian Journal of Oncology*. 2018; 17 (4): 81–87. DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-81-87.
7. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Белевич Ю.В., Королева Е.С. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2019; 64 (3): 58–63. DOI: 10.12737/article\_5cf3dfef60b13.90120976.
8. Zelchan R., Chernov V., Medvedeva A., Sinilkin I., Stasyuk E., Rogov A., Il'ina E., Skuridin V., Bragina O. Study of a glucose derivative labeled with technetium-99m as potential radiopharmaceutical for cancer diagnosis EP634. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2016; 43 (1): S466.
9. Sasaki M., Kuwabara Y., Koga H., Nakagawa M., Chen T., Kaneko K., Havashi K., Nakamura K., Masuda K. Clinical impact of whole body FDG-PET on the staging and therapeutic decision making for malignant lymphoma. *Annals of Nuclear Medicine*. 2002; 16 (5): 337–345. DOI: 10.1007/BF02988618.
10. Поддубная И.В., Савченко В.Г. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: МедиаМедика, 2013: 104.
11. Cheson B.D., Fisher R.I., Barrington S.F., Cavalli F., Schwartz L.H., Zucca E., Lister T.F. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *Journal of Clinical Oncology*. 2014; 32 (27): 3059–3068. DOI: 10.1200/JCO.2013.54.8800.
12. Romer W., Hanauske A.R., Ziegler S., Thodtmann R., Weber W., Fuchs C., Enne W., Herz M., Nerl C., Garbrecht M., Schwaiger M. Positron emission tomography in non-Hodgkin's lymphoma: assessment of chemotherapy with fluorodeoxyglucose. *Blood*. 1998; 91 (12): 4464–4471.
13. Radford J., Illidge T., Counsell N., Hancock B., Pettengell R., Johnson P., Wimperis J., Culligan D., Popova B., Smith P., McMillan A., Brownell A., Kruger A., Lister A., Hoskin P., O'Doherty M., Barrington S. Results of a Trial of PET-Directed Therapy for Early-Stage Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2015; 372 (17): 1598–1607. DOI: 10.1056/NEJMoa1408648.
14. Kostakoglu L., Cheson B.D. State-of-the-art research on "Lymphomas: Role of molecular imaging for staging, prognostic evaluation, and treatment response". *Front. Oncol.* 2013; 3: 212. DOI: 10.3389/fonc.2013.00212.
15. Dreyling M., Ghielmini M., Marcus R., Salles G., Vitolo U., Ladetto M., ESMO Guidelines Working Group. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2014; 25 (3): 76–82. DOI: 10.1093/annonc/mdu200.
16. Gallamini A., Barrington S.F., Biggi A., Chauvie S., Kostakoglu L., Gregianin M., Meignan M., Mikhael G.N., Loft A., Zaucha J.M., Seymour J.F., Hofman M.S., Rigacci L., Pulsoni A., Coleman M., Dann E.J., Trentin L., Casasnovas O., Rusconi C., Brice P., Bolis S., Viviani S., Salvi F., Luminari S., Hutchings M. The predictive role of interim positron emission tomography for Hodgkin lymphoma treatment outcome is confirmed using the interpretation criteria of the Deauville five-point scale. *Haematologica*. 2014; 99 (6): 1107–1113. DOI: 10.3324/haematol.2013.103218.
17. Biggi A., Gallamini A., Chauvie S., Hutchings M., Kostakoglu L., Gregianin M., Meignan M., Malkowski B., Hofman M.S., Barrington S.F. International validation study for interim PET in ABVD-treated, advanced-stage Hodgkin lymphoma: interpretation criteria and concordance rate among reviewers. *J. Nucl. Med.* 2013; 54 (5): 683–690. DOI: 10.2967/jnumed.112.110890.
18. Markova J., Kahraman D., Kobe C., Skopalova M., Mocikova H., Klaskova K., Dedekova K., Eich H., Böll B., Dietlein M., Kozak T. Role of  $^{18}\text{F}$ -fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography in early and late therapy assessment of patients with advanced Hodgkin lymphoma treated with bleomycin, etoposide, adriamycin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine and prednisone. *Leuk. Lymphoma*. 2012; 53 (1): 64–70. DOI: 10.3109/10428194.2011.603444.

## Вклад авторов

Чанчикова Н.Г. – окончательное утверждение рукописи для публикации. Чернов В.И. – разработка концепции и дизайна. Дудникова Е.А., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Медведева А.А., Березнieceва Е.В. – анализ и интерпретация данных. Карлова Е.А., Савельева А.С., Силкина О.А. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания.

## Сведения об авторах

Чанчикова Наталья Геннадьевна, врач-радиолог, директор Центра ядерной медицины, ФСНКЦ ФМБА, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-7079-4067.

**Чернов Владимир Иванович**, д-р мед. наук, профессор, зав. отделением радионуклидной диагностики, зам. директора по научной работе и инновационной деятельности, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, зам. директора по научной работе и инновационной деятельности Томского НИМЦ; вед. науч. сотрудник, НИЦ «Онкотераностика», НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-8753-7916.

**Дудникова Екатерина Александровна**, мл. науч. сотрудник, отделение химиотерапии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-8218-8515.

**Карлова Елена Анатольевна**, канд. мед. наук, врач-рентгенолог, Центр ядерной медицины, ФСНКЦ ФМБА, г. Красноярск. ORCID-0000-0002-3179-1381.

**Савельева Анастасия Сергеевна**, врач-рентгенолог, Центр ядерной медицины, ФСНКЦ ФМБА, г. Красноярск. ORCID-0000-0001-7013-1143.

**Силкина Ольга Анатольевна**, радиолог-онколог, Центр ядерной медицины, ФСНКЦ ФМБА, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-5280-943X.

**Зельчан Роман Владимирович**, канд. мед. наук, врач-рентгенолог, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; науч. сотрудник, НИЦ «Онкотераностика», НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4568-1781.

**Брагина Ольга Дмитриевна**, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; науч. сотрудник, НИЦ «Онкотераностика», НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5281-7758.

**Медведева Анна Александровна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-5840-3625.

**Березнеева Екатерина Владимировна**, канд. мед. наук, ассистент, НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3989-493X.

(✉) **Чернов Владимир Иванович**, e-mail: chernov@tnimc.ru

Поступила в редакцию 03.03.2020

Подписана в печать 29.09.2020

УДК 616.348-002.44-092

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-130-138>

## Факторы патогенеза язвенного колита: мейнстрим-2020

**Бикбавова Г.Р., Ливзан М.А., Лозинская М.Ю.**

*Омский государственный медицинский университет (ОмГМУ)*

*Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12*

### РЕЗЮМЕ

Причины возникновения язвенного колита до сих пор неизвестны. Значительные успехи в понимании патогенеза этого заболевания достигнуты в XXI в. и доказывают комплексное участие нарушенного иммунного ответа по отношению к антигенам собственной кишечной микрофлоры у генетически предрасположенных лиц под воздействием определенных факторов внешней среды. Дебют заболевания провоцируется факторами, которые нарушают эпителиальный барьер и изменяют состав микробиоты кишечника, тем самым стимулируя аномальный иммунный ответ. Исследования последних лет открывают как абсолютно новые гипотезы его возникновения и развития, так и подробно расшифровывают уже известные механизмы патогенеза болезни. В представленном обзоре мы сосредоточились на новых концепциях патогенеза язвенного колита – генетических, экологических, барьерных и микробиомных факторах. Подробно представили строение и роль эпителиального барьера, обозначили специфические гены, которые участвуют в регуляции барьерной функции эпителия кишечника при язвенном колите. Поиск литературы, содержащей информацию о соответствующих исследованиях, проводился в системах PubMed и Google Scholar по следующим ключевым словам: язвенный колит, микробиота толстой кишки, барьерная функция, генетическая предрасположенность, предрасполагающие факторы.

**Ключевые слова:** язвенный колит, воспалительные заболевания кишечника, микробиота, патогенез, предрасполагающие факторы, генетическая предрасположенность.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Публикация подготовлена при государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации (грант НШ-2558.2020.7, соглашение № 075-15-2020-036 «Разработка технологии здоровьесбережения коморбидного больного гастроэнтерологического профиля на основе контроля приверженности»).

**Для цитирования:** Бикбавова Г.Р., Ливзан М.А., Лозинская М.Ю. Факторы патогенеза язвенного колита: мейнстрим-2020. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 130–138. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-130-138>.

## Pathogenetic factors of ulcerative colitis: mainstream for 2020

**Bicbavova G.R., Livzan M.A., Lozinskaya M.Yu.**

*Omsk State Medical University*

*12, Lenina Str., Omsk, 644099, Russian Federation*

### ABSTRACT

The causes of ulcerative colitis are still unknown. Scientists made important advances in understanding the pathogenesis of this disease in the 21st century. Complex involvement of an impaired immune response in relation to

antigens of the intestinal microbiota in genetically predisposed individuals under the influence of certain environmental factors was revealed. The factors that disrupt the epithelial barrier and alter the composition of the intestinal microbiota trigger the onset of the disease, thereby stimulating an impaired immune response. Recent studies have discovered completely new hypotheses of its origin and development, gradually interpreting the already known pathogenetic mechanisms of the disease. In this review, we focused on the new concepts in the pathogenesis of ulcerative colitis. We examined genetic, environmental, barrier, and microbial factors. We went into detail on the structure and role of the epithelial barrier, identified specific genes that are involved in the regulation of the intestinal epithelial barrier function in ulcerative colitis. We studied the literature containing information on relevant studies in PubMed and Google Scholar citation systems, using such key words as ulcerative colitis, colon microbiota, barrier function, genetic predisposition, and predisposing factors.

**Key words:** ulcerative colitis, inflammatory bowel disease, microbiota, pathogenesis, predisposing factors, genetic predisposition.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The article was prepared with the state support for the leading scientific schools of the Russian Federation (NSH-2558.2020.7) (agreement No. 075-15-2020-036 of 17.03.2020, “Development of a health-preserving technology for a comorbid gastroenterological patient based on adherence control”).

**For citation:** Bichavova G.R., Livzan M.A., Lozinskaya M.Yu. Pathogenetic factors of ulcerative colitis: mainstream for 2020. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 130–138. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-130-138>.

## ВВЕДЕНИЕ

Первое описание язвенного колита (ЯК) представил Сэмюэль Вилкс в 1859 г. под названием «Патологические проявления в кишечнике мисс Бэнкс» в *Medical Times and Gazette*. В 1875 г. он совместно с В. Моксон описал морфологическую картину этого заболевания [1]. Несмотря на многолетнюю историю изучения ЯК, причины его возникновения до сих пор остаются неизвестны. Общепринятая современная концепция развития ЯК состоит в комплексе генетической предрасположенности, дефектов эпителиального барьера, нарушения регуляции иммунных реакций, микробного дисбиоза и факторов окружающей среды [2].

Количество больных воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) увеличивается каждый год и, по прогнозам, к 2025 г. составит 30 млн человек в мире [3, 4]. В России заболеваемость ЯК составляет 2–3 случая на 100 тыс. населения [5]. Высокая заболеваемость ВЗК в экономически развитых странах объясняется совокупностью факторов: улучшением социально-экономических и санитарных условий окружающей среды в современном обществе, изменениями в рационе питания, доступностью проведения эндоскопического исследования, уровнем осведомленности как пациентов, так и врачей о данной нозологии [6]. Эпидемиологические исследования демонстрируют рост заболеваемости ЯК в регионах с ранее низким уровнем, таких как страны Азии,

Южной Америки, где постепенно укореняется западный образ жизни и питания [7].

Огромный интерес у ученых всего мира к изучению ЯК не пропадает уже много лет и требует больших инвестиций. На сегодняшний день достигнут прогресс в понимании этого заболевания, появились новые гипотезы возникновения, поэтапно расшифровываются механизмы патогенеза. Например, доказан защитный эффект аппендэктомии в молодом возрасте, который снижает риск развития заболевания при условии, что операция была выполнена в связи с острым аппендицитом [8]. Или недавнее открытие ассоциации ВЗК с болезнью Паркинсона [9] по результатам метаанализа четырех исследований: риск развития болезни Паркинсона у больных ВЗК был достоверно выше, чем в группе контроля. Причем риск развития болезни Паркинсона у больных ЯК составил 30%, а у пациентов, страдающих болезнью Крона (БК), – 28%.

Исследования последних лет направлены на выявление новых мишеней этиотропного и патогенетического медикаментозного воздействия для повышения эффективности терапии. Вместе с появлением новых методов лечения, а именно применением иммуносупрессивной и биологической терапии, это привело к значительному патоморфозу ЯК. Даже при адекватном лечении у большинства больных заболевание имеет прогрессирующий характер с развитием опасных для жизни осложнений, формированием непрерывно рецидивирующего течения и тотальных форм.

Целью представленного обзора является обобщение данных, которые формируют современное понимание патогенетических механизмов ЯК.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Генетические исследования, включая полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS), полное геномное секвенирование (whole genome sequencing, WGS), а также генетическое картирование, выявили 260 локусов восприимчивости, ассоциированных с ВЗК [10–13]. Условно гены, которые участвуют в развитии ЯК, можно разделить на следующие группы: гены, кодирующие иммунный ответ; гены, кодирующие барьерную функцию кишечника (так называемые барьерные гены); гены, кодирующие количественный и качественный состав микробиоты кишечника. Благодаря обследованию больных современными методами генетической диагностики ученые пришли к следующим выводам.

Во-первых, большинство генетических факторов оказались общими для ЯК и БК [14]. Гены кодируют как врожденные, так и адаптивные иммунные пути, сигнализацию цитокинов и иммунный ответ (например, IL-23-R, IL-12, JAK2, CARD9, TNFSF18 и IL-10). Кроме того, многие гены (70%) связаны с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как анкилозирующий спондилит и псориаз.

Во-вторых, наиболее сильные генетические сигналы в пределах ЯК-специфических локусов связаны с областью человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) в 6-й хромосоме. При проведении генетического картирования описано 16 аллельных ассоциаций HLA (в основном класс II), характерных для ЯК [15]. Известно, что многие ЯК-специфические гены участвуют в регуляции барьерной функции эпителия. Исследования подтверждают, что они ассоциированы с вовлечением толстой кишки при ЯК и БК [16]. Это свидетельствует о ключевой роли aberrантных адаптивных иммунных реакций и дисфункции эпителиального барьера в патогенезе ЯК.

Группой ученых из Бельгии в 2017 г. проведено исследование [17], в котором проанализированы различные компоненты кишечного эпителиального барьера у больных ВЗК с точки зрения генетической предрасположенности. Было отобрано 128 генов, связанных с эпителиальной дисфункцией, из них 25 ассоциированы со слизистым слоем, 34 – с белками плотных контактов, пять – с адгезивными соединениями, 14 – с десмосомами (межклеточные контакты), четыре – с гемидесмосомами (полудесмосомами), 17 – с цитоскелетом, девять – с внеклеточным матриксом и 20 – с белками-регуляторами. Анализ вариантов «барьерных» генов выявил потенциальную роль генов и локусов MUC21, MUC22, GNA12 и HNF4A в возникновении ЯК. В неактивную фазу за-

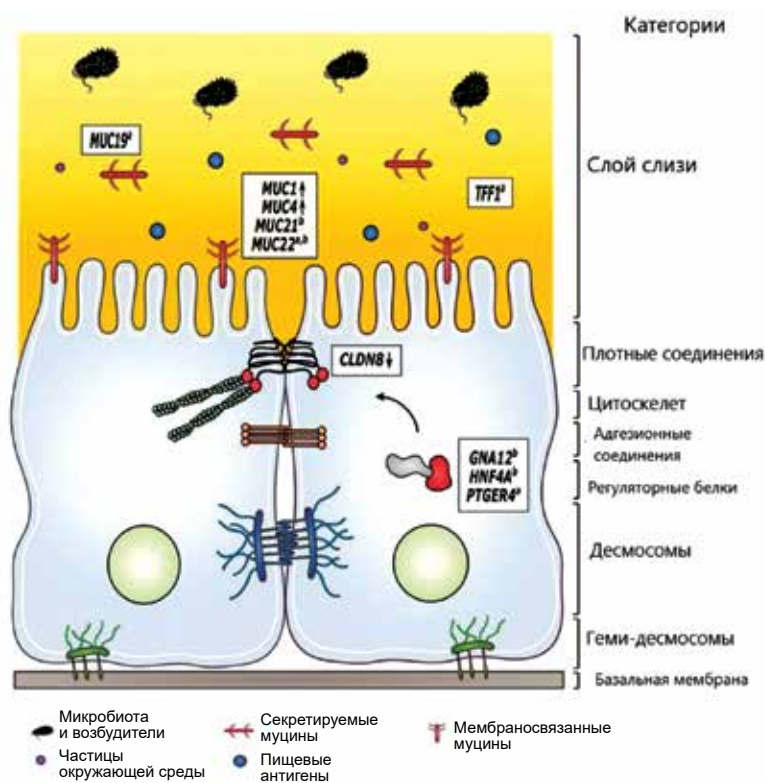


Рисунок. Роль «эпителиальных барьерных генов» в возникновении ВЗК

заболевания обнаружено стойкое изменение экспрессии мембранных белков MUC1 и MUC4 в биоптатах больных ВЗК, что послужило доказательством их решающей роли в рецидиве ВЗК (см. рис.).

Одним из последних значимых открытий стало недавно проведенное полное геномное секвенирование (WGS) у почти 2 тыс. больных ЯК, которое выявило новый и редкий вариант миссенс-мутации (присутствующий в 0,6% случаев) в гене аденилатциклазы 7 (ADCY7), которая увеличивает риск развития ЯК в два раза [18].

В-третьих, несмотря на идентификацию многих локусов восприимчивости, генетика объясняет только 8–19% наследуемости болезни при ВЗК [19], причем БК чаще, чем ЯК. Частота конкордантности среди монозиготных близнецов при ЯК составляет всего 6,3% (по сравнению с почти 60% при БК). В совокупности генетические факторы дают небольшое, но определенное повышение восприимчивости к заболеваемости ЯК. Однако многие больные не имеют генетической предрасположенности, если оценивать их по полигенной шкале риска, учитывающей все локусы восприимчивости [20].

В-четвертых, немаловажную роль в возникновении ЯК играют и негенетические факторы, в частности эпигенетика [21], о которой речь пойдет ниже.

## ЭПИГЕНЕТИКА

Как было указано выше, генетические факторы не объясняют возникновение ЯК у всех больных. Восприимчивость к ВЗК в последние годы дополняется новыми данными об эпигенетическом перепрограммировании. Это механизм, который в ответ на внешние стимулы, такие как питание, психологические стрессы, физические нагрузки, отдает команды генам усилить или, наоборот, ослабить их активность. Таким образом, эпигенетика исследует изменения активности генов, при этом структура ДНК остается прежней. Основными эпигенетическими механизмами, контролирующими экспрессию генов, являются метилирование ДНК, модификация гестонов и некодирующие РНК [22].

Изменение метилирования ДНК в промоутерах генов функционально вовлечено в регуляцию экспрессии генов у пациентов с ВЗК, главным образом с ЯК, это позволило по-новому взглянуть на патогенез данного заболевания. Первые исследования, касающиеся эпигенетики при ВЗК, были посвящены канцерогенезу и развитию неоплазии у этих больных [23]. Доказано, что более высокий уровень метилирования ДНК в генах *AGTR1*, *WNT2* и *SLIT2* связан с повышенным риском развития рака у пациентов с ЯК [24].

Ряд исследований в этой области демонстрирует, что именно «ландшафт» метилирования ДНК в генах

определяет тяжесть и характер течения ВЗК [25, 26]. Эпигенетические изменения коррелируют с клиническими особенностями, исходами ВЗК, такими как протяженность поражения и фенотип заболевания. Например, более высокий уровень метилирования MDR1 был независимо связан с тотальным ЯК, тяжелыми атаками заболевания и молодым возрастом дебюта болезни [27], а более высокий уровень метилирования PAR2 в слизистой оболочке прямой кишки – со стероидозависимым или стероидорефрактерным течением ЯК [28].

Однако убедительных и однозначных данных с позиций доказательной медицины о влиянии эпигенетики на возникновение и характер течения ВЗК пока не получено, поскольку существует множество технических сложностей в воспроизведении последовательностей, неоднородности анализируемой популяции (отличается как техника забора, так и сам исследуемый материал). По тем же причинам проведение метаанализов по данной тематике пока не представляется возможным.

## ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Увеличение количества больных ЯК происходит параллельно с изменением образа жизни [29] и основных подходов к питанию в современном обществе, а именно широким использованием полуфабрикатов, высококалорийной пищи, модификаторов вкуса, животных белков, сахара и рафинированных углеводов, искусственных подсластителей, разнообразных современных технологий приготовления и консервирования пищи, эмульгаторов, недостатком пищевых волокон в рационе [30]. Общая концепция ассоциации ЯК с питанием основана на данных эпидемиологических исследований и обозначается как «вестернизация» диеты.

«Вестернизация» касается также условий и образа жизни в целом: воздействия загрязнения окружающей среды, доступности антибактериальных лекарственных препаратов, уменьшения физической активности [31]. Одной из теорий, объясняющей рост аутоиммунных заболеваний в целом и ЯК в частности, является сформулированная английским эпидемиологом Дэвидом Страчаном «гигиеническая гипотеза» [32]. В рамках этой гипотезы рассматривается возможность формирования чрезмерных иммунных реакций и аутоиммунных заболеваний в результате снижения антигенного воздействия за счет улучшения санитарного состояния окружающей среды, широкого использования антибактериальных препаратов и детергентов.

Было высказано предположение, что стресс может инициировать или вызывать новую атаку ВЗК и явля-

ется потенциальным триггером ЯК [33]. Доказательством этой связи являются многочисленные исследования, которые показали, что стрессовые события в жизни человека могут послужить триггером заболевания [34, 35]. Психологические стрессовые факторы усиливают проницаемость кишечника, ослабляют плотные межклеточные контакты и увеличивают транслокацию бактерий в кишечную стенку.

Наконец, давно известно протективное действие табакокурения на возникновение ЯК: вероятность возникновения ЯК у некурящих выше, чем у курящих лиц. При прекращении табакокурения относительный риск развития ЯК повышается в 4,4 раза [36].

## ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА

Совокупность различных факторов образа жизни в эпоху постиндустриального общества оказывает существенное влияние на микробный пейзаж кишечника и приводит к изменению разнообразия его микробиоты при ЯК. В исследовании, проведенном в США, группа ученых доказала, что под воздействием триггеров, в частности эмульгаторов, уменьшается слой слизистого барьера кишечника, происходит увеличение численности микробиоты с провоспалительной и муколитической активностью, развитие воспаления и появление ВЗК, метаболического синдрома и, возможно, других хронических воспалительных заболеваний [37].

Исследование 2010 г. продемонстрировало существенные различия в микробиоте кишечника у детей, живущих в сельских общинах Буркина-Фасо по сравнению с детьми, живущими в Европе. Микробная кишечная композиция африканских детей была богата *Bacteroides* и бедна *Firmicutes* и *Enterobacteriaceae*, в то время как результаты, полученные от европейских детей, были противоположными [38]. С высокой вероятностью можно предположить, что это связано с пищевыми привычками: в Африке преобладает пища с высоким содержанием клетчатки, а в Европе – традиционная западная диета.

Важной характеристикой микробиоты кишечника каждого человека является ее индивидуальная изменчивость, обусловленная генетической предрасположенностью. На основании молекулярного анализа методом секвенирования 16s-РНК стало известно, что микрофлора толстой кишки представлена четырьмя известными типами бактерий: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и *Proteobacteria*. У взрослых преобладающими являются два типа: *Bacteroidetes* и *Firmicutes* [39].

В 2017 г. были опубликованные данные исследования [40], в котором указывается на уменьшение разнообразия грибкового и бактериального компо-

нента микробиоты больных ВЗК, причем у больных ЯК эти изменения были выражены в большей степени, чем у пациентов, страдающих БК. У больных ЯК отмечается уменьшение доли микроорганизмов с противовоспалительной активностью, синтезирующих короткоцепочечные жирные кислоты, таких как *Firmicutes*, и увеличение доли «патобионтов», к которым относится тип *Proteobacteria*. Внутри филума *Firmicutes* также изменяется пропорция: снижается *Roseburia* и *Faecalibacterium* семейств *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae*, повышается содержание *Ruminococcus gnavus* [41]. Внутри филума *Proteobacteria* отмечается увеличение содержания факультативных анаэробов *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* [42]. Другие исследования демонстрируют увеличение содержания сульфатредуцирующих бактерий *Desulfo vibrio* с избыточным образованием сероводорода, который негативно влияет на пролиферацию, апоптоз и дифференцировку эпителиальных клеток толстой кишки [43].

Помимо бактерий, микробиота толстой кишки состоит из вирусов, грибов и архей, которые также являются важной частью микробной кишечной композиции [44]. До 10% всех анаэробов, населяющих толстую кишку здорового человека, – археи. Исследования показывают их положительное влияние на состояние здоровья человека [45], в то время как ранее выполненные работы демонстрировали их провоспалительное действие за счет стимуляции роста патогенных бактерий [46]. Еще одна часть кишечной микробиоты состоит из вирусов. Количественный и качественный состав виroma также зависит от преобладающих продуктов питания в рационе, места жительства, факторов гигиены и окружающей среды, вида вскармливания в грудном возрасте [47]. У здорового человека бактериофаги персистируют в бактериальных хозяевах, за счет чего сохраняется постоянство внутреннего состояния микробиоты кишечника. Под влиянием факторов окружающей среды у генетически предрасположенных лиц либо в результате объединения эукариотического вируса и клеточного генома макроорганизма происходит активация латентных фагов и вирусов, что приводит к нарушению динамического равновесия микробного пейзажа желудочно-кишечного тракта.

Совокупность факторов агрессии (изменение состава кишечного микробиома, наличие агрессивных кишечных метаболитов) приводит к нарушению проницаемости слизистой оболочки кишки и барьерной функции. Последняя в норме определяется состоянием плотных межклеточных контактов за счет клаудинов, а также количеством и качеством муцина, защищающего эпителий [48]. При появле-

нии дефектов слизистой оболочки в более глубокие слои стенки кишки могут проникать пищевые и бактериальные агенты, которые затем стимулируют развитие воспалительных и иммунных реакций [49].

В последние годы для восстановления микробно-го гомеостаза кишечника у больных ЯК проводится трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ). Исследование, проведенное Р. Моауеди и соавт. [50], показало, что ТФМ индуцирует ремиссию у пациентов с активным ЯК. В общей сложности 70 больным ЯК каждую неделю проводилась ТФМ или водная клизма (плацебо) в течение 6 нед. Частота ремиссии в группе ТФМ была значимо выше по сравнению с группой плацебо (24 против 5% соответственно). Метаанализ 14 когортных и четырех рандомизированных клинических исследований (308 больных ЯК), проведенный S. Costello с соавт. [51], продемонстрировал эффективность в лечении ЯК с частотой клинической ремиссии 28% у пациентов, получавших ТФМ, по сравнению с 9% у пациентов, получавших плацебо. Кроме того, клинический ответ был достигнут у 49% пациентов, получавших ТФМ, по сравнению с 28% пациентов, получавших плацебо.

## ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЙ БАРЬЕР

Ученые сошлись во мнении, что нарушение эпителиального барьера является основой патогенеза ЯК. Учитывая сложную организацию и регуляцию барьера слизистой оболочки кишечника, необходимо определить, какие элементы наиболее важны для патофизиологии ВЗК.

Барьерная функция кишечника обеспечивается комплексом компонентов, сочетающим слизистый, эпителиальный и иммунный (врожденный и адаптивный) барьеры. Слизистая часть барьера толстой кишки представлена двойным слоем. Толстокишечная слизь содержит в более жидком наружном слое большее количество бактерий, чем в более плотном внутреннем слое слизи. Пристеночный слой слизи содержит секреторные иммуноглобулины А, антибактериальные субстанции (дефензины, лизоцим и рибонуклеазы). Слизистый слой обеспечивает первую апикальную линию защиты от просветной среды и образует ситоподобную гелевую структуру, которая предотвращает контакт крупных частиц и бактерий с кишечным эпителием [52].

Благодаря почти непроницаемому поляризованному монослою эпителиальных клеток кишечника образуется второй физический компонент кишечного барьера. Энтероциты, наиболее представленный тип клеток эпителия толстой кишки, связаны между собой межклеточными контактами, представленными белками

ми катенинами, окклюдинами, клаудинами. Плотные межклеточные соединения – это главные привратники эпителиального кишечного барьера, которые могут пропускать ионы и малые молекулы до 20 кДа. Пропускная способность плотных контактов зависит от состояния белков, преимущественно клаудинов [53].

Помимо энтероцитов, эпителий состоит и из других специализированных клеток с широким спектром функций, включая бокаловидные клетки, которые продуцируют гелеобразную слизь; клетки Панета, которые секретируют антимикробные пептиды, укрепляющие иммунный барьер. М-клетки, также входящие в состав эпителия, из просвета полости захватывают микроорганизмы и представляют их дендритным клеткам, которые распознают поглощенное и формируется иммунный ответ [54].

В контексте ЯК происходит нарушение секреции антимикробных пептидов, нарушение плотных межклеточных контактов (т.е. физического компонента барьера) [55]. При активном ЯК ключевые провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа, интерферон гамма и IL-13, оказывают прямое патологическое воздействие на целостность эпителиального барьера [56]. Полногеномный поиск ассоциаций показывает ЯК-специфические гены восприимчивости, которые регулируют эпителиальный барьер, выработку слизи, стабильность мембран и межклеточных контактов. Однако основной механизм пока изучен не до конца.

## МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ

Представляет интерес исследование PROTECT (анализ полного геномного секвенирования 206 детей с коротким анамнезом ЯК), которое продемонстрировало снижение экспрессии генов, кодирующих окислительную цепь фосфорилирования в митохондриях, и полиморфизм гена *PPARGC1A*, который влияет на активацию функции митохондрий. Таким образом, митохондриопатия продемонстрирована как один из возможных механизмов патогенеза ЯК [57]. Роль митохондриальной дисфункции уже ранее обсуждалась в патогенезе этого заболевания [58]. Последние 10 лет исследователи выделяют митохондриопатию как одну из главных и ранее плохо изученных «частей головоломки» в генезе воспаления [59]. Полученные данные за последние 3 года вновь возрождают и подтверждают эту концепцию в патогенезе ЯК [60–62].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном обзоре обобщены актуальные исследования в этиологии и патогенезе ЯК (таблица).

Таблица

| Современные представления об этиологии и патогенезе ЯК |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Показатель                                             | Характеристика                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Генетика                                               | <p>Большинство генетических факторов (67% локусов восприимчивости) являются общими для ЯК и БК.</p> <p>Для ЯК описано 16 аллельных ассоциаций HLA (в основном класс II).</p> <p>Вне области HLA ген <i>ADCY7</i> имеет наиболее сильную ассоциацию с ЯК.</p> <p>ЯК-специфические гены участвуют в регуляции барьерной функции эпителия кишечника.</p> <p>Многие больные не имеют генетической предрасположенности, если оценивать их по полигенной шкале риска, учитывающей все локусы восприимчивости (6,3% у монозиготных близнецов)</p> |
| Факторы внешней среды                                  | <p>«Вестернизация» – городской образ жизни, загрязнение окружающей среды, характер питания, антибиотики, улучшение санитарных условий и меньшее количество инфекций.</p> <p>Курение является защитным фактором от ЯК; отказ от курения часто предшествует появлению ЯК.</p> <p>Аппендэктомия снижает риск развития ЯК при условии, что операция была выполнена в связи с острым аппендицитом в молодом возрасте</p>                                                                                                                        |
| Микро-биота                                            | <p>Уменьшение разнообразия микробиоты кишечника (вирусы, бактерии и грибы).</p> <p>Фекальная микробная трансплантация эффективна в лечении ЯК.</p> <p>Неизвестно, является ли нарушение состава микробиоты следствием или инициатором воспаления.</p> <p>Происходит истощение микробов с противовоспалительной активностью (<i>Ruminococcaceae</i> и <i>Lachnospiraceae</i>) и увеличение микробов с провоспалительной активностью (<i>Enterobacteriaceae</i> и <i>Fusobacteriaceae</i>)</p>                                               |
| Эпители-альный барьер                                  | <p>Нарушение эпителиального барьера – ключевой механизм в патогенезе ЯК.</p> <p>Барьерная функция кишечника обеспечивается комплексом компонентов, сочетающим слизистый, эпителиальный (физический) и иммунный (врожденный и адаптивный) барьеры</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Митохон-дрии                                           | <p>Митохондриопатия – один из механизмов патогенеза ЯК, который приводит к дефекту производства энергии, повышенному окислительному стрессу и высвобождению молекулярных паттернов, связанных с провоспалительным ответом</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

Современный образ жизни у людей с генетической предрасположенностью оказывает существенное влияние на микробный пейзаж кишечника и приводит к изменению разнообразия микробиоты кишечника при ЯК, уменьшению числа резидентной флоры, увеличению числа условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Совокупность факторов агрессии (нарушение состава кишечного микробиома, наличие агрессивных кишечных метаболитов) приводит к нарушению проницаемости слизистой оболочки кишки, нарушается его барьерная функция, которая в норме определяется состоянием плотных межклеточных контактов, а также количеством и качеством муцина, защищающего эпителий. Посредством дефектов слизистой оболочки в более глубокие слои стенки кишки могут проникать пищевые и бактериальные агенты, которые затем стимулируют развитие воспалительных и иммунных реакций [63].

#### ЛИТЕРАТУРА

- Mulder D.J., Noble A.J., Justinich C.J. et al. A tale of two diseases: the history of inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2014; 8 (5): 341–348. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.09.009.
- Ungaro R., Mehandru S., Allen P. et al. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2017; 389 (10080): 1756–1770. DOI: 10.1016/s0140-6736(16)32126-2.
- Kaplan G.G. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2015; 12 (12): 720–727. DOI: 10.1038/nrgastro.2015.150.
- Ramos G., Papadakis K. Mechanisms of disease: inflammatory bowel diseases. *Mayo Clin. Proc.* 2019; 94 (1): 155–165. DOI: 10.1016/j.mayocp.2018.09.013.
- Никитин А.В., Хавкин А.И., Скворцова Т.А., Волюнец Г.В., Атамеева А.О. Сочетание язвенного колита с циррозом печени в исходе первичного склерозирующего холангита. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020; 174 (5): 104–107. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-177-5-104-107.
- Shouval D., Rufo P. The role of environmental factors in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases: are view. *JAMA Pediatrics*. 2017; 171 (10): 999–1005. DOI: 10.1001/jama-pediatrics.2017.2571.
- Ng S. Epidemiology of inflammatory bowel disease: focus on Asia. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2014; 28 (3): 363–372. DOI: 10.1016/j.bpg.2014.04.003.
- Nyboe Andersen N., Gøtz S., Frisch M. et al. Reduce drisk of UC in families affected by appendicitis: a Danish national cohort study. *Gut*. 2017; 66 (8): 1398–1402. DOI: 10.1136/gut-jnl-2015-311131.
- Zhu F., Li C., Gong J. et al. The risk of Parkinson's disease in inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. *Digestive and Liver Disease*. 2019; 51 (1): 38–42. DOI: 10.1016/j.dld.2018.09.017.
- Liu J.Z., van Sommeren S., Huang H. et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. *Nature Genetics*. 2015; 47 (9): 979–986. DOI: 10.1038/ng.3359.
- Luo Y., de Lange K.M., Jostins L. et al. Exploring the genetic architecture of inflammatory bowel disease by whole-genome sequencing identifies association at *ADCY7*. *Nature Genetics*. 2017; 49 (2): 186–192. DOI: 10.1038/ng.3761.
- Huang H., Fang M., Jostins L. et al. Fine-mapping inflammatory bowel disease loci to single-variant resolution. *Nature*. 2017; 547 (7662): 173–178. DOI: 10.1038/nature22969.
- Макейкина М.А., Ливзан М.А. Генетические прогностические факторы течения неспецифического язвенного колита. *Практическая медицина*. 2012; 9 (65): 133–136.

14. Jostins L., Ripke S., Weersma R.K. et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012; 491 (7422): 119–124. DOI: 10.1038/nature11582.
15. Goyette P., Boucher G., Mallon D. et al. High-density mapping of the MHC identifies a shared role for HLA-DRB1\*01:03 in inflammatory bowel diseases and heterozygous advantage in ulcerative colitis. *Nature Genetics*. 2015; 47 (2): 172–179. DOI: 10.1038/ng.3176.
16. Cleynen I., Boucher G., Jostins L. et al. Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: a genetic association study. *Lancet*. 2016; 387 (10014): 156–167. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)00465-1.
17. Vancamelbeke M., Vanuytsel T., Farré R., Verstockt S., Ferrante M., Van Assche G., Rutgeerts P., Schuit F., Vermeire S., Arijis I., Cleynen I. Genetic and transcriptomic basis of intestinal epithelial barrier dysfunction in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2017; 23 (10): 1718–1729. DOI: 10.1097/MIB.0000000000001246.
18. Luo Y., de Lange K.M., Jostins L. et al. Exploring the genetic architecture of inflammatory bowel disease by whole-genome sequencing identifies association at ADCY7. *Nature Genetics*. 2017; 49 (2): 186–192. DOI: 10.1038/ng.3761.
19. Chen G.B., Lee S.H., Brion M.J. et al. Estimation and partitioning of (co)heritability of inflammatory bowel disease from GWAS and immuno chip data. *Human Molecular Genetics*. 2014; 23 (17): 4710–4720. DOI: 10.1093/hmg/ddu174.
20. Lee H.S., Cleynen I. Molecular profiling of inflammatory bowel disease: is it ready for use in clinical decision-making. *Cells*. 2019; 8 (6): e535. DOI: 10.3390/cells8060535.
21. Kalla R., Ventham N.T., Kennedy N.A. MicroRNAs: new players in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2015; 64 (6): 1008. DOI: 10.1136/gut.2014.307891corr1.
22. Ventham N.T., Kennedy N.A., Nimmo E.R. et al. Beyond gene discovery in inflammatory bowel disease: the emerging role of epigenetics. *Gastroenterology*. 2013; 145 (2): 293–308. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.05.050.
23. Azuara D., Aussó S., Rodriguez-Moranta F. et al. New Methylation biomarker panel for early diagnosis of dysplasia or cancer in high-risk inflammatory bowel disease patients. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2018; 24 (12): 2555–2564. DOI: 10.1093/ibd/izy255.
24. Koizumi K., Alonso S., Miyaki Y. et al. Array-based identification of common DNA methylation alterations in ulcerative colitis. *International Journal of Oncology*. 2012; 40 (4): 983–994. DOI: 10.3892/ijo.2011.1283.
25. Häsler R., Feng Z., Bäckdahl L. et al. A functional methylome map of ulcerative colitis. *Genome Research*. 2012; 22 (11): 2130–2137. DOI: 10.1101/gr.138347.112.
26. Cooke J., Zhang H., Greger L. et al. Mucosal genome-wide methylation changes in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2012; 18 (11): 2128–2137. DOI: 10.1002/ibd.22942.
27. Tahara T., Shibata T., Nakamura M. et al. Effect of MDR1 gene promoter methylation in patients with ulcerative colitis. *International Journal of Molecular Medicine*. 2009; 23 (4): 521–527. DOI: 10.3892/ijmm\_00000160.
28. Tahara T., Shibata T., Nakamura M. et al. Promoter methylation of protease-activated receptor (PAR2) is associated with severe clinical phenotypes of ulcerative colitis (UC). *Clinical and Experimental Medical Sciences*. 2009; 9 (2): 125–130. DOI: 10.1007/s10238-008-0025-x.
29. Kaplan G. The global burden of IBD: From 2015 to 2025. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2015; 12: 720–727. DOI: 10.1038/nrgastro.2015.150.
30. Бикбавова Г.Р., Ливзан М.А., Совалкин В.И., Турчанинов Д.В., Лопатина О.Е., Третьякова Т.В., Гордиенко Т.С., Ахрамович А.П. Влияние особенностей современного образа жизни на возникновение язвенного колита. *Архив внутренней медицины*. 2019; 3: 188–194.
31. Kaplan G., Ng S. Understanding and preventing the global increase of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2017; 152 (2): 313–321. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.10.020.
32. Strachan D.P., Taylor E.M., Carpenter R.G. Family structure, neonatal infection, and hayfever in adolescence. *Archives of Disease in Childhood*. 1996; 74 (5): 422–426. DOI: 10.1136/adc.74.5.422.
33. Galley J.D., Nelson M.C., Yu Z., Dowd S.E., Walter J., Kumar P.S. et al. Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. *BMC Microbiology*. 2014; 14: 189. DOI: 10.1186/1471-2180-14-189.
34. Бикбавова Г.Р., Ливзан М.А., Совалкин В.И., Турчанинов Д.В., Ахрамович А.П. Психологический стресс – фактор риска развития язвенного колита? *Доказательная гастроэнтерология*. 2019; 8 (2): 37–42. DOI: 10.17116/dokgastro2019802137.
35. Mukhtar K., Nawaz H., Abid S. Functional gastrointestinal disorders and gut-brain axis: what does the future hold? *World Journal of Gastroenterology*. 2019; 25 (5): 552–566. DOI: 10.3748/wjg.v25.i5.552.
36. Thomas T., Chandan J.S., Li V.S. et al. Global smoking trends in inflammatory bowel disease: A systematic review of inception cohorts. *PLoS One*. 2019; 14 (9): e0221961. DOI: 10.1371/journal.pone.0221961.
37. Chassaing B., Koren O., Goodrich J.K. et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*. 2015; 519 (7541): 92–96. DOI: 10.1038/nature14232.
38. De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M., Ramazzotti M., Poullet J.B., Massart S., Collini S., Pieraccini G., Lionetti P. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from European and Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107 (33): 14691–14696. DOI: 10.1073/pnas.1005963107.
39. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K. S., Manichanh C. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010; 464 (7285): 59–65. DOI: 10.1038/nature08821.
40. Sokol H., Leducq V., Aschard H. et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut*. 2017; 66 (6): 1039–1048. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310746.
41. Gonze D., Coyte K.Z., Lahti L., Faust K. Microbial communities dynamical systems. *Current Opinion in Microbiology*. 2018; 44: 41–49. DOI: 10.1016/j.mib.2018.07.004.

42. Martinez-Medina M., Garcia-Gil L.J. *Escherichia coli* in chronic inflammatory bowel diseases: An update on adherent invasive *Escherichia coli* pathogenicity. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*. 2014; 5 (3): 213–227. DOI: 10.4291/wjgp.v5.i3.213.
43. Anantharaman K., Hausmann B., Jungbluth S.P., Kantor R.S., Lavy A., Warren L.A., Rappe M.S., Pester M., Loy A., Thomas B.C. et al. Expanded diversity of microbial groups that shape the dissimilatory sulfur cycle. *ISME Journal*. 2018; 12 (7): 1715–1728. DOI: 10.1038/s41396-018-0078-0.
44. Tito R.Y., Chaffron S., Caenepeel C. et al. Population-level analysis of Blastocystis subtype prevalence and variation in the human gut microbiota. *Gut*. 2019; 68 (7): 1180–1189. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316106.
45. Borrel G., McCann A., Deane J. et al. Genomics and metagenomics of trimethylamine-utilizing Archaea in the human gut microbiome. *ISME Journal*. 2017; 11 (9): 2059–2074. DOI: 10.1038/ismej.2017.72.
46. Vianna M.E., Conrads G., Gomes B. P.F.A., et al. Identification and quantification of archaea involved in primary endodontic infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44 (4): 1274–1282. DOI: 10.1128/jcm.44.4.1274-1282.2006.
47. Manrique P., Bolduc B., Walk S.T., van der Oost J., deVos W.M., Young M.J. Healthy human gut phageome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016; 113 (37): 10400–10405. DOI: 10.1073/pnas.1601060113.
48. Kriss M., Hazleton K.Z., Nusbacher N.M., Martin C.G., Lopez C.A. Low diversity gut microbiota dysbiosis: drivers, functional implications and recovery. *Current Opinion in Microbiology*. 2018; 44: 34–40. DOI: 10.1016/j.mib.2018.07.003.
49. Nagao-Kitamoto H., Kitamoto S., Kuffa P., Kamada N. Pathogenic role of the gut microbiota in gastrointestinal diseases. *Intest Res*. 2016; 14 (2): 127–138. DOI: 10.5217/ir.2016.14.2.127.
50. Moayyedi P., Surette M.G., Kim P.T., Libertucci J., Wolfe M., Onischi C., Armstrong D., Marshall J.K., Kassam Z., Reinisch W., Lee C.H. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2015; 149 (1): e102–109. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.001.
51. Costello S.P., Soo W., Bryant R.V., Jairath V., Hart A.L., Andrews J.M. Systematic review with meta-analysis: Faecal microbiota transplantation for the induction of remission for active ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2017; 46 (3): 213–224. DOI: 10.1111/apt.14173.
52. Turner J.R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9 (11): 799–809. DOI: 10.1038/nri2653.
53. Vialov S.S. Mucosal permeability disturbances as a pathogenesis factor of gastrointestinal tract functional disorders: rationale and correction possibilities. *Consilium Medicum*. 2018; 20 (12): 99–104. DOI: 10.26442/20751753.2018.12.180062.
54. Мазанкова Л.Н., Рыбальченко О.В., Николаева И.В. Микродисбиоз и эндогенные инфекции: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018: 15–18.
55. Mc Cauley H.A., Guasch G. Three cheers for the goblet cell: maintaining homeostasis in mucosal epithelia. *Trends in Molecular Medicine*. 2015; 21 (8): 492–503. DOI: 10.1016/j.molmed.2015.06.003.
56. Heller F., Fromm A., Gitter A.H. et al. Epithelial apoptosis is a prominent feature of the epithelial barrier disturbance in intestinal inflammation: effect of pro-inflammatory interleukin-13 on epithelial cell function. *Mucosal Immunology*. 2008; 1 (Suppl.): S58–61. DOI: 10.1038/mi.2008.46.
57. Haberman Y., Karns R., Dexheimer P.J. et al. Ulcerative colitis mucosal transcriptomes reveal mitochondriopathy and personalized mechanisms underlying disease severity and treatment response. *Nature Communications*. 2019; 10 (1): 38. DOI: 10.1038/s41467-018-07841-3.
58. Roediger W.E. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy-deficiency disease? *Lancet*. 1980; 2 (8197): 712–715. DOI: 10.1016/s0140-6736(80)91934-0.
59. West A.P., Shadel G.S. Mitochondrial DNA in innate immune responses and inflammatory pathology. *Nature Reviews Immunology*. 2017; 17 (6): 363–375. DOI: 10.1038/nri.2017.21.
60. Novak E.A., Mollen K.P. Mitochondrial dysfunction in inflammatory bowel disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2015; 3: 62. DOI: 10.3389/fcell.2015.00062.
61. Ho G.T., Aird R.E., Liu B. et al. MDR1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes intestinal inflammation. *Mucosal Immunology*. 2018; 11 (1): 120–130. DOI: 10.1038/mi.2017.31.
62. Boyapati R.K., Dorward D.A., Tamborska A. et al. Mitochondrial DNA is a pro-inflammatory damage-associated molecular pattern released during active IBD. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2018; 24 (10): 2113–2122. DOI: 10.1093/ibd/izy095.
63. Gonze D., Coyte K.Z., Lahti L., Faust K. Microbial communities as dynamical systems. *Current Opinion in Microbiology*. 2018; 44: 41–49. DOI: 10.1016/j.mib.2018.07.004.

## Сведения об авторах

**Бикбаева Галия Равильевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии, эндокринологии, ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0001-9252-9152.

**Ливзан Мария Анатольевна**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии и гастроэнтерологии, ректор ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0001-6581-7017.

**Лозинская Мария Юрьевна**, клинический ординатор, ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0001-6811-4045.

(✉) **Бикбаева Галия Равильевна**, e-mail: galiya1976@mail.ru

Поступила в редакцию 07.09.2020

Подписана в печать 21.01.2021

## Молекулярные механизмы оогенеза

Зенкина В.Г.<sup>1</sup>, Солодкова О.А.<sup>1</sup>, Божко Г.Г.<sup>1</sup>, Агибалова А.А.<sup>1</sup>, Зенкин И.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет (ТГМУ)  
Россия, 690950, г. Владивосток, пр. Острякова, 2

<sup>2</sup> Дальневосточный федеральный университет (ДФУ)  
Россия, 690922, г. Владивосток, о. Русский, пос. Аякс, 10

### РЕЗЮМЕ

Обзор литературы посвящен молекулярным механизмам оогенеза и истощения овариального резерва. Одним из аспектов данного процесса является постоянно изменяющаяся среда яичников, как во время внутриутробной закладки, так и постнатальном периоде. Описаны многочисленные механизмы и факторы, влияющие на внутреннюю среду женской гонады, такие как SCF, регулирующий миграцию первичных половых клеток и выживание ранних ооцитов; инсулиноподобный фактор роста I и фактор ингибирования лейкоцитов. Показана возможность эндокринной системы, а именно половых стероидов, которые способны как пополнять количество половых клеток, так и истощать овариальный запас через экспрессию апоптозных маркеров. Апоптоз вызывает дегенерацию большей части образующихся в процессе оогенеза половых клеток. Молекулярные механизмы, факторы, участвующие в данном процессе, многочисленны.

Описаны собственные, опосредованные митохондриями половых клеток и внешние, опосредованные рецепторами клеточной поверхности пути. Установлен посредник между двумя апоптозными путями – белок Bid, активация которого запускает механизм клеточной смерти внутрифолликулярного микроокружения. Определены и некоторые другие факторы, опосредующие запрограммированную гибель половых клеток и, как следствие, приводящие к сокращению овариального резерва: фактор элонгации киназа-2, гены *PUMA* и *NOXA*, отсутствие факторов роста и членов факторов некроза опухоли. Изменения в эпигенетической модификации хроматина в клетках гранулы и половых клетках, окислительный стресс, снижение репаративной способности ДНК и связанное с этим процессом участие генов репарации *BRAC1*, *RAD51*, *ERCC2* и *H2AX* также могут повлиять на репродуктивное здоровье и фолликулярный запас. Особо следует отметить значительную роль в истощении запаса половых клеток митохондриальной дисфункции клеток гранулы, что приводит к нарушению компетентности ооцитов, ухудшает качество гамет и истощает овариальный резерв. Следовательно, оогенез зависит от огромного количества факторов и внутренней среды яичников, владение которыми способно сохранить стабильность репродуктивной функции и качество овариального резерва.

**Ключевые слова:** оогенез, молекулярно-генетические механизмы, фолликулогенез, апоптоз, овариальный резерв.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Зенкина В.Г., Солодкова О.А., Божко Г.Г., Агибалова А.А., Зенкин И.С. Молекулярные механизмы оогенеза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 139–147. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-139-147>.

## Molecular mechanisms of oogenesis

Zenkina V.G.<sup>1</sup>, Solodkova O.A.<sup>1</sup>, Bozhko G.G.<sup>1</sup>, Agibalova A.A.<sup>1</sup>, Zenkin I.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pacific State Medical University

2, Ostryakova Av., Vladivostok, 690950, Russian Federation

<sup>2</sup> Far Eastern Federal University

10, Ayaks, Russky Island, Vladivostok, 690922, Russian Federation

### ABSTRACT

This literature review is devoted to the molecular mechanisms of oogenesis and depletion of the ovarian reserve. One of the factors in this process is constantly changing environment of the ovaries, both during intrauterine development and the postnatal period. Numerous mechanisms and factors affecting the internal environment of the female gonad are described, such as stem cell factor (SCF), which regulates migration of primordial germ cells and survival of early oocytes, insulin-like growth factor I (IGF-I), and leukocyte migration inhibitory factor (LMIF). The capabilities of the endocrine system, namely sex steroids, which can both replenish the number of germ cells and deplete the ovarian reserve through the expression of apoptotic markers, were shown. Apoptosis causes degeneration of most of the germ cells formed during oogenesis. The molecular mechanisms and factors involved in this process are numerous.

Pathways mediated by mitochondria of germ cells and external pathways mediated by receptors of the cell surface were described. A mediator between two apoptotic pathways was established – the Bid protein (BH3-interacting domain death agonist), the activation of which triggers the apoptosis mechanism of the intrafollicular microenvironment. Some other factors were identified that mediate programmed germ cell death and result in diminished ovarian reserve: eukaryotic elongation factor 2 kinase (eEF-2 K), *PUMA* and *NOXA* genes, the absence of growth factors and members of tumor necrosis factor (TNF) family. Changes in the epigenetic modification of chromatin in the follicular and germ cells, oxidative stress, decreased DNA repair, and the involvement of the genes *BRAC1*, *RAD51*, *ERCC2*, and *H2AX* associated with this process can also affect reproductive health and the ovarian reserve. A significant role of mitochondrial dysfunction of follicular cells in depletion of the ovarian reserve is of great interest, which leads to impaired oocyte competence, deteriorates the gamete quality, and depletes the ovarian reserve. Therefore, oogenesis depends on a huge number of factors and the internal environment of the ovaries, the knowledge of which can maintain the stability of the reproductive function and preserve the quality of the ovarian reserve.

**Key words:** oogenesis, molecular genetic mechanisms, folliculogenesis, apoptosis, ovarian reserve.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Zenkina V.G., Solodkova O.A., Bozhko G.G., Agibalova A.A., Zenkin I.S. Molecular mechanisms of oogenesis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 139–147. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-139-147>.

## ВВЕДЕНИЕ

Соотношение между размером фолликулярного резерва яичников и репродуктивной продолжительностью жизни женщины подчеркивает важность понимания регуляторных факторов и процессов, которые определяют его создание [1–4]. Исследования, проведенные на мышах, подробно описывают, некоторые на молекулярном уровне, процессы, участвующие в определении числа оогоний и ооцитов, в то время как наше знание этих процессов в организме человека требует гораздо большего изучения [3, 5].

Особо следует отметить степень изменения числа половых клеток на каждом из этапов, ведущих к созданию резерва яичников. Тем не менее у нас прак-

тически нет понимания причин динамики фолликулогенеза и гибели половых клеток, которые могут быть связаны с характером или сроками триггеров для каждого из этапов оогенеза. Мы не понимаем, почему так много ооцитов образуются, а затем утрачиваются из пререпродуктивной стадии резерва яичников. Например, у женщин лишь 1 из 1 тыс. примордиальных фолликулов при рождении будет созреть до овуляции и производить эстрадиол и прогестерон, необходимый для фертильности во время репродуктивного периода жизни [6].

Представляется, что фетальные ооциты млекопитающих сталкиваются с целым рядом проблем, чтобы выжить на протяжении всех этапов оогенеза, особенно в профазе I мейоза до стадии диплономы

и первоначальной сборки фолликула [7]. В зависимости от периода развития и экспериментальных условий эти ооциты могут подвергаться различным формам запрограммированной клеточной гибели. Мы предполагаем, что они требуют постоянной поддержки факторов роста для выполнения мероприятий, необходимых для преодоления апоптотической гибели во время профазы I. Перед образованием примордиальных фолликулов уменьшение количества питательных веществ или факторов роста может активировать защитную аутофагию, но если голодание затягивается, это может закончиться гибелью.

На самом деле выяснение отношений между сигнальными факторами роста (в основном каспазным каскадом), апоптотических и аутофагических белков, которые, вероятно, сосуществуют в фетальных ооцитах, может быть ключом к пониманию причин гибели этих клеток. Однако недавний прогресс в молекулярных маркерах для профазы первого деления мейоза, а также для ооцитов и стволовых клеток очень помог в идентификации и классификации развивающихся гамет [1, 2, 7]. Подобный прогресс в апоптотических маркерах и многих других путях, имеющих отношение к клеточным функциям яичников, в настоящее время оставляет нас в ожидании существенного и быстрого прогресса в понимании оогенеза. Однако важно понять, как накапливаются отдельные сигналы о локальной клеточной смерти, приводящие к изменению репродуктивной функции на уровне всего организма.

## МЕХАНИЗМЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВЫЖИВАНИЕ ООЦИТОВ: ИЗМЕНЯЮЩАЯСЯ СРЕДА ЯИЧНИКОВ

До настоящего времени неясно, в какой степени баланс индивидуальных решений ооцита продолжать развитие или инициировать клеточную смерть может относиться к локальным эффектам развивающегося соматического клеточного кластера яичников при выживаемости ооцитов (например, эндокринной среде, межклеточной передаче сигналов, внеклеточному матриксу) или к присущим свойствам ооцитов в мейотических преобразованиях (например, ошибки в синапсисе, которые могут задерживать мейотическое прогрессирование или вызывать остановку).

*Паракринные факторы выживания ооцитов.* Ряд паракринных факторов, идентифицированных в яичнике плода человека, может влиять на выживание ооцитов на той или иной стадии [8–10]. Для некоторых паракринных факторов достигнут прогресс в идентификации типа исходных клеток и мест расположения рецепторов. Однако местная среда яич-

ников является сложной и постоянно меняется как в период внутриутробного развития, так и в последующем.

Существует ряд так называемых факторов выживания, без которых погибают клетки зародышевой линии, например фактор стволовых клеток SCF (также известный как kit-лиганд), что является существенным во время миграции первичных половых клеток и для выживания ранних ооцитов [11]. Kit-лиганд был отмечен многочисленными исследованиями в качестве критического регулятора активации первичных фолликулов. Связываясь со своим рецептором, он подает сигналы по нескольким путям, включая активацию ооцитарной фосфотидилинозитол-3-киназы PI3K, которые особенно важны для развития яичников, восстанавливая межкомпарментную связь и уменьшая скорость фолликулярной атрезии.

SCF, а также инсулиноподобный фактор роста I (IGF-1) и фактор ингибирования лейкоцитов поддерживают выживаемость постмигрирующих клеток зародышевой линии. На них накладываются про- и антиапоптотические механизмы и другие пути клеточной смерти, которые функционируют на определенных стадиях [8]. Так, например, у мышей отсутствие сигнализаций комплекса факторов активирует путь смерти Fas в префолликулярных ооцитах [12], а фактор некроза опухоли альфа способствует апоптозу во время образования фолликулов [13, 14].

*Эндокринные факторы выживания ооцитов.* Внутри яйценосных шаров межооцитарная коммуникация опосредуется через цитоплазматические мостики, но после распада данного образования межфолликулярная коммуникация может продолжаться, например, через молекулы, вырабатываемые клетками гранулезы [14]. Развивающийся яичник также находится под влиянием зарождающейся эмбриональной эндокринной системы, а транскрипты некоторых стероидогенных ферментов присутствуют в яичнике, по крайней мере, через 15 нед гестации, тогда как способность метаболизировать андрогены в эстрогены присутствует только в сроке около 12 нед гестации. Эстрогены и прогестерон ингибируют фолликулярную сборку у крыс, возможно, посредством ингибирования апоптоза в ооцитах [15, 16].

Однако прогестерон может быть, по меньшей мере, частично эндокринным, а не местным, поскольку при удалении яичников из окружающей среды *in vivo* был отмечен ускоренный переход от примордиальных к первичным фолликулам при отсутствии прогестерона [14, 17]. Возможные экстрагональные источники таких стероидов были идентифицированы в эмбриональных тканях человека.

Эксперименты, в которых яичники конкретного генотипа трансплантируются в тяжелых комбинированных иммунодефицитных мышцах, могут быть применены для демонстрации необходимости местного действия гена, так что, например, локальное присутствие гена *Fas* в яичнике необходимо для нормальной элиминации ооцитов в трансплантированных яичниках [9, 15].

*Внутриооцитарные факторы и межклеточные взаимодействия.* На фоне этой сложной локальной среды внутренние факторы ооцита также могут влиять на перспективы выживания. Некоторые исследователи отметили увеличение частоты аномального синапсиса у генетически аномальных плодов, как и ожидалось, а также ассоциировали некоторые хромосомные аномалии с увеличением апоптоза. Однако при исследовании отдельных ооцитов мыши в профазе первого деления мейоза обнаружили только незначительную связь между апоптозными молекулярными маркерами и нормальным или аномальным появлением SCF у мышей [7, 18, 19]. В отличие от относительного отсутствия ассоциации между апоптозными маркерами и мейотическими аномалиями в отдельных ооцитах, отмечали значительные различия в поведении образцов тканей яичников *in vitro* в соответствии с гестационным возрастом [20]. Следовательно, это может повлиять на среду, которая окружает ооциты, входящие в мейоз в разные сроки беременности.

Обнаружено, что культуры овариальных фрагментов от плодов на 14-й нед гестации были склонны к экспансии *in vitro*. Клетки удалялись от исходного фрагмента и в конечном итоге покрывали большую часть мембраны кластерами и агрегатами. Окрашивание на щелочную фосфатазу показало, что зародышевые клетки были в основном сконцентрированы в исходном фрагменте ткани и в кластерах, которые образовались в результате размножения. Любопытная способность ооцитов мигрировать во время внутриутробного развития даже во время первой профазы мейоза уже была отмечена ранее [18].

Например, X. Wu и соавт. (2017) использовали методы культивирования органов, применяемые для взрослых тканей. Они наблюдали выживание и рост фолликулов *in vitro* из ткани 16–22-й и 22–23-й нед гестации соответственно и подтвердили мейотическую инициацию и прогрессию [19]. Оптимизация культуральных методов для плодных яичников станет ценным инструментом для изучения гормонального и паракринного влияний на ключевые аспекты развития яичников человека. Механизм движения клеток зародышевой линии в настоящее время изучается. Эта способность значительно повысилась

благодаря включению факторов роста в культуральную среду (SCF 10 нг/мл и ИФР 15 нг/мл).

Напротив, яичниковая ткань на 15-й нед гестации значительно увеличивалась *in vitro*, и стимулирующий эффект факторов роста уже не был значительным. Также отмечено, что более поздние гестационные возрасты (до 23 нед), культивируемые в сходных условиях, имеют тенденцию округляться *in vitro* и формировать плотный поверхностный эпителий [21].

Хорошо известно, что мышинные первичные половые клетки могут быть успешно культивированы и их число увеличивается в культурах, дополненных факторами роста, включая фактор стволовых клеток SCF [22]. Также известно, что *c-kit* присутствует на человеческих оогониях и ооцитах с 14–21-й нед гестации и распределение *c-kit* (SCF) в человеческой зародышевой линии изменяется в зависимости от статуса [23].

Например, S. Gkoutela и соавт. (2013), используя иммуногистохимию, обнаружили, что первичные половые клетки и оогонии экспрессируют положительно *c-kit*, тогда как свободные ооциты или те, которые заключены в примордиальные фолликулы, окрашиваются слабо или вовсе не экспрессируют данные факторы. *C-kit* снова обнаруживается на поверхности ооцитов в растущих фолликулах [23, 24]. Мы знаем, что клетки-предшественники остаются в плодных яичниках и намного позже 15 нед, поэтому, возможно, они размножаются меньше или подвергаются апоптозу на более поздних стадиях.

*Мейоз как фактор выживания.* Оценить прогрессию мейотических преобразований ооцитов в культивируемых условиях авторы предложили также с использованием факторов роста, таких как SCF. Число ооцитов заметно снизилось в течение первой недели культивирования, вероятно, из-за резкого изменения окружающей среды [24]. После этого оогенез восстанавливался с увеличением числа ооцитов на стадиях лептономы и зигонемы, прогрессируя в течение следующей недели культивирования. Восстановление было более выраженным через 14 нед, чем через 15, и было очевидно с добавлением или без добавления фактора роста до второй недели *in vitro* [16, 21]. После этого культуры с факторами роста с большей вероятностью сохраняли восстановление. Пока неясно, поддерживают ли факторы роста клетки-предшественники, непосредственно ооциты или оказывают косвенное влияние через соматическую среду.

Таким образом, помимо экспрессии многочисленных генов и образования факторов роста, описанных нами в предыдущих работах [2, 3], оогенез зависит и от постоянно меняющейся среды яичников, а именно эндокринных и паракринных факторов,

межооцитарной коммуникации, мейотических преобразований и возможных аномалий деления половых клеток. Дальнейшее исследование потребует применения специфических маркеров для дифференцирования ооцитов и клеток-предшественников на разных стадиях и использования образцов тканей из более широкого диапазона гестационного возраста.

## ИСТОЩЕНИЕ ЗАПАСА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

Апоптоз вызывает элиминацию более 99% половых клеток из когорты яичника через фолликулярную атрезию [2, 25, 26]. Менее 1% зародышевых клеток, которые в результате культивирования ооцитов далее подвергаются апоптозу в течение последних фаз оогенеза и истощают овариальный резерв у большинства видов млекопитающих, включая человека. Максимальное количество половых клеток у мышей определено в момент вступления первичных ооцитов в профазу мейоза (рис.). После этого до двух третей половых клеток гибнет, и к моменту рождения устанавливается тот овариальный резерв, который и остается на последующую жизнь [3, 27, 28]. Пик численности гамет в яичнике человека происходит к 20-й нед беременности, после чего их число резко снижается. Аналогичный процесс наблюдается у

мышей. Степень потери половых клеток в течение этого времени (около 20 нед гестации), в конечном счете, влияет на размер резерва яичников [1, 2, 26, 29]. Молекулярные механизмы, с помощью которых устраняются ооциты, факторы, которые участвуют в данном процессе, в основном остаются загадкой.

По данным авторов, гибель соматических клеток яичника млекопитающих может происходить различными путями: апоптозом, некрозом, аутофагией или некроптозом [29–31]. Разница между этими процессами включает в себя различия в режиме смерти, а также в морфологических, биохимических и молекулярных характеристиках. Хотя в настоящее время нет опубликованных данных, какой из этих путей основной и ответственный за смерть зародышевых клеток до формирования резерва яичников [32, 33]. Некоторые ученые сообщают об уменьшении числа примордиальных фолликулов в препубертате у мышей, не связанным с выраженной экспрессией классических маркеров апоптоза и расщепляющей каспазой-3, что заставляет авторов предложить альтернативный механизм смерти ооцитов [34–36]. Следовательно, множественные перинатальные механизмы влияют на первичный фолликулярный запас.

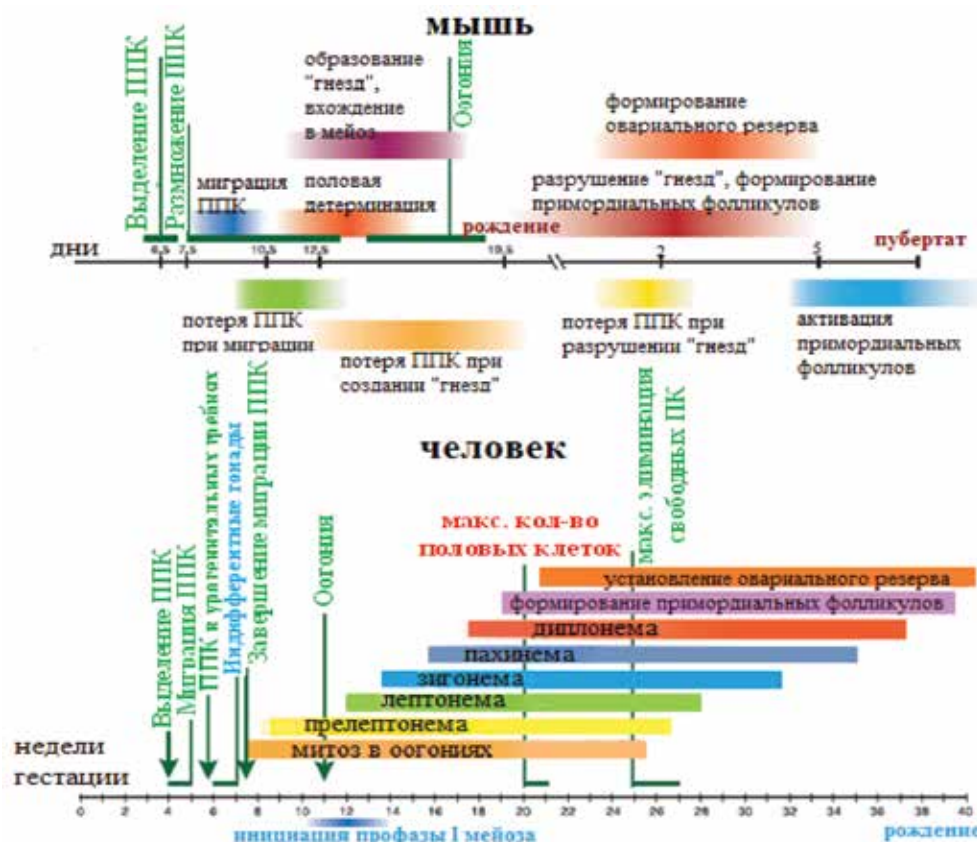


Рисунок. Сравнительная характеристика овариального резерва у мыши (a) и человека (b), количество первичных половых клеток (ППК) на разных сроках гестации

Есть несколько факторов, которые индуцируют апоптоз прямо или опосредованно в ооцитах на различных стадиях клеточного цикла и мейоза. Преждевременное удаление окружающих гранулезных клеток от незрелых ооцитов, снижение уровня аденозинового 3',5'-циклического монофосфата и гуанозина 3',5'-циклического монофосфата, повышение уровня кальция и оксидантов, устойчивый пониженный уровень фактора, способствующего созреванию, истощение факторов выживания, питательных веществ и белков клеточного цикла, снижение мейотической компетентности, повышенного уровня проапоптотических, а также апоптотических факторов приводят к апоптозу ооцитов [27–30].

В запрограммированной гибели половых клеток участвуют как собственные (опосредуемые митохондриями), так и внешние (опосредованные рецепторами клеточной поверхности) пути. Найден посредник между двумя апоптозными путями – белок Bid, присутствующий в неактивной форме в цитозоле. В ответ на стимул внешнего пути апоптоза происходит отщепление N-концевой части белка с образованием активной формы tBid. Активированный белок перемещается к митохондриям и, взаимодействуя с проапоптотическими белками Bax и Bak, осуществляет пермеабиллизацию митохондрий с выбросом апоптогенных факторов, таких как цитохром C [37, 38]. Одна из восьми спиралей – H3 белка Bid содержит домен BH3, который и активирует механизм клеточной смерти внутрифолликулярного микроокружения. Апоптоз ооцитов приводит к истощению овариального резерва, непосредственно влияя на репродуктивный результат различных млекопитающих, включая человека [2, 14, 28].

Роль запрограммированной гибели клеток неплохо изучена в яичниках во время перехода от митоза к мейозу и дегенерации фолликулярных кластеров у мышей [16, 30], когда число зародышевых клеток резко снижается (см. рис.). В человеческом яичнике также продемонстрирована апоптотическая гибель на этой стадии [8, 26]. Вероятно, апоптоз имеет важное биологическое значение для устранения дефектных или «низкого качества» ооцитов с поврежденной ядерной или митохондриальной ДНК [27, 37, 39]. Однако прямых доказательств поддержания качества половых клеток путем апоптоза во время оогенеза нет. Высказано предположение, что фактор элонгации киназа-2 (eEF2K) участвует в данном процессе путем ингибирования антиапоптотических белков в ответ на окислительный стресс, что делает половые клетки более восприимчивыми к апоптозу и элиминации [40, 41].

Существуют доказательства роли некоторых белков, опосредующих апоптоз в соматических клетках и влияющих на количество половых клеток яичника [3, 26, 42]. М. Myers с соавт. (2014) сообщили, что у мышей, генетически дефектных по гену *PUMA*, наблюдается повышенная экспрессия апоптотических факторов и уменьшение вдвое половых клеток, вступающих в мейоз, следовательно, размер овариального резерва значительно снижается [14, 43].

Этот эффект не может быть связан с измененной пролиферативной активностью зародышевых клеток. Данные свидетельствуют о том, что *PUMA* влияет только на клетки гранулезы оогоний до момента образования яйценосных шаров, но не во время последующего уменьшения числа половых клеток при дегенерации последних [44]. И наоборот, антиапоптотический Bcl-2-подобный белок, MCL-1, относительно поздно экспрессируется в ооцитах, как раз перед образованием примордиальных фолликулов, следовательно, может косвенно играть определенную роль в сохранении овариального резерва во время оогенеза и в конце беременности [44]. Инактивация антиапоптотического Bcl-x привела к усилению апоптоза клеток гранулезы эмбриональных фолликулов [36, 39, 40].

Апоптоз требует активации либо внутреннего, либо внешнего пути и триггеров, физиологических или стрессорных, отвечающих за активацию этих путей, которые до настоящего времени не выяснены абсолютно в гранулезных клетках. В соматических клетках [30, 40] и послеродовых ооцитах мыши [43, 45] было показано, что неспособность восстановить повреждение ДНК вызывает апоптотическую гибель через *PUMA* и *NOXA*. Другие факторы, ответственные за апоптоз в соматических клетках, включают отсутствие факторов роста (внутренний путь) и членов факторов некроза опухоли (TNF) (внешний путь). TNF/TNFR1 и FasL/Fas выражены в неонатальных яичниках грызунов [3, 13, 46]. Кроме того, TNF способствует гибели ооцитов в пробирке, и делеция TNFα или Fas у мышей увеличивает изначальное число фолликулов при рождении [9, 47]. Эти данные указывают на критическую роль для сигнализации рецептором смерти в женских зародышевых клетках апоптоза, в частности, во время периода распада яйценосных шаров и образования примордиальных фолликулов.

Мы очень мало знаем о том, как эпигенетические модификации хроматина в клетках гранулезы и половых клетках могут повлиять на репродуктивное здоровье и фолликулярный запас. Эпигенетическая модификация хроматина происходит, главным образом, за счет метилирования ДНК, модификации ги-

стонов или некодирующих РНК, но в какой степени данные процессы влияют на конечное число ооцитов в резерве – неизвестно [34, 36, 48]. Окислительный стресс вызывает апоптоз ооцитов с активацией системы Fas/FasL, а компетентность ооцита более тесно коррелирует с модификацией гистонов, чем с конфигурацией хроматина [36, 40].

Связанное с возрастом снижение репродуктивной функции у женщин неплохо изучено. Апоптоз рассматривается в данном процессе как одна из причин снижения первичного запаса фолликулов. В одной из работ описано снижение репаративной способности ДНК у возрастных крыс и, как следствие, продемонстрировано снижение уровня мРНК генов репарации *BRCA1* и *H2AX* [40, 49]. В данном исследовании идентифицировали 13 дифференциально экспрессируемых белков, участвующих в широком спектре биологических функций, включая апоптоз, репарацию ДНК и иммунную систему. Впервые описаны дифференциально экспрессированные белки FIGNL1, отвечающие за репарацию ДНК и BOK – апоптотический белок, обнаруженные в первичных фолликулах и связанные, по мнению авторов, с некоторыми общими особенностями старения яичников, потерей фолликулярного резерва и целостностью генома [14, 49].

В другом подобном исследовании определяли уровни мРНК генов репарации ДНК у стареющих животных по сравнению с молодыми. Результаты показали значительное снижение уровней мРНК генов *BRAC1*, *RAD51*, *ERCC2* и *H2AX* – генов репарации ДНК и уровней фосфопротеинов BRAC1 и H2AX в примордиальных фолликулах пожилых крыс [49]. Следовательно, нарушение репарации ДНК подтверждается как механизм старения ооцитов.

Все больше исследований посвящено поиску новых методов, идентифицирующих размер овариального резерва. Безусловно, биопсия яичников и гистологическое исследование дают наиболее точное представление о фолликулярном резерве по сравнению с ультразвуковым методом или другими косвенными лабораторными исследованиями. В настоящее время появляется все больше данных о других, неинвазивных, но достоверных способах диагностики овариального запаса. В одном из таких исследований определено, что митохондриальный биогенез в клетках гранулезы может быть связан с нарушением компетентности ооцитов у пациенток с уменьшением овариального резерва [38, 50].

Митохондрии, играющие роль в качестве ооцитов, могут участвовать в патогенезе истощения фолликулярного запаса. Изучение клеток гранулезы предлагает неинвазивный подход для оценки каче-

ства ооцитов и метаболических процессов, от которых зависит это качество. Если митохондриальная дисфункция участвует в истощении овариального резерва, она, вероятно, окажет влияние на функционирование клеток кумулюса. Содержание митохондрий в ооцитах и кумулюсных клетках оценивали по количественному определению митохондриальной ДНК методом полимеразной цепной реакции и экспрессии 13 генов, участвующих в митохондриальных функциях, таких как апоптоз и антиоксидантная защита [38, 40, 50].

Подводя итог, отметим, что фолликулярные клетки могут регулировать митохондриальный биогенез, создавая адекватный пул митохондрий в ооцитах для дальнейшего развития. Изменение этого процесса у пациентов с истощением овариального резерва может объяснить и ухудшение качества половых клеток. Следовательно, некоторые характеристики митохондрий кумулюсных клеток могут служить индикаторами компетентности ооцитов, и качество половых клеток можно улучшить продуктами, усиливающими митохондриальный биогенез.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Даже после десятилетий изучения оогенез сохраняет много интригующих тайн. Очевидно, что внутренняя среда беременной женщины на ключевых этапах развития яичника плода может напрямую влиять как на плодovitость ее будущей дочери (контролируя размер овариального резерва), так и качество ее ооцитов (путем воздействия на степень отбора и апоптоза). Оогенез является неотъемлемым процессом формирования овариального резерва, а сохранение и истощение последнего зависят от огромного количества факторов внутрияичникового и внегонадного происхождения, проапоптотических и апоптотических агентов, митохондриальной дисфункции, экспрессии некоторых генов на всех этапах оогенеза и образования фолликулов, эпигенетической модификации хроматина, способности к репарации ДНК, а также еще неизвестных, но, вероятно, многочисленных маркеров.

Изучение фолликулярной динамики набирает обороты за счет использования современных методов, позволяющих определить факторы выживания половых клеток и формирования овариального резерва, а также помочь поиску возможных регуляторов в предотвращении патологической гибели половых клеток.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Денисенко М.В., Курцер М.А., Курило Л.Ф. Динамика формирования фолликулярного резерва яичников.

- Андрология и генитальная хирургия. 2016; 17: 20–28. DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-2-20-28.
2. Зенкина В.Г. Формирование фолликулярного резерва яичников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 197–206. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-3-197–206.
  3. Зенкина В.Г., Солодкова О.А. Молекулярно-генетические механизмы организации и развития яичника. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (2): 133–142. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-2-133–142.
  4. Турдыбекова Я.Г. Фолликулогенез и фолликулярный запас яичника в норме и патологии: аспекты (этапы) клинико-морфологического изучения. *Вестник КазНМУ*. 2019; 1: 41–45.
  5. Hsueh A.J.W., Kawamura K., Cheng Y., Fauser B.C.J.M. Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocr. Rev.* 2015; 36 (1): 1–24. DOI: 10.1210/er.2014-1020.
  6. Sato E., Kimura N., Yokoo M., Miyake Y., Ikeda J.E. Morphodynamics of ovarian follicles during oogenesis in mice. *Microsc. Res. and Techn.* 2006; 69 (6): 427–435. DOI: 10.1002/jemt.20302.
  7. Pan B., Li J. The art of oocyte meiotic arrest regulation. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2019; 17 (1): 8. DOI: 10.1186/s12958-018-0445-8.
  8. Fulton N., Martins da Silva S.J., Bayne R.A.L., Anderson R.A. Germ cell proliferation and apoptosis in the developing human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 4664–4670.
  9. Moniruzaman M., Sakamaki K., Akazawa Y., Miyano T. Oocyte growth and follicular development in KIT-deficient Fas-knockout mice. *Reproduction*. 2007; 133: 117–125. DOI: 10.1530/REP-06-0161.
  10. Hansen K.R., Hodnett G.M., Knowlton N., Craig L.B. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril.* 2011; 95: 170–175. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.006.
  11. Thuwanat P., Comizzoli P., Wildt D.E., Keefer C.L., Songsasen N. Stem cell factor promotes in vitro ovarian follicle development in the domestic cat by upregulating c-kit mRNA expression and stimulating the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT pathway. *Reprod. Fertil. Dev.* 2017; 29 (7): 1356–1368. DOI: 10.1071/RD16071.
  12. Nilsson E., Detzel C., Skinner M. Platelet-derived growth factor modulates the primordial to primary follicle transition. *Reproduction*. 2006; 6: 1007–1015. DOI: 10.1530/rep.1.00978.
  13. Greenfield C.R., Roby K.F., Pepling M.E., Babus J.K., Teranova P.F., Flaws J.A. Tumor necrosis factor (TNF) receptor type 2 is an important mediator of TNF alpha function in the mouse ovary. *Biol. Reprod.* 2007; 76: 224–231. DOI: 10.1095/biolreprod.106.055509.
  14. Monget P., Bobe J., Gougeon A., Fabre S., Monniaux D., Dalbès-Tran R. The ovarian reserve in mammals: a functional and evolutionary perspective. *Mol. Cell Endocrinol.* 2012; 356 (1-2): 2–12. DOI: 10.1016/j.mce.2011.07.046.
  15. Rimón-Dahari N., Yerushalmi-Heinemann L., Alyagor L., Dekel N. Ovarian folliculogenesis. *Results Probl. Cell Differ.* 2016; 58: 167–190. DOI: 10.1007/978-3-319-31973-5\_7.
  16. Wear H.M., McPike M.J., Watanabe K.H. From primordial germ cells to primordial follicles: a review and visual representation of early ovarian development in mice. *J. Ovarian Res.* 2016; 9: 36. DOI: 10.1186/s13048-016-0246-7.
  17. Dutta S., Mark-Kappeler C.J., Hoyer P.B., Pepling M.E. The steroid hormone environment during primordial follicle formation in perinatal mouse ovaries. *Biol. Reprod.* 2014; 91 (3): 68. DOI: 10.1095/biolreprod.114.119214.
  18. Ghafari F., Gutierrez C.G., Hartshorne G.M. Apoptosis in mouse fetal and neonatal oocytes during meiotic prophase one. *BMC Dev. Biol.* 2007; 7: 87. DOI: 10.1186/1471-213X-7-87.
  19. Wu X., Fu Y., Sun X., Liu C., Chai M., Chen C., Dai L., Gao Y., Jiang H., Zhang J. The possible FAT1-mediated apoptotic pathways in porcine cumulus cells. *Cell Biol. Int.* 2017; 41 (1): 24–32. DOI: 10.1002/cbin.10695.
  20. Childs A.J., Kinnell H.L., He J., Anderson R.A. LIN28 is selectively expressed by primordial and pre-meiotic germ cells in the human fetal ovary. *Stem Cells Dev.* 2012; 21 (13): 2343–2349. DOI: 10.1089/scd.2011.0730.
  21. Hartshorne G.M., Lyrakou S., Hamoda H., Oloto E., Ghafari F. Oogenesis and cell death in human prenatal ovaries: what are the criteria for oocyte selection? *Mol. Hum. Reprod.* 2009; 15 (12): 805–819. DOI: 10.1093/molehr/gap055.
  22. DeFelici M., Lobascio A.M., Klinger F.G. Cell death in fetal oocytes: many players for multiple pathways. *Autophagy*. 2008; 4: 240–242. DOI: 10.4161/auto.5410.
  23. Gkoutela S., Li Z., Vincent J.J., Zhang K.X., Chen A., Pellegrini M., Clark A.T. The ontogeny of cKIT+ human primordial germ cells proves to be a resource for human germ line reprogramming, imprint erasure and in vitro differentiation. *Nat. Cell Biol.* 2013; 15 (1): 113–122. DOI: 10.1038/ncb2638.
  24. Fabbri R., Zamboni C., Vicenti R., Macciocca M., Paradisi R., Seracchioli R. Update on oogenesis *in vitro*. *Minerva Ginecol.* 2018; 70 (5): 588–608. DOI: 10.23736/S0026-4784.18.04273-9.
  25. Зенкина В.Г., Каредина В.С., Солодкова О.А., Слуцкая Т.Н., Юферева А.Л. Морфология яичников андрогенизированных крыс на фоне приема экстракта из кукумарии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2007; 4: 70–72.
  26. Banerjee S., Banerjee S., Saraswat G., Bandyopadhyay S.A., Kabir S.N. Female reproductive aging is master-planned at the level of ovary. *PLoS One*. 2014; 9 (5): e96210. DOI: 10.1371/journal.pone.0096210.
  27. Зенкина В.Г. Факторы ангиогенеза при развитии физиологических и патологических процессов женской гонады. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (4): 111–119. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-4-111–119.
  28. Tiwari M., Prasad S., Tripathi A., Pandey A.N., Ali I., Singh A.K., Shrivastav T.G., Chaube S.K. Apoptosis in mammalian oocytes: a review. *Apoptosis*. 2015; 20 (8): 1019–1025. DOI: 10.1007/s10495-015-1136-y.
  29. Gartner A., Boag P.R., Blackwell T.K. Germline survival and apoptosis. *WormBook*. 2008; 4: 1–20. DOI: 10.1895/wormbook.1.145.1.
  30. Klinger F.G., Rossi V., De Felici M. Multifaceted programmed cell death in the mammalian fetal ovary. *Int. J. Dev. Biol.* 2015; 59 (1-3): 51–54. DOI: 10.1387/ijdb.150063fk.
  31. Linkermann A., Green D.R. Necroptosis. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370 (5): 455–465. DOI: 10.1056/NEJMr1310050.
  32. Rodrigues P., Limback D., McGinnis L.K., Plancha C.E., Albertini D.F. Multiple mechanisms of germ cell loss in the

- perinatal mouse ovary. *Reproduction*. 2009; 137: 709–720. DOI: 10.1530/REP-08-0203.
33. Gawriluk T.R., Hale A.N., Flaws J.A., Dillon C.P., Green D.R., Rucker E.B. Ankophagy is a cell survival program for female germ cells in the murine ovary. *Reproduction*. 2011; 141 (6): 759–765. DOI: 10.1530/REP-10-0489.
  34. Kimura T., Kaga Y., Sekita Y., Fujikawa K., Nakatani T., Odamoto M., Funaki S., Ikawa M., Abe K., Nakano T. Pluripotent stem cells derived from mouse primordial germ cells by small molecule compounds. *Stem Cells*. 2015; 33 (1): 45–55. DOI: 10.1002/stem.1838.
  35. Tingen C., Kim A., Woodruff T.K. The primordial pool of follicles and nest breakdown in mammalian ovaries. *Mol. Hum. Reprod*. 2009; 15 (12): 795–803. DOI: 10.1093/molehr/gap073.
  36. Lin J., Chen F., Sun M.J., Zhu J., Li Y.W., Pan L.Z., Zhang J., Tan J.H. The relationship between apoptosis, chromatin configuration, histone modification and competence of oocytes: A study using the mouse ovary-holding stress model. *Sci. Rep*. 2016; 6: 28347. DOI: 10.1038/srep28347.
  37. Seidler E.A., Moley K.H. Metabolic determinants of mitochondrial function in oocytes. *Semin. Reprod. Med*. 2015; 33 (6): 396–400. DOI: 10.1055/s-0035-1567822.
  38. Boucret L., Chao de la Barca J.M., Morinière C., Desquirit V., Ferré-L'Hôtellier V., Descamps P., Marcaillou C., Reynier P., Procaccio V., May-Panloup P. Relationship between diminished ovarian reserve and mitochondrial biogenesis in cumulus cells. *Hum. Reprod*. 2015; 30 (7): 1653–1664. DOI: 10.1093/humrep/dev114.
  39. Wang C., Zhou B., Xia G. Mechanisms controlling germline cyst breakdown and primordial follicle formation. *Cell Mol. Life Sci*. 2017; 74 (14): 2547–2566. DOI: 10.1007/s00018-017-2480-6.
  40. Zhang J.Q., Gao B.W., Wang J., Ren Q.L., Chen J.F., Ma Q., Zhang Z.J., Xing B.S. Critical role of foxo1 in granulosa cell apoptosis caused by oxidative stress and protective effects of grape seed procyanidin B2. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2016; 2016: 6147345. DOI: 10.1155/2016/6147345.
  41. Chu H.P., Liao Y., Novak J.S., Hu Z., Merkin J.J., Shymkiv Y., Braeckman B.P., Dorovkov M.V., Nguyen A., Clifford P.M., Nagele R.G., Harrison D.E., Ellis R.E., Ryazanov A.G. Germline quality control: eFK2K stands guard to eliminate defective oocytes. *Dev. Cell*. 2014; 28: 561–572. DOI: 10.1016/j.devcel.2014.01.027.
  42. Hutt K.J. The role of BH3-only proteins in apoptosis within the ovary. *Reproduction*. 2015; 149 (2): R81–R89. DOI: 10.1530/REP-14-0422.
  43. Myers M., Morgan F.H., Liew S.H., Zerafa N., Gamage T.U., Sarraj M., Cook M., Kapic I., Sutherland A., Scott C.L., Strasser A., Findlay J.K., Kerr J.B., Hutt K.J. PUMA regulates germ cell loss and primordial follicle endowment in mice. *Reproduction*. 2014; 148 (2): 211–219. DOI: 10.1530/REP-13-0666.
  42. Omari S., Waters M., Naranian T., Kim K., Perumalsamy A.L., Chi M., Greenblatt E., Moley K.H., Opferman J.T., Jurisicova A. Mcl-1 is a key regulator of the ovarian reserve. *Cell Death Dis*. 2015; 6 (5): e1755. DOI: 10.1038/cddis.2015.95.
  43. Kerr J.B., Hutt K.J., Michalak E.M., Cook M., Vandenberg C.J., Liew S.H., Bouillet P., Mills A., Scott C.L., Findlay J.K., Strasser A. et al. DNA damage-induced primordial follicle oocyte apoptosis and loss of fertility require Tap63-mediated maturation of Puma and Noxa. *Mol. Cell*. 2012; 48 (3): 343–352. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.08.017.
  44. Sui X.X., Luo L.L., Xu J.J., Fu Y.C. Evidence that FOXO3 is involved in oocyte apoptosis in the neonatal rat ovary. *Biochem Cell Biol*. 2010; 88 (4): 621–628. DOI: 10.1139/O10-001.
  45. Cui L.L., Yang G., Pan J., Zhang C. Tumor necrosis factor alpha knockout increases fertility of mice. *Theriogenology*. 2011; 75 (5): 867–876. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2010.10.029.
  46. Jung D., Kee K. insights into female germ cell biology: from in vivo development to in vitro derivations. *Asian J. Androl*. 2015; 17 (3): 415–420. DOI: 10.4103/1008-682X.148077.
  47. Govindaraj V., Rao A.J. Comparative proteomic analysis of primordial follicles from ovaries of immature and aged rats. *Syst. Biol. Reprod. Med*. 2015; 61 (6): 367–375. DOI: 10.3109/19396368.
  48. May-Panloup P., Boucret L., Chao de la Barca J.M., Desquirit-Dumas V., Ferré-L'Hôtellier V., Morinière C., Descamps P., Procaccio V., Reynier P. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles. *Hum. Reprod. Update*. 2016; 22 (6): 725–743. DOI: 10.1093/humupd/dmw028.

## Сведения об авторах

**Зенкина Виктория Геннадьевна**, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-1148-6021.

**Солодкова Оксана Алексеевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-3986-5795.

**Божко Галина Георгиевна**, канд. биол. наук, доцент, кафедра биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-7543-6090.

**Агибалова Анна Алексеевна**, ст. преподаватель, кафедра биологии, ботаники и экологии ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-4452-8064.

**Зенкин Игорь Сергеевич**, студент, ДВФУ, г. Владивосток.

(✉) **Зенкина Виктория Геннадьевна**, e-mail: zena-74@mail.ru

Поступила в редакцию 22.05.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Потенциальные биохимические маркеры хронического бронхита

**Куртуков Е.А., Рагино Ю.И.**

*Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал  
Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения  
Российской академии наук (ФИЦ ИЦиГ СО РАН)  
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1*

### РЕЗЮМЕ

В обзоре систематизируются современные данные о биохимических маркерах, которые расширяют наше понимание о закономерностях развития хронического бронхита. В статье приведены маркеры, ассоциированные с патологией бронхолегочной системы: фактор некроза опухоли альфа; интерлейкин (ИЛ) 1, 6, 8, 10; тканевой фактор; ингибитор активатора плазминогена 1-го типа; моноцитарно-хемоаттрактантный протеин 1. Для каждой представленной биомолекулы описаны ее свойства, функции, непосредственная роль в организме, взаимосвязи с патологией бронхолегочной системы. Использование данных маркеров целесообразно для ранней диагностики, контроля лечения и требует более глубокого изучения.

**Ключевые слова:** хронический бронхит, хроническая обструктивная болезнь легких, биохимические маркеры, фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин 1, интерлейкин 6, интерлейкин 8, интерлейкин 10, тканевой фактор, ингибитор активатора плазминогена 1-го типа, моноцитарно-хемоаттрактантный протеин 1.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Куртуков Е.А., Рагино Ю.И. Потенциальные биохимические маркеры хронического бронхита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 148–159. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-148-159>.

---

## Potential biochemical markers of chronic bronchitis

**Kurtukov E.A., Ragino Yu.I.**

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine (RIIPM) – a branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS)  
175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation*

### ABSTRACT

The review systematizes modern data on the biochemical markers that can clarify the nature and the course of chronic bronchitis. The article describes markers associated with bronchopulmonary pathology, such as tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ), interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), interleukin 10 (IL-10), tissue factor, type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1), and monocyte chemoattractant protein-1.

(MCP-1). For each biomolecule, its properties, functions, direct role in body processes, and associations with bronchopulmonary pathology are described. The use of these markers for early diagnosis of bronchopulmonary pathology and monitoring of the treatment effectiveness is promising and requires further in-depth study.

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, chronic bronchitis, biochemical markers, tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, interleukin 6, interleukin 8, interleukin 10, tissue factor, type 1 plasminogen activator inhibitor, monocyte chemoattractant protein 1.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Kurtukov E.A., Ragino Yu.I. Potential biochemical markers of chronic bronchitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 148–159. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-148-159>.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время заболевания бронхолегочной системы получили огромную распространенность не только в России, но и во всем мире. Хронический бронхит занимает ведущие позиции среди хронических неспецифических заболеваний легких. По разным оценкам, число заболевших хроническим бронхитом в России составляет около 33 млн человек. Согласно рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), а также российским клиническим рекомендациям, хронический бронхит – хроническое диффузное прогрессирующее воспаление бронхов, проявляющееся продуктивным кашлем, продолжающимся не менее 3 мес в году в течение 2 лет подряд, при исключении других заболеваний верхних дыхательных путей, бронхов и легких, которые могли бы вызвать эти симптомы. Хроническая обструктивная болезнь легких является не отдельным конкретным заболеванием, а собирательным термином, используемым для описания хронических болезней легких, ограничивающих воздушный поток в легкие. Сочетание хронического бронхита с эмфиземой определяется как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ).

В данный момент хронический бронхит (ХБ) встречается как самостоятельная нозологическая единица, которая может быть не сопряжена с явлениями обструкции. По данным ВОЗ, сегодня заболевания респираторной системы занимают третью лидирующую позицию по количеству смертей в мире, от нее ежегодно умирают около 2,8 млн человек, что составляет 4,8% всех причин смерти. Распространенность ХБ варьирует во всем мире от 3,4 до 22,0% в общей популяции до 74,1% у пациентов с ХОБЛ [1–3].

В крупнейшем исследовании нынешних или бывших курильщиков без обструкции воздушного потока (4 900 участников) 12,2% имели ХБ, используя

классическое определение [4]. Недавнее европейское исследование показало, что распространенность ХБ составляет 18% у 972 пациентов с ХОБЛ [5]. Китайское исследование, в которое вошли 1 668 пациентов с ХОБЛ, показало, что 30% участников соответствовали диагностическим критериям хронического бронхита [6]. Поэтому так важно понимать необходимость более ранней диагностики вышеуказанных заболеваний, поиска возможных предикторов и путей воздействия на данные точки патогенеза респираторной патологии. В ниже приведенных данных рассмотрены перспективные биохимические маркеры, которые, по литературным данным, могут иметь диагностическую пользу при обследовании легочной патологии.

## ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛИ

Фактор некроза опухоли (ФНО, TNF, кахексин или кахектин) представляет собой клеточный острофазовый сигнальный белок, участвующий в системном воспалении, является одним из представителей семейства цитокинов. Продуцируется множеством клеток, главным образом макрофагами, лимфоцитами, натуральными киллерами, нейтрофилами, тучными клетками, эозинофилами, нейронами [7]. ФНО синтезируется как трансмембранный белок 2-го типа, его молекулярная масса составляет 26 кДа (233 аминокислоты). Высвобождается путем протеолитического расщепления ФНО-конвертирующим ферментом (ADAM17), от мембрано-связывающего фрагмента отщепляется растворимый ФНО с молекулярной массой 17 кДа (157 аминокислот).

Семейство факторов некроза опухолей включает ФНО-альфа, ФНО-бета, лиганд CD40 (CD40L), лиганд Fas (FasL), лиганд, индуцирующий апоптоз ФНО (TRAIL), LIGHT (гомологичен лимфотоксинам) [8].

ФНО оказывает много важных физиологических и патологических эффектов. Вызывает некроз опухолевых клеток (процесс, который включает в себя отек клеток, разрушение органелл и лизис клеток) и апоптоз (процесс, который включает в себя сокращение клеток, образование конденсированных тел и фрагментацию ДНК).

Кроме того, ФНО является ключевым медиатором как острых, так и хронических системных воспалительных реакций, он не только индуцирует собственную секрецию, но и стимулирует выработку других воспалительных цитокинов и хемокинов. Играет центральную роль в аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит (РА), воспалительные заболевания кишечника, включая болезнь Крона и язвенный колит, рассеянный склероз, системную красную волчанку и системный склероз [9–11].

В контексте связи фактора некроза опухоли и хронического бронхита имеется довольно большая база знаний. За последние 20 лет выходило несколько принципиальных обширных метаанализов на данную тематику, которые не во всем приходили к единому заключению. Так, по утверждению W. Gan и соавт., ФНО имеет ярко выраженную корреляцию между сывороточным уровнем его содержания и степенью тяжести хронического бронхита [12].

Ряд центров заявил об отсутствии значимой корреляции между ФНО и хроническим бронхитом, однако, в ходе детального рассмотрения полученных данных сделан вывод, что на ранних стадиях хронического бронхита корреляция между маркерами воспаления и степенью нарушения функций внешнего дыхания слабо значима [13].

Также в последних исследованиях Y. Mosrane и соавт. продемонстрировали более высокий уровень корреляции ФНО у больных хроническим бронхитом, являющихся курильщиками, чем у той группы пациентов, которая не курила [14].

В ходе оценки биохимических маркеров в процессе лечения была выявлена статистически значимая прямая корреляция между ответом на лечение бронхита и уровнем ФНО в крови [15].

Таким образом, ФНО является перспективным биохимическим показателем, который требует более глубокого и детального анализа в качестве биомаркера и таргетированной мишени в процессе лечения больных с ХБ.

## ИНТЕРЛЕЙКИН 1

Семейство интерлейкина (ИЛ) 1 является одним из наиболее важных цитокинов врожденного иммунитета и воспаления. Семейство включает семь лигандов с провоспалительной активностью: ИЛ-1 $\alpha$  и

$\beta$ , ИЛ-18, ИЛ-33, ИЛ-36 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , три антагониста рецепторов (ИЛ-1Ra, ИЛ-36Ra, ИЛ-38) и противовоспалительный цитокин (ИЛ-37). Члены семейства рецепторов ИЛ-1 (ИЛ-1R) включают шесть цепей рецепторов, образующих четыре сигнальных рецепторных комплекса, два рецептора-ловушки (ИЛ-1R2, ИЛ-18BP) и два отрицательных регулятора (TIR 8, ИЛ-1RAcPb). Жесткая регуляция с помощью антагонистов рецепторов, рецепторов-ловушек и ингибиторов передачи сигналов обеспечивает баланс между усилением врожденного иммунитета и неконтролируемым воспалением [16].

Наиболее изученными представителями данного семейства на данный момент являются ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ . Предшественник ИЛ-1 $\alpha$  постоянно присутствует в эпителиальных слоях всего желудочно-кишечного тракта, легких, печени, почек, эндотелиальных клеток и астроцитов. При гибели клеток от некроза, как это происходит при заболеваниях, связанных с локальной или глобальной ишемией, высвобождается предшественник ИЛ-1 $\alpha$ . Таким образом, ИЛ-1 $\alpha$  опосредует ранние фазы стерильного воспаления, быстро инициируя каскад воспалительных цитокинов и хемокинов и функционирует как алармин [17].

Напротив, ИЛ-1 $\beta$  продуцируется гематопозитическими клетками, такими как моноциты крови, тканевые макрофаги, дендритные клетки кожи и микроглия мозга, в ответ на Toll-подобные рецепторы (TLR), активированные компоненты комплемента, другие цитокины (таблица) [18].

Таблица

| Члены семейства интерлейкина 1      |          |                       |
|-------------------------------------|----------|-----------------------|
| Показатель                          | Рецептор | Функция               |
| ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$        | ИЛ-1R1   | Провоспалительная     |
| ИЛ-1 $\beta$                        | ИЛ-1R2   | Противовоспалительная |
| ИЛ-1Ra                              | ИЛ-1R1   | Противовоспалительная |
| ИЛ-18                               | ИЛ-1R5   | Провоспалительная     |
| ИЛ-33                               | ИЛ-1R4   | Провоспалительная     |
| ИЛ-36 $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ | ИЛ-1R6   | Провоспалительная     |
| ИЛ-36Ra                             | ИЛ-1R6   | Противовоспалительная |
| ИЛ-37                               | ИЛ-1R5   | Противовоспалительная |
| ИЛ-38                               | ИЛ-1R6   | Противовоспалительная |

Члены семейства ИЛ-1 участвуют в регуляции большинства клеток врожденной иммунной системы, включая макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и тучные клетки. На основании этого считается оправданным контроль ИЛ-1 у пациентов с хроническим бронхитом. Хотя патогенез ХБ не изучен до конца и обсуждается до сих пор, известно, что хроническое воспаление, вызванное постоянным воздействием сигаретного дыма на дыхательные пути и паренхиму легких, является ведущей причи-

ной ХОБЛ [19]. На мышинной модели N.S. Pauwels и соавт. показали повышение уровня ИЛ-1 у мышей, подверженных длительному воздействию сигаретного дыма по сравнению с контрольной группой. Позже проведенное исследование у людей подтвердило данные, полученные на мышинных моделях в образцах легочной ткани, а также в индуцированной мокроте пациентов с ХОБЛ: уровень ИЛ-1 был значительно повышен по сравнению со здоровыми исследуемыми [20].

Уровень ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке также повышен у пациентов с ХОБЛ, нежели в группе здорового контроля. Уровень медиатора воспаления в сыворотке коррелирует с важными клиническими параметрами контроля протекания заболевания, такими как степень ограничения воздушного потока, статус курения, С-реактивный белок (СРБ), нейтрофилез сыворотки и др. [21].

Были проанализирован уровень воспалительных маркеров, таких как прокальцитонин, СРБ, хемокиновый лиганд 17 (17CCL17), ФНО и ИЛ-1 $\beta$  в зависимости от типа обострения хронического бронхита. Была выявлена серьезная корреляция между тяжестью обострения и уровнем ИЛ-1 $\beta$ . Также авторы пришли к заключению о более значимой корреляции и в случае бактериального воспаления, и в случае вентилятор-ассоциированной пневмонии, осложнившей течение обострения ХБ [22]. Поэтому оценка уровня ИЛ-1 может быть полезна в качестве маркера воспаления и обострения при хроническом бронхите.

Весьма перспективной областью исследования является фенотипирование гена нуклеотидсвязывающего домена олигомеризации *NLRP* в зависимости от уровня ИЛ-1 $\beta$ . Так, исследования Р. Ozretić и соавт. не только доказали повышение ИЛ-1 $\beta$  в группе больных с ХБ по сравнению со здоровой группой, но и проследили его уровень в зависимости от полиморфизма гена *NLRP*. Было обнаружено, что гомозиготность по основным аллелям была связана с более низкой концентрацией ИЛ-1 [23]. Фенотипирование *NLRP* представляет научный интерес ввиду возможности выявления различных групп риска развития бронхолегочной патологии в целом и ХБ в частности.

## ИНТЕРЛЕЙКИН 6

Интерлейкин 6 – представитель цитокинового семейства, который обладает провоспалительными и противовоспалительными свойствами. Белок ИЛ-6 кодируется геном ИЛ-6. Человеческий ИЛ-6 состоит из 212 аминокислот, включая сигнальный пептид из 28 аминокислот. Его ген картирован на хромосоме 7, локус 7p15-21-q21. Участок ДНК в регуляторной

области этого гена в позиции 572, в которой происходит замена гуанина G на цитозин C, называется генетическим маркером G(-572)C. Ген ИЛ-6 может существовать в виде двух аллельных вариантов, обозначаемых как G-аллель и C-аллель [24].

Цитокин вырабатывается, прежде всего, клетками иммунной системы: моноцитами, лимфоцитами, макрофагами, эндотелиоцитами, микроглией. А также производится целым рядом клеток неиммунной природы: остеобластами, миоцитами, кератиноцитами, синовиальными клетками, хондроцитами, эпителиоцитами, фолликулярно-звездчатыми клетками гипофиза, клетками трофобласта и гладкими мышечными клетками кровеносных сосудов и др.

ИЛ-6 передает сигналы через комплекс рецепторов цитокинов 1-го типа на клеточной мембране, состоящей из лиганд-связывающей цепи ИЛ-6R $\alpha$  (CD126) и компонента, передающего сигналы gp130 (также называемый CD130) [25].

ИЛ-6 отвечает за стимуляцию синтеза белка в острой фазе, а также за нейтрофилез. Он поддерживает рост В-клеток и является антагонистом регуляторных Т-клеток. ИЛ-6 может секретироваться макрофагами в ответ на специфические микробные молекулы, называемые патоген-ассоциированными молекулярными структурами (PAMPs). Эти PAMPs связываются с важной группой детектирующих молекул врожденной иммунной системы, называемых рецепторами распознавания образов (PRR), включая TLR.

Они присутствуют на клеточной поверхности и внутриклеточных компартментах и индуцируют внутриклеточные сигнальные каскады, которые вызывают выработку воспалительных цитокинов [26]. Согласно последним данным о структуре и функциях ИЛ-6, были проведены исследования на выявление связи между хроническим обструктивным и не-обструктивным бронхитом. В результате недавнего продольного исследования, в котором участвовали 1 843 человека в течение 3 лет, показано, что повышенный уровень ИЛ-6 является прогностическим фактором увеличения смертности при хроническом обструктивном бронхите [27]. Уровень сывороточного ИЛ-6 был значимо повышен в группах с ХОБЛ по сравнению со здоровой группой [28, 29].

При повышении ИЛ-6, связанном с персистирующим воспалением, наблюдались более худшие прогнозы при ХБ, что было продемонстрировано А. Agustí и соавт. на выборке в 2 254 человека [30].

В ходе метаанализа, проведенного J. Wei и соавт., который включал 6 837 пациентов, сложилось впечатление о том, что уровень ИЛ-6 в сыворотке крови повышен даже при легкой степени ХОБЛ, что может быть лучшим маркером раннего воспаления и

связанных с ним сопутствующих заболеваний. ИЛ-6 принимает непосредственное участие в воспалении, его можно рассматривать как маркер системного воспаления слабой степени и дополнительный параметр для оценки риска вместе с курением, числом обострений, частотой госпитализации и уровнем смертности [31]. Некоторые авторы указывают на расхождения с некоторыми исследованиями, которые не показали весомых различий по уровню ИЛ-6 и тяжестью заболевания, при этом большинство исследований имеют малую выборку [32, 33].

Показатель ИЛ-6 имеет потенциально большую ценность и как маркер заболевания, и как маркер, выраженность которого будет прямо коррелировать с выраженностью заболевания, что может помочь в оценке клинического профиля больных с ХБ.

## ИНТЕРЛЕЙКИН 8

Интерлейкин 8 – член подсемейства хемокиновых рецепторов (СХС), является важным активатором и хемоаттрактантом для нейтрофилов и вовлечен в различные воспалительные заболевания. Многочисленные сообщения показывают, что различные клетки экспрессируют мРНК ИЛ-8 и продуцируют белок ИЛ-8, включая моноциты, Т-лимфоциты, нейтрофилы, фибробласты, эндотелиальные клетки и эпителиальные клетки [34]. Ген человеческого ИЛ-8 имеет длину 5 191 пару нуклеотидов и содержит четыре экзона, разделенных тремя интронами. Он располагается на хромосоме 4 человека, локус 4q12-q21. Существует, по крайней мере, два разных типа рецепторов ИЛ-8 (CXCR1 и CXCR2). Активность ИЛ-8 не является видоспецифичной. ИЛ-8 влияет на адгезию нейтрофилов к эндотелию и индуцирует трансэндотелиальную миграцию нейтрофилов. Он также проявляет *in vitro* хемотаксическую активность против Т-лимфоцитов и базофилов [35], может играть ключевую роль как медиатор воспаления.

Поскольку ИЛ-8 является ответственным за индукцию и поддержание воспалительного состояния, высока вероятность корреляции между обострениями ХБ и уровнем сывороточного ИЛ-8. В исследованиях W.I. de Boer и соавт. продемонстрировали повышение ИЛ-8 в 1,4 раза в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) в сравнении с контрольной группой, однако не определили значимой корреляции уровня ИЛ-8 в эпителиальной ткани и степени тяжести обострения [36]. Эти данные позволяют предположить, что оценка ИЛ-8 может быть показателем локального ответа нейтрофилов до того, как обострение ХБ манифестирует, и это позволит применять превентивные меры.

В экспериментальной модели выявлена взаимосвязь высокого уровня ИЛ-8 и ремоделирования бронхиол на моделях заболеваний, связанных с хроническим воспалением легочной ткани, действуя непосредственно на клетки гладкой мускулатуры, как уменьшая их длину, так и увеличивая их чувствительность к воспалению [37]. В работе J. Zhang, Bai C. продемонстрирована корреляция уровня ИЛ-8 при обострении хронического обструктивного бронхита и уровнем воспалительных маркеров. У людей вне обострения ИЛ-8 достоверно выше по сравнению со здоровым контролем, что косвенно снова может указывать на взаимосвязь уровня цитокина и ремоделирования бронхиальной стенки [38].

ИЛ-8 представляется перспективным маркером, систематическое повышение которого, по-видимому, может послужить сигналом о более выраженном процессе ремоделирования бронхиол у людей, страдающих длительное время ХБ. Однако данная гипотеза в перечисленных исследованиях всегда вторична, и прицельных долгосрочных исследований по данной тематике не проводилось.

## ИНТЕРЛЕЙКИН 10

Интерлейкин 10 является мощным противовоспалительным цитокином, который уменьшает воспаление в некоторых моделях заболеваний [39]. Будучи противовоспалительным цитокином, ИЛ-10 служит для противодействия провоспалительным эффектам других цитокинов и таким образом может держать воспаление под системой противовесов про- и противовоспалительных систем. ИЛ-10 ингибирует экспрессию цитокинов, таких как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8; может ингибировать экспрессию молекул адгезии [40]. Обладает плейотропным иммунорегуляторным действием. В основном секретируется макрофагами, а также Th1- и Th2-лимфоцитами, дендритными клетками, цитотоксическими Т-клетками, В-лимфоцитами, моноцитами и тучными клетками [41]. Он подавляет экспрессию цитокинов Th1, антигенов МНС класса II и костимулирующих молекул на макрофагах. Увеличивает выживаемость В-клеток, пролиферацию и выработку антител. ИЛ-10 может блокировать активность NF- $\kappa$ B и участвует в регуляции сигнального пути JAK-STAT [42]. Дальнейшие исследования показали, что ИЛ-10 преимущественно ингибирует индуцированную липополисахаридом (LPS) и бактериальной продукцией провоспалительные цитокины ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-12, и IFN $\gamma$  из TLR, активирует клетки миелоидного происхождения [43].

В аспекте легочного воспаления на данный момент имеются обширные данные о непосредственном

участии ИЛ-10 в регулировании процессов воспаления в легких. Согласно последним наблюдениям, у людей, имеющих ХБ, уровень ИЛ-10 был значительно ниже по сравнению со здоровыми наблюдаемыми [44, 45]. Кроме того, продемонстрировано, что уровень ИЛ-10 и в сыворотке, и в мокроте был выше у здоровых, некурящих пациентов по сравнению с пациентами с ХОБЛ и здоровыми курильщиками [46]. Также уровень ИЛ-10 у здоровых курильщиков подавляется в БАЛ [47, 48]. Есть разночтения у авторов касательно корреляции ИЛ-10 и факторов, активирующих воспаление, что, вероятнее всего, связано с полиморфизмом одного и требует более детального и глубокого исследования [49–51]. Таким образом, оценка уровня ИЛ-10 может дать необходимый прогноз состояния обследуемого в плане возможности развития болезней бронхолегочной системы, выявления группы риска, и, возможно, проведения более эффективной системы превентивных мер.

## МОНОЦИТАРНЫЙ ХЕМОАТТРАКТАНТНЫЙ ПРОТЕИН 1

Моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 (MCP-1, CCL2) является представителем группы цитокинов, принадлежит к семейству хемокинов CC, также известный как CCL2. MCP-1 – это мономерный полипептид с молекулярной массой 13–15 кДа в зависимости от уровня гликозилирования [52]. CCL2 в основном секретируется моноцитами, макрофагами, дендритными клетками, эпителиоцитами, астроцитами, фибробластами, эндотелиоцитами.

Ген *MCP-1* расположен на хромосоме 17, состоит из трех экзонов и двух интронов. Длина гена составляет 1 927 пар оснований [53]. CCL2 закреплен в плазматической мембране эндотелиальных клеток гликозаминогликановыми боковыми цепями протеогликанов. Усиление продукции MCP-1 может происходить под воздействием многих факторов: ФНО, липополисахаридов бактериальных агентов, ИЛ-1, интерферонов, тромбоцитарного фактора роста и других [54].

Индукция MCP-1 привлекает в место воспаления первоначально моноциты и базофилы. После делеции N-концевого остатка MCP-1 теряет свою специфичность для базофилов и становится хемоаттрактантом эозинофилов. Базофилы и тучные клетки после воздействия MCP-1 высвобождают свои гранулы в межклеточное пространство. Этот эффект также может усиливаться предварительной обработкой ИЛ-3 или другими цитокинами [55]. CCL2 участвует в патогенезе нескольких заболеваний, характеризующихся моноцитарными инфильтрациями.

Так, в исследованиях А. Di Stefano и соавт. отмечено повышение MCP-1 в сыворотке у больных с ХОБЛ с обострением по сравнению с пациентами без ХОБЛ [56]. Ту же самую тенденцию продемонстрировали S. Traves и соавт. на уровнях MCP-1 в БАЛ и мокроте. Содержание MCP-1 в мокроте было выше у больных с хроническим бронхитом по сравнению с контрольной группой и группой здоровых курильщиков. Отмечены прямая корреляция между уровнем нейтрофилов в мокроте и уровнем MCP-1 и отрицательная корреляция между его содержанием и объемом выдоха за первую секунду (FEV1). Это говорит о том, что MCP-1 может участвовать в воспалительной нагрузке во время обострения ХБ и непосредственно указывает на клинические проявления [57]. Данная работа подтвердила более раннее исследование, утверждающее о непосредственном участии MCP-1 в воспалительном процессе и привлечении моноцитарно-макрофагальной инфильтрации стенок бронхиол при обострении и без него у больных с хроническим бронхитом [58, 59].

## ИНГИБИТОР АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА 1-ГО ТИПА

Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), или эндотелиальный ингибитор плазминогена, – белок, представляющий собой ингибитор сериновой протеазы, который функционирует в качестве антагониста тканевого активатора плазминогена и несет в себе основную функцию по угнетению фибринолиза [60]. Расположен на хромосоме 7, локус 7q21.3-Q2, в гене, именуемом *SERPINE1*, в области промотора которого существует полиморфизм 5G\4G [61].

PAI-1 в основном продуцируется эндотелием (клетками, выстилающими кровеносные сосуды). Высокая экспрессия PAI-1 в культивируемых эндотелиальных клетках позволяет предположить, что эти клетки вносят существенный вклад в пул PAI-1. Однако исследования *in vitro* показывают, что PAI-1 синтезируется различными клетками, и что его биосинтез может вызываться факторами роста, цитокинами, гормонами и другими соединениями [62].

При патологических состояниях секретируется большое количество PAI-1 другими тканями: опухолевыми клетками, эндотелиальными клетками в ответ на действие воспалительных цитокинов и другими клетками, активируемыми воспалением. Высокий уровень PAI-1 в плазме постоянно обнаруживается у пациентов с тяжелым сепсисом, опухолевыми процессами, а также с другими острыми или хроническими воспалительными заболеваниями, такими как атеросклероз. PAI-1 активируется воспалительными

цитокинами, и поэтому может рассматриваться как маркер для продолжающегося воспалительного процесса. Однако очень важно, что в промоторной области PAI-1 не обнаружено классических элементов воспалительного ответа, и до сих пор неясно, через какой механизм PAI-1 экспрессируется во время воспаления [63].

В анализе хронического бронхита и ХОБЛ с метаболическим синдромом (МС) и без него, проведенном на этнической группе, показано, что полиморфизм по аллелям может непосредственно predispose к развитию той или иной ситуации. Генотип 4G\4G более встречаем в группе с МС и группе с ХОБЛ и МС [61], что подтверждается общими исследованиями в других этнических группах [64–67].

В работе Н. Wang и соавт. показана прямая корреляция между клиническими проявлениями хронического бронхита и лабораторными данными. Уровень PAI-1 в сыворотке был значительно повышен у пациентов с ХОБЛ, особенно у курильщиков, и связан с параметрами функции легких, такими как FEV1/Pre и индекс Тиффно – Пинелли, СРБ [66]. Однако не рассматривались ни сопутствующие заболевания ХОБЛ, ни весь спектр ограничения воздушного потока от легкой до очень тяжелой стадии.

По схожему дизайну были получены те же результаты у В. Waschki и соавт.: уровень PAI-1 повышен вне зависимости от сопутствующей патологии, а самый высокий уровень PAI-1 отмечен у пациентов со стадией GOLD II и III [68].

## ТКАНЕВОЙ ФАКТОР

Тканевой фактор (ТФ) – это трансмембранный белок, присутствующий на поверхности субэндотелиальной ткани и лейкоцитах, принимающий непосредственное участие в каскаде свертывающей системы как во внешнем, так и во внутреннем пути [69]. Тканевой фактор представляет собой гликопротеид массой 47 кДа. Состоит из трех доменов: цитоплазматического, который участвует в сигнальной функции тканевого фактора, гидрофобного трансмембранного, проходящего непосредственно через мембрану, и внеклеточного. Последний включает две нити фибронектина и гидрофобное ядро, имеет три N-концевых связи с углеводами. Основную функцию выполняют последние два домена, без цитоплазматического конца тканевой фактор функционален [70].

Сигнальная функция ТФ реализуется в ангиогенезе и апоптозе [71]. В контексте коагуляции – открытие пула циркулирующего ТФ, в котором он может быть найден в растворимой форме или связанный с

мембраной [72, 73]. Моноциты являются одним из основных источников с ТФ [74, 75], который участвует в образовании тромбов у больных с инфарктом миокарда [76, 77], а также в развитии других тромботических заболеваний [78]. Генерация тромбоцитарных частиц *in vitro* из дифференцированных мегакариоцитов человека показала, что тромбоциты могут нести как белок ТФ, так и его мРНК [79]. ТФ также экспрессируется нейтрофилами, запускающими генерацию тромбина и образование тромба. Активация нейтрофилов необходима для воздействия ТФ на клеточную мембрану [80]. Тромбоциты, нейтрофилы, и как сообщалось совсем недавно, даже Т-лимфоциты могут быть важным источником ТФ у пациентов [81].

Исходя из данных исследований, была выдвинута гипотеза об участии тканевого фактора не только в коагуляции, но и в других патологических процессах. В ряде исследований показано, что уровень ТФ может быть повышен не только у пациентов, имеющих тяжелую и умеренно-тяжелую ХОБЛ [82], но и у стабильно протекающего ХБ [83]. Повышался не только пул тканевого фактора, связанный с хроническим воспалением в дыхательных путях, но и снижался уровень ингибитора тканевого пути свертывания TFPI, нацеленного на сдерживание прокоагулянтной способности ТФ [84]. Также отмечена прямая корреляция с другими прокоагулянтами и воспалительными маркерами [85].

Таким образом, можно предположить, что тканевой фактор непосредственно участвует в ремоделировании бронхиальной стенки, а также в хронической воспалительной реакции бронхов. Но говорить о наличии значимой корреляции пока рано ввиду малого количества индуцированных исследований на данную тему, а имеющиеся в настоящий момент имеют недостаточно большую выборку.

## СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

Факторы комплемента – это часть иммунной системы, представляющая собой набор циркулирующих и мембранно-связанных белков в крови человека, главной функцией которого является борьба с чужеродными агентами [86]. Большинство из них относятся к  $\beta$ -глобулинам [87].

Согласно номенклатуре ВОЗ, индивидуальные компоненты обозначаются символами (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9) или прописными буквами (D, B, P), иногда называются факторами [88]. Также существуют регуляторы активности системы комплемента (regulators of complement activity – RCA), чья основная функция – ингибирование активации системы комплемента и защиты клеток [89].

Существует три основных пути активации системы комплемента: классический, лектиновый и альтернативный [90].

Для активации классического пути необходимо присутствие паттерна «антиген – антитело». Возбуждение происходит, когда C1q связывается с иммуноглобулином (Ig) M или IgG в комплексе с антигенами. После чего следует каскад реакций, в процессе которых активируется компонент C3 [91].

Лектиновый путь гомологичен классическому пути, но с опсоином, маннозо-связывающим лектином (MBL) и фиколинами вместо C1q. Этот путь активируется путем связывания MBL с остатками маннозы на поверхности патогена, что приводит в действие сопряженные с MBL сериновые протеазы (MASP-1 и MASP-2), которые затем могут расщеплять C4 и C2. Их продукты соединяются, образуя классическую C3-конвертазу, и путь продолжается по классическому варианту [92].

Альтернативный путь связан с постоянным гидролизом молекулы C3 комплемента в небольшом количестве ввиду наличия теозифирной связи в данной молекуле. Процесс называется tickover, и скорость его составляет примерно 0,3–1% молекул C3 в час. Данный процесс имеет внутреннюю положительную петлю, из-за чего, по идее, он должен иметь лавинообразный характер благодаря поддержке факторов В и D. Однако, благодаря факторам Н и I, этого не происходит, они ингибируют данную петлю путем разрыва комплекса C3 [93].

Считается общепринятым, что основным местом синтеза белков системы комплемента является печень, однако легочные альвеолярные эпителиальные клетки 2-го типа синтезируют и секретируют белки комплемента C2, C3, C4, C5 и фактор В [94], тогда как бронхиолярные эпителиальные клетки человека могут генерировать C3 [95]. Локальный синтез комплемента дает понимание взаимодействия между комплементом и заболеванием легких. Воспалительные цитокины – ИЛ-6, ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , интерферон  $\gamma$  – могут инициировать синтез комплемента в резидентных полиморфно-ядерных лейкоцитах, эпителиальных клетках и фибробластах [96].

Анафилоксины комплемента (C3a, C5a) являются мощными медиаторами воспаления, участвующими в преувеличенной воспалительной реакции, наблюдаемой при ХБ. Недавние исследования выявили повышенный уровень циркулирующих C3a и C5a у пациентов с ХОБЛ, что косвенно свидетельствует о том, что комплементарные белки могут способствовать патогенезу заболевания [97]. При оценке уровня белков C3, C4, составляющих примерно  $\frac{2}{3}$  от общего пула белков комплемента, отмечено,

что исходно он ниже у пациентов с хроническим обструктивным бронхитом, и тем более ниже, чем тяжелее протекает болезнь [98, 99].

Имеется достаточно большое количество исследований, которые говорят о том, что воздействие сигаретного дыма приводит к хронической активации системы комплемента по альтернативному пути [97, 100, 101]. S. Grumelli и соавт. получили данные, что снижение экспрессии CD46 коррелировало с потерей функции легких при ХОБЛ, что может помочь объяснить принципы развития воспаления у этой группы больных, а также сопровождаемую у них чрезмерную активацию комплемента [102]. Однако большинство авторов соглашаются с тем, что ввиду достаточно большого пула белков комплемента и неоднородности исследуемых групп нет четкой общей картины непосредственного состояния комплемента при ХБ, поэтому данная тема требует дальнейших исследований [97, 98, 102].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вышеперечисленные биохимические маркеры принимают непосредственное участие в развитии патологических процессов хронического бронхита. Стоит особенно выделить ИЛ-6 как маркер, который можно использовать для выявления обострения заболевания, что позволит начать терапию более осмысленно. То же самое можно и сказать о MCP-1, однако доказательная база у него несколько меньше и требует более детального рассмотрения.

При этом ценность этих биомаркеров – не только в области научного знания патогенеза хронического бронхита, но и в области непосредственно клинического применения и в качестве потенциальных мишеней таргетного лечения данного заболевания. Более детальное их исследование может помочь в построении модели развития болезни, способов клинического контроля, программ профилактики и возможности воздействия на саногенез заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Kim V., Criner G.J. The chronic bronchitis phenotype in chronic obstructive pulmonary disease: Features and implications. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2015; 21 (2): 133–141. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000145.
2. Burchell P.R., Nesme-Meyer P., Chanez P. et al. Cough and sputum production are associated with frequent exacerbations and hospitalizations in COPD subjects. *Chest.* 2009; 135 (4): 975–982. DOI: 10.1378/CHEST.08-2062.
3. De Oca M.M., Halbert R.J., Lopez M.V. et al. The chronic bronchitis phenotype in subjects with and without COPD: the PLATINO study. *Eur. Respir. J.* 2012; 40 (1): 28–36. DOI: 10.1183/09031936.00141611.

4. Martinez C.H., Kim V., Chen Y. et al. The clinical impact of non-obstructive chronic bronchitis in current and former smokers. *Respir. Med.* 2014; 108 (3): 491–499. DOI: 10.1016/J.RMED.2013.11.003.
5. Lahousse L., Seys L.J.M., Joos G.F., Franco O.H., Stricker B.H., Brusselle G.G. Epidemiology and impact of chronic bronchitis in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* 2017; 50 (2): 1–4. DOI: 10.1183/13993003.02470-2016.
6. Lu M., Yao W., Zhong N. et al. Chronic obstructive pulmonary disease in the absence of chronic bronchitis in China. *Respirology*. 2010; 15 (7): 1072–1078. DOI: 10.1111/J.1440-1843.2010.01817.X.
7. Carbone M., Ly B., Dodson R., Pagano I., Morris P., Dogan U., Gazdar A., Pass H., Yang H. Malignant mesothelioma: facts, myths, and hypotheses. *J. Cell Physiol.* 2012; 227 (1): 44–58. DOI: 10.1002/jcp.22724.
8. Chu W.M. Tumor necrosis factor. *Cancer Lett.* 2013; 328 (2): 222–225. DOI: 10.1016/j.canlet.2012.10.014.
9. Swardfager W., Lanctôt K., Rothenburg L., Wong A., Cappel J., Herrmann H. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry*. 2010; 68 (10): 930–941. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.06.012.
10. Dowlati Y., Herrmann N., Swardfager W., Liu H., Sham L., Reim E.K., Lanctôt K.L. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol. Psychiatry*. 2010; 67 (5): 446–457. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.09.033.
11. Kim E.Y., Moudgil K.D. Immunomodulation of autoimmune arthritis by pro-inflammatory cytokines. *Cytokine*. 2017; 98: 87–96. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.04.012.
12. Gan W.Q., Man S.P., Senthilselvan A. et al. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax*. 2004; 59 (7): 547–580. DOI: 10.1136/thx.2003.019588.
13. Yang Y., Jing Z., Xin D., Wang S. Association between tumor necrosis factor- $\alpha$  and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2019; 13: 1–4. DOI: 10.1177/1753466619866096.
14. Mosrane Y., Bougrida M., Alloui A.S., Martani M., Rouabah L. Systemic inflammatory profile of smokers with and without COPD. *Rev. Pneumol. Clin.* 2017; 73 (4): 188–198. DOI: 10.1016/j.pneumo.2017.07.003.
15. Jiang D.H., Wang X., Liu L.S. et al. The effect of ventilator mask atomization inhalation of ipratropium bromide and budesonide suspension liquid in the treatment of COPD in acute exacerbation period on circulating levels of inflammation and prognosis. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2017; 21 (22): 5211–5216. DOI: 10.26355/eurrev\_201711\_13843.
16. Boraschi D., Tagliabue A. The interleukin-1 receptor family. *Semin. Immunol.* 2013; 25 (6): 394–407. DOI: 10.1016/j.smim.2013.10.023.
17. Rider P., Carmi Y., Guttman O., Braiman A., Cohen I., Voronov E., White M.R. et al. IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *J. Immunol.* 2011; 187 (9): 4835–4843. DOI: 10.4049/jimmunol.1102048.
18. Dinarello C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011; 117 (14): 3720–3732. DOI: 10.1182/blood-2010-07-273417.
19. Cosio M.G., Majo J., Cosio M.G. Inflammation of the airways and lung parenchyma in COPD: role of T cells. *Chest*. 2002; 121 (5): 160–165. DOI: 10.1378/chest.121.5\_suppl.160s.
20. Pauwels N.S., Bracke K.R., Dupont L.L. et al. Role of IL-1 $\alpha$  and the Nlrp3/caspase-1/IL-1 $\beta$  axis in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and COPD. *Eur. Respir. J.* 2011; 38 (5): 1019–1028. DOI: 10.1183/09031936.00158110.
21. Bafadhel M., McKenna S., Terry S. et al. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: identification of biologic clusters and their biomarkers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184 (6): 662–671. DOI: 10.1164/rccm.201104-0597OC.
22. Zou Y., Chen X., Liu J., Zhou D.B., Kuang X., Xiao J., Yu Q. et al. Serum IL-1 $\beta$  and IL-17 levels in patients with COPD: Associations with clinical parameters. *Int. J. Chronic Obstr. Pulm. Dis.* 2017; 12: 1247–1254. DOI: 10.2147/COPD.S131877.
23. Ozretić P., Filho P., Catalano C., Sokolović I., Vukić-Dugac A., Šutić M. Association of NLRP1 coding polymorphism with lung function and serum IL-1 $\beta$  concentration in patients diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). 2019; 10 (10): 783. DOI: 10.3390/genes10100783.
24. Frago J.M., Delgadillo H., Juárez-Cedillo T., Rodríguez-Pérez J.M., Vallejo M., Pérez-Méndez O. et al. The interleukin 6 -572 G>C (rs1800796) polymorphism is associated with the risk of developing acute coronary syndrome. *Genet. Test Mol. Biomarkers*. 2010; 14 (6): 759–763. DOI: 10.1089/gtmb.2010.0001.
25. Heinrich P.C., Behrmann I., Müller-Newen G., Schaper F., Graeve L. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *The Biochemical Journal*. 1998; 334 (2): 297–314. DOI: 10.1042/bj3340297.
26. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014; 6 (10): 1–4. DOI: 10.1101/cshperspect.a016295.
27. Celli B.R., Locantore N., Yates J., Tal-Singer R., Miller B.E., Bakke P., Calverley P., Coxson H., Crim C. et al. ECLIPSE Investigators. Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 185 (10): 1065–1072. DOI: 10.1164/rccm.201110-1792OC.
28. Donaldson et al. Airway and systemic inflammation and decline in lung function in patients with COPD. *Chest*. 2005; 128 (4): 1995–2004. DOI: 10.1378/chest.128.4.1995.
29. Garcia-Rio F., Miravittles M., Soriano J.B., Munoz L., Duran-Tauleria E., Sanchez G., Sobradillo V., Ancochea J. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: a population-based study. *Respiratory Research*. 2010; 11 (1): 63–77. DOI: 10.1186/1465-9921-11-63.
30. Agustí A., Edwards L.D., Rennard S.I., MacNee W., Tal-Singer R., Miller B.E., Vestbo J. et al. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype. *PLoS One*. 2012; 7 (5): e37483. DOI: 10.1371/journal.pone.0037483.
31. Wei J., Xiong X., Lin Y., Zheng B., Cheng D. Association between serum interleukin-6 concentrations and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Peer J.* 2015; 3: 1199. DOI: 10.7717/peerj.1199.

32. Sabit R., Bolton C.E., Edwards P.H., Pettit R.J., Evans W.D., McEniery C.M. et al. Arterial stiffness and osteoporosis in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007; 175 (12): 1259–1265. DOI: 10.1164/rccm.200701-067OC.
33. Van Helvoort H.A., Heijdra Y.F., Thijs H.M., Vina J., Wanten G.J., Dekhuijzen P.N. Exercise-induced systemic effects in muscle-wasted patients with COPD. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2006; 38 (9): 1543–1552. DOI: 10.1249/01.mss.0000228331.13123.53.
34. Zhang W., Chen H. The study on the interleukin-8. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2002; 19 (4): 697–702.
35. Hébert C.A., Baker J.B. Interleukin-8: a review. *Cancer Invest*. 1993; 11 (6): 743–750. DOI: 10.3109/07357909309046949.
36. De Boer W.L., Sont J.K., van Schadewijk A., Stolk J., van Krieken J.H., Hiemstra P.S. Monocyte chemoattractant protein 1, interleukin 8, and chronic airways inflammation in COPD. *J. Pathol*. 2000; 190 (5): 619–626. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200004)190:5<619::AID-PATH555>3.0.CO;2-6.
37. Govindaraju V., Michoud M.C., Al-Chalabi M., Ferraro P., Powell W.S., Martin J.G. Interleukin-8: novel roles in human airway smooth muscle cell contraction and migration. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2006; 291 (5): 957–965. DOI: 10.1152/ajpcell.00451.2005.
38. Zhang J., Bai C. The significance of serum interleukin-8 in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Tanaffos*. 2018; 17 (1): 13–21.
39. Samuel D., López-Vales R., Wee Yong V. Harmful and beneficial effects of inflammation after spinal cord injury: potential therapeutic implications. *Handbook of Clinical Neurology*. 2012; 109: 485–502. DOI: 10.1016/B978-0-444-52137-8.00030-9.
40. Hector R., Wong J.E., Nowak-Stephen W., de Oliveira C.F. Sepsis. *Pediatric Critical Care*. 2011; 4: 1413–1429. DOI: 10.1016/B978-0-323-07307-3.10103-X.
41. Pestka S., Krause C.D., Sarkar D., Walter M.R., Shi Y., Fisher P.B. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. *Ann. Rev. Immunol*. 2004; 22: 929–979. DOI: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104622.
42. McGeachy M.J., Bak-Jensen K.S., Chen Y., Tato C.M., Blumenschein W., Cua D.J. TGF- $\beta$  and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain TH-17 cell-mediated pathology. *Nat. Immunol*. 2007; 8 (12): 1390–1397. DOI: 10.1038/ni1539.
43. Spits H., De Waal M.R. Functional characterization of human IL-10. *Int. Arch. Allergy Immunol*. 1992; 99 (1): 8–15. DOI: 10.1159/000236329.
44. Couper K.N., Blount D.G., Riley E.M. IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. *J. Immunol*. 2008; 180 (9): 5771–5777. DOI: 10.4049/jimmunol.180.9.5771.
45. LeVan T.D., Romberger D.J., Siahpush M., Grimm B.L. Relationship of systemic IL-10 levels with proinflammatory cytokine responsiveness and lung function in agriculture workers. *Respir. Res*. 2018; 19 (1): 166. DOI: 10.1186/s12931-018-0875-z.
46. Zhang L., Cheng Z., Liu W., Wu K. Expression of interleukin (IL)-10, IL-17A and IL-22 in serum and sputum of stable chronic obstructive pulmonary disease patients. *COPD*. 2013; 10 (4): 459–465. DOI: 10.3109/15412555.2013.770456.
47. Takanashi S., Hasegawa Y., Kanehira Y., Yamamoto K., Fujimoto K., Satoh K., Okamura K. Interleukin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma, COPD and in smokers. *Eur. Respir. J*. 1999; 14 (2): 309–314. DOI: 10.1034/j.1399-3003.1999.14b12.x.
48. Moermans C., Heinen V., Nguyen M., Henket M., Sele J., Manise M., Corhay J.L., Louis R. Local and systemic cellular inflammation and cytokine release in chronic obstructive pulmonary disease. *Cytokine*. 2011; 56 (2): 298–304. DOI: 10.1016/j.cyto.2011.07.010.
49. Figueiredo C.A., Barreto M.L., Alcantara-Neves N.M., Rodrigues L.C., Cooper P.J., Cruz A.A. et al. Coassociations between IL10 polymorphisms, IL-10 production, helminth infection, and asthma/wheeze in an urban tropical population in Brazil. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2013; 131 (6): 1683–1690. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.10.043.
50. Bradford E., Jacobson S., Varasteh J., Comellas A.P., Woodruff P., O’Neal W., DeMeo D.L., Li X., Kim V., Cho M. et al. The value of blood cytokines and chemokines in assessing COPD. *Respir. Res*. 2017; 18 (1): 180. DOI: 10.1186/s12931-017-0662-2.
51. Demeo D.L., Campbell E.J., Barker A.F., Brantly M.L., Eden E., McElvaney N.G. et al. IL10 polymorphisms are associated with airflow obstruction in severe alpha1-antitrypsin deficiency. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2008; 38 (1): 114–120. DOI: 10.1165/rcmb.2007-0107OC.
52. Yoshimura T. The chemokine MCP-1 (CCL2) in the host interaction with cancer: a foe or ally? *Cellular & Molecular Immunology*. 2018; 15 (4): 335–345. DOI: 10.1038/cmi.2017.135.
53. Batiushin M., Gadaborsheva K. Monocyte chemoattractant protein-1: its role in the development of tubulointerstitial fibrosis in nephropathies. *Medical News of the North Caucasus*. 2017; 2: 1–3.
54. Panee J. Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine*. 2012; 60 (1): 1–12. DOI: 10.1016/j.cyto.2012.06.018.
55. Dean R.A., Cox J.H., Bellac C.L., Doucet A., Starr A.E., Overall C.M. Macrophage-specific metalloelastase (MMP-12) truncates and inactivates ELR+ CXC chemokines and generates CCL2, -7, -8, and -13 antagonists: potential role of the macrophage in terminating polymorphonuclear leukocyte influx. *Blood*. 2008; 112 (8): 3455–3464. DOI: 10.1182/blood-2007-12-129080.
56. Di Stefano A., Coccini T., Roda E., Signorini C., Balbi B., Brunetti G., Ceriana P. Blood MCP-1 levels are increased in chronic obstructive pulmonary disease patients with prevalent emphysema. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis*. 2018; 13: 1691–1700. DOI: 10.2147/COPD.S159915.
57. Traves S., Culpitt S., Russell R., Barnes P., Donnelly L. Increased levels of the chemokines GRO $\alpha$  and MCP-1 in sputum samples from patients with COPD. *Thorax*. 2002; 57 (7): 590–595. DOI: 10.1136/thorax.57.7.590.
58. De Boer W.L., Sont J.K., van Schadewijk A., Stolk J., van Krieken J.H., Hiemstra P.S. Monocyte chemoattractant protein 1, interleukin 8, and chronic airways inflammation in COPD. *J. Pathol*. 2000; 190 (5): 619–626. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200004)190:5<619::AID-PATH555>3.0.CO;2-6.

59. Aldonyte R., Jansson L., Piitulainen E. Circulating monocytes from healthy individuals and COPD patients. *Respir. Res.* 2003; 4 (1): 11. DOI: 10.1186/1465-9921-4-11.
60. Mimuro J. Type 1 plasminogen activator inhibitor: its role in biological reactions. *The Japanese Journal of Clinical Hematology.* 1991; 32 (5): 487–489.
61. Борисова Е.П., Кылбанова Е.С., Асекритова А.С. Клинико-генетические особенности сочетания хронического бронхита и хронической обструктивной болезни легких с метаболическим синдромом у якутов. *Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова.* 2014; 11 (4): 1.
62. Lijnen H.R. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *Journal of Thrombosis and Hemostasis.* 2005; 3 (1): 35–45. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2004.00827.x.
63. Binder B.R., Christ G., Gruber F., Grubic N., Hufnagl P., Krebs M., Mihaly J., Prager G.W. Plasminogen activator inhibitor 1: physiological and pathophysiological roles. *News in Physiological Sciences.* 2002; 17: 56–61. DOI: 10.1152/nips.01369.2001.
64. Berberoglu M., Evliyaoglu O., Adiyaman P. et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene polymorphism (-675 4G/5G) associated with obesity and vascular risk in children. *Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2006; 19 (5): 741–748. DOI: 10.1515/jpem.2006.19.5.741.
65. Khavinson V.Kh., Strekalov D.L., Lyshchev A.A. et al. Association analysis of some genetic risk factors for coronary heart disease with indicators of lipid metabolism and arterial pressure. *Kliniko-laboratornyi konsilium.* 2010; 4: 52–53.
66. Wang H., Yang T., Li D. et al. Elevated circulating PAI-1 levels are related to lung function decline, systemic inflammation, and small airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016; 11: 2369–2376. DOI: 10.2147/COPD.S107409.
67. Essa E.S., Wahsh R.A. Association between plasminogen activator inhibitor-1-675 4G/5G insertion/deletion polymorphism and chronic obstructive pulmonary disease. *COPD.* 2016; 13 (6): 756–775. DOI: 10.3109/15412555.2016.1168392.
68. Waschki B., Watz H., Holz O., Magnussen H., Olejnicka B., Welte T., Rabe K.F., Janciauskiene S. Plasminogen activator inhibitor-1 is elevated in patients with COPD independent of metabolic and cardiovascular function. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2017; 12: 981–987. DOI: 10.2147/COPD.S128689.
69. Muller Y.A., Ultsch M.H., de Vos A.M. The crystal structure of the extracellular domain of human tissue factor refined to 1.7. *Journal of Molecular Biology.* 1996; 256 (1): 144–459. DOI: 10.1006/jmbi.1996.0073.
70. Zhang E., Charles R., Tulinsky A. Structure of extracellular tissue factor complexed with factor VIIa inhibited with a BPTI mutant. *Journal of Molecular Biology.* 1999; 285 (5): 2089–2104. DOI: 10.1006/jmbi.1998.2452.
71. Ruf W., Disse J., Carneiro-Lobo T.C., Yokota N., Schaffner F. Tissue factor and cell signalling in cancer progression and thrombosis. *Journal of Thrombosis and Hemostasis.* 2011; 9 (1): 306–315. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04318.x.
72. Sztotowski B., Antoniak S., Poller W. et al. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines. *Circ. Res.* 2005; 96 (12): 1233–1239. DOI: 10.1161/01.RES.0000171805.24799.f.a.
73. Davizon P., Lopez J.A. Microparticles and thrombotic disease. *Curr Opin Hematol.* 2009; 16(5): 334–341. DOI: 10.1097/MOH.0b013e32832ea49c.
74. Osterud B., Bjorklid E. Sources of tissue factor. *Semin. Thromb. Hemost.* 2006; 32 (1): 11–23. DOI: 10.1055/s-2006-933336.
75. Peshkova A.D., Le Minh G., Tutwiler V. et al. Activated monocytes enhance platelet-driven contraction of blood clots via tissue factor expression. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 5149. DOI: 10.1038/s41598-017-05601-9.
76. Chiva-Blanch G., Laake K., Myhre P. et al. Platelet-, monocyte- derived and tissue factor-carrying circulating microparticles are related to acute myocardial infarction severity. *PLoS One.* 2017; 12 (2): 1–3. DOI: 10.1371/journal.pone.0172558.
77. Leatham E.W., Bath P.M., Tooze J.A. et al. Increased monocyte tissue factor expression in coronary disease. *Br. Heart J.* 1995; 73 (1): 10–13. DOI: 10.1136/hrt.73.1.10.
78. Shantsila E., Lip G.Y. The role of monocytes in thrombotic disorders. Insights from tissue factor, monocyte-platelet aggregates and novel mechanisms. *Thromb. Haemost.* 2009; 102(5): 916–924. DOI: 10.1160/TH09-01-0023
79. Brambilla M., Facchinetti L., Canzano P. et al. Human megakaryocytes confer tissue factor to a subset of shed platelets to stimulate thrombin generation. *Thromb. Haemost.* 2015; 114 (3): 579–592. DOI: 10.1160/TH14-10-0830
80. Darbousset R., Thomas G.M., Mezouar S. et al. Tissue factor-positive neutrophils bind to injured endothelial wall and initiate thrombus formation. *Blood.* 2012; 120 (10): 2133–2143. DOI: 10.1182/blood-2012-06-437772
81. De Palma R., Cirillo P., Ciccarelli G. et al. Expression of functional tissue factor in activated T-lymphocytes *in vitro* and *in vivo*: A possible contribution of immunity to thrombosis? *Int. J. Cardiol.* 2016; 218: 188–195. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.04.177
82. Vaidyula V.R., Criner G.J., Grabianowski C., Rao A.K. Circulating tissue factor procoagulant activity is elevated in stable moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thromb. Res.* 2009; 124 (3): 259–261 DOI: 10.1016/j.thromres.2008.12.030
83. Jankowski M., Undas A., Kaczmarek P., Butenas S. Activated factor XI and tissue factor in chronic obstructive pulmonary disease: links with inflammation and thrombin generation. *Thromb. Res.* 2011; 127(3): 242–246. DOI: 10.1016/j.thromres.2010.11.005.
84. Undas A., Jankowski M., Kaczmarek P., Sladek K., Brummel-Ziedins K. Thrombin generation in chronic obstructive pulmonary disease: dependence on plasma factor composition. *Thromb. Res.* 2011; 128(4): 24–28. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.05.004.
85. Szczypiorska A., Czajkowska-Malinowska M., Góralczyk B. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in chronic obstructive pulmonary disease. *Folia Medica Copernicana.* 2015; 3 (1): 32–37.
86. Go A.S., Chertow G.M., Fan D. et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351(13): 1296–1305. DOI: 10.1056/NEJMoa041031.

87. Дранник Г.Н., Майданник В.Г. Роль системы комплемента в физиологических и патологических реакциях организма. *Врачебное дело*. 1989; (4): 69–73.
88. Maidanyk V.G., Bohomolets A.A. The complement system and complement-mediated injury of kidney disease in children. *International Journal of Pediatric, Obstetric and Gynecology*. 2013; 49 (1): 119–134.
89. Holers V.M. Complement and its receptors: new insights into human disease. *Annu. Rev Immunol*. 2014; 32: 433–459. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120154.
90. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. Cellular and molecular. *Immunology*. 2010; 6: 272–288.
91. Serna M., Giles J.L., Morgan B.P., Bubeck D. Structural basis of complement membrane attack complex formation. *Nature Communications Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2016; 7: 10587. DOI: 10.1038/ncomms10587.
92. Héja D., Kocsis A., Dobó J., Szilágyi K., Szász R., Závodszky P., et al. Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. *PNAS USA*. 2012; 109(26): 10498–10503. DOI: 10.1073/pnas.1202588109.
93. Ferreira V.P., Pangburn M.K., Cortés C. Complement control protein factor H: The good, the bad, and the inadequate. *Mol Immunol*. 2010; 47 (13): 2187–2197. DOI: 10.1016/j.molimm.2010.05.007.
94. Strunk R.C., Eidlen D.M., Mason R.J. Pulmonary alveolar type ii epithelial cells synthesize and secrete proteins of the classical and alternative complement pathways. *J Clin. Invest.* 1988; 81: 1419–1426. DOI: 10.1172/JCI113472.
95. Varsano S., Kaminsky M., Kaiser M., Rashkovsky L. Generation of complement c3 and expression of cell membrane complement inhibitory proteins by human bronchial epithelium cell line. *Thorax*. 2000; 55 (5): 364–369. DOI: 10.1136/thorax.55.5.364.
96. Volanakis J.E. Transcriptional regulation of complement genes. *Annu Rev Immunol*. 1995; 13: 277–305. DOI: 10.1146/annurev.iy.13.040195.001425.
97. Westwood J.P., Mackay A., Donaldson G., Machin S., Wedzicha J.A., Scully M. The role of complement activation in COPD exacerbation recovery. *ERJ Open Res*. 2016; 2 (4): 27. DOI: 10.1183/23120541.00027-2016.
98. Chauhan S., Gupta M.K., Goyal A., Dasgupta D.J. Alterations in immunoglobulin and complement levels in chronic obstructive pulmonary disease. *Indian. J. Med. Res.* 1990; 92: 241–245.
99. Mahesh M., Yalamudi M., Lokesh S. Complement levels in chronic obstructive pulmonary disease: correlation with pulmonary function and radiological emphysema score. *International Journal of Scientific Study*. 2016; 3 (12): 284.
100. Kew R.R., Ghebrehwet B., Janoff A. Cigarette smoke can activate the alternative pathway of complement in vitro by modifying the third component of complement. *J. Clin. Invest.* 1985; 75 (3): 1000–1007. DOI: 10.1172/JCI111760.
101. Floreani A.A., Wyatt T.A., Stoner J., Sanderson S.D., Thompson E.G., Allen-Gipson D., Heires A.J. Smoke and c5a induce airway epithelial intercellular adhesion molecule-1 and cell adhesion. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2003; 29 (4): 472–448. DOI: 10.1165/rcmb.2002-0143OC
102. Grumelli S., Lu B., Peterson L., Maeno T., Gerard C. Cd46 protects against chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS ONE*. 2011; 6 (5): 18785. DOI: 10.1371/journal.pone.0018785.

## Сведения об авторах

**Куртуков Евгений Алексеевич**, аспирант, НИИТПМ – филиал ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0001-7837-406X.

**Рагино Юлия Игоревна**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель НИИТПМ – филиала ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-4936-8362.

(✉) **Куртуков Евгений Алексеевич**, e-mail: cawertyy@gmail.com

Поступила в редакцию 02.03.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Роль убиквитин-протеасомной системы в развитии плоскоклеточного рака полости рта

Михалев Д.Е.<sup>1</sup>, Байдик О.Д.<sup>1</sup>, Кондакова И.В.<sup>2</sup>, Сиденко Е.А.<sup>2</sup>, Мухамедов М.Р.<sup>2</sup>, Сысолятин П.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии,  
Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>3</sup> Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)  
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

### РЕЗЮМЕ

Убиквитин-протеасомная система контролирует активность, субклеточную локализацию и стабильность множества клеточных белков, которые влияют на клеточный гомеостаз посредством регуляции сигнальных каскадов. Активность данной системы связана с возникновением и прогрессированием плоскоклеточного рака полости рта, так как специфический протеолиз большинства внутриклеточных протеинов, участвующих в патогенезе рака, происходит с помощью вышеупомянутой системы.

В обзорной статье представлены данные о характеристике протеасом и процессе убиквитинирования белков-субстратов. Показана роль убиквитин-протеасомной системы в патогенезе плоскоклеточного рака полости рта, приведены сведения о перспективах использования ее при предраке. Поиск литературы осуществлялся в поисковых системах Medline, Elibrary, Scopus, The Cochrane Library, РИНЦ.

**Ключевые слова:** убиквитин-протеасомная система, плоскоклеточный рак полости рта, протеасома, патогенез.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Михалев Д.Е., Байдик О.Д., Кондакова И.В., Сиденко Е.А., Мухамедов М.Р., Сысолятин П.Г. Роль убиквитин-протеасомной системы в развитии плоскоклеточного рака полости рта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 160–167. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-160-167>.

---

## Role of the ubiquitin-proteasome system in the progression of oral squamous cell carcinoma

Mikhalev D.E.<sup>1</sup>, Baydik O.D.<sup>1</sup>, Kondakova I.V.<sup>2</sup>, Sidenko E.A.<sup>2</sup>, Mukhamedov M.R.<sup>2</sup>, Sysolyatin P.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University (SSMU)  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (TNRMC) of the Russian Academy of Science 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> Novosibirsk State Medical University (NSMU) 52, Krasny Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

## ABSTRACT

The ubiquitin-proteasome system (UPS) controls the activity, subcellular localization, and stability of many cellular proteins that affect cellular homeostasis by regulating multiple signaling cascades. The activity of this system is associated with the emergence and progression of oral squamous cell carcinoma, since specific proteolysis of most intracellular proteins involved in the pathogenesis of cancer is implemented by this system.

The review article presents data on the characteristics of proteasomes and the process of substrate protein ubiquitination. The role of the ubiquitin-proteasome system in the pathogenesis of oral squamous cell carcinoma is shown, and the prospects of its use in precancerous diseases are described. The literature search was carried out in the search engines Medline, eLIBRARY, Scopus, The Cochrane Library, and RSCI.

**Key words:** ubiquitin-proteasome system, oral squamous cell carcinoma, proteasome, pathogenesis.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Mikhalev D.E., Baydik O.D., Kondakova I.V., Sidenko E.A., Mukhamedov M.R., Sysolyatin P.G. Role of the ubiquitin-proteasome system in the progression of oral squamous cell carcinoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 160–167. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-160-167>.

## ВВЕДЕНИЕ

Плоскоклеточный рак полости рта (ПКПР) характеризуется высокой смертностью, ранним возникновением метастазов, рецидивов и поздним обращением пациентов в специализированные учреждения. Главной причиной смертности пациентов с ПКПР выступают метастазы в региональные лимфатические узлы шеи и рецидивы заболевания. Для прогнозирования течения и выбора подхода к лечению руководствуются распространенностью опухолевого процесса, однако связь последней с исходом заболевания и эффективностью проводимого лечения не всегда прослеживается [1]. В некоторых случаях клинико-морфологические критерии малоинформативны.

Согласно статистике, около 25% пациентов на начальных стадиях злокачественного процесса имеют скрытые метастазы в региональные лимфатические узлы. Поиск информативных и надежных маркеров плоскоклеточной агрессии является важным направлением по улучшению результатов прогнозирования и лечения онкологических пациентов [2]. В настоящее время в научной литературе описано множество белков, участвующих в патогенезе ПКПР и контролирующих индукцию ангиогенеза, процессы апоптоза и метастазирования. Специфический протеолиз большинства данных пептидов происходит с помощью убиквитин-протеасомной системы (УПС) [3].

## ХАРАКТЕРИСТИКА УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНОЙ СИСТЕМЫ

УПС осуществляет образование регуляторных пептидов и активацию белков-предшественников, обеспечивает гидролиз внутриклеточных белков, принимает участие в подготовке пептидов для комплекса гистосовместимости I класса (МНС-1) [4]. Основными компонентами УПС являются протеасомы, молекулы убиквитина и ферменты, активирующие и переносящие убиквитин. Функциональной единицей данной системы является протеасома.

Протеасомы – основные нелизосомальные мультисубъединичные протеазы эукариот, гидролизуют до 90% клеточных белков. Протеасомы представляют собой мультикаталитические комплексы, содержащие цилиндрическое ядро 20S, которое состоит из четырех гетерогептамерных колец [5]. Два внутренних β-кольца содержат шесть протеолитических центров, где субстраты расщепляются; каждое кольцо обладает каспазоподобной (β1), трипсиноподобной (β2) и химотрипсиноподобной (β5) активностями [6].

Субъединицы β1, β2 и β5 протеасомы 20S могут быть полностью или частично заменены так называемыми иммуносубъединицами LMP7 (β5i), LMP2(β1i) и MECL1 (β2i), в результате чего образуется иммунопротеасома [7]. Основная роль иммунопротеасомы заключается в обработке антигенов для представления на молекулах МНС I. Иммунопротеасома имеет более высокую химотрипсиновую и

трипсиновую активность и более низкую – каспазную, чем стандартная протеасома 20S, что приводит к альтернативному расщеплению белков [8].

Два внешних кольца состоят из  $\alpha$ -субъединиц, которые действуют как привратники, контролирующие доступ субстратов в каталитически активную  $\beta$ -камеру. Протеасомы не являются статическими комплексами, и их активность можно модулировать путем связывания различных активаторов протеасом (АП): 19S, PA28 и PA200. Эти регуляторы протеасом могут симметрично и асимметрично связываться с  $\alpha$ -кольцами ядра 20S, образуя протеасомы с одинарной или двойной крышкой. Связывание  $\alpha$ -колец с активаторами приводит к усилению активности протеасомы во много раз. Тем не менее свободная 20S протеасомная единица остается очень распространенной конформацией в клетках [9–12].

Выделяют два типа протеасом: 26S и 20S. Основная гидролизующая 26S протеасома состоит из двух субкомплексов: каталитической коровой частицы 20S и одной или двух концевых регуляторных частиц 19S, которые служат в качестве активатора протеасомы с молекулярной массой приблизительно 700 кДа (PA700). 19S субкомплекс распознает убиквитинированные белки, разворачивает их и перемещает внутрь 20S коровой частицы [13–15]. Иммунные формы 26S-протеасом выполняют важную функцию – продукцию иммуногенных белков для их дальнейшей презентации МНС-I [15]. Регуляторные частицы реализуют специфичную деградацию субстратов. Например, если в роли регуляторной частицы выступает белковый комплекс PA28, то данная активированная 20S-протеасома будет подвергаться протеолизу аномальные, малые и короткоживущие белки [14].

## УБИКВИТИРОВАНИЕ

Вход в коровую 20S-протеасому обычно закрыт регуляторной частицей, выполняющей роль привратника. Для проникновения внутрь протеасомы белок-субстрат должен пройти полиубиквитинирование – присоединение полиубиквитиновой цепи (полиUb), в состав которой входят минимум четыре мономера убиквитина (Ub). Далее следуют АТФ-зависимая активация убиквитина убиквитин-активирующим ферментом (E1), перенос активированного убиквитина на убиквитин-конъюгирующий фермент (E2), а затем образование изопептидной связи между убиквитином и белком-субстратом, катализируемое убиквитин-лигазой (E3). Процесс повторяется несколько раз с целью создания цепи полиубиквитина за счет межубиквитиновых связей. В ходе нескольких циклов убиквитинирования белков происходит наращивание

убиквитиновой метки, которую распознает 26S протеасома.

Распознавание субстратов 26S протеасомами и продвижение их в протеолитическую камеру происходит за счет мультисубъединичной структуры активатора PA700. После связывания с регулятором PA700 протеасома цепь убиквитина отщепляется от убиквитинированного белка-субстрата, белок разворачивается и затем перемещается в центральную камеру протеасомы 20S, где он разрушается до коротких пептидов, которые затем выходят на противоположном полюсе протеасомы.

После завершения протеолиза маркированной молекулы убиквитин освобождается и метит другую мишень. Протеасома способна регулировать как количество, так и функции белков: в некоторых случаях белок подвергается ограниченному протеолизу (процессингу), что способствует существенному изменению функции белка (рис. 1). Киназы, фосфатазы, факторы транскрипции, трансляции, циклины, ингибиторы циклинзависимых киназ (CDK) подвергаются процессингу или элиминируются протеасомой. Данная ключевая биологическая роль УПС предполагает, что она вовлечена в патофизиологические процессы воспалительных, вирусных, нейродегенеративных, аутоиммунных и онкологических заболеваний [6].

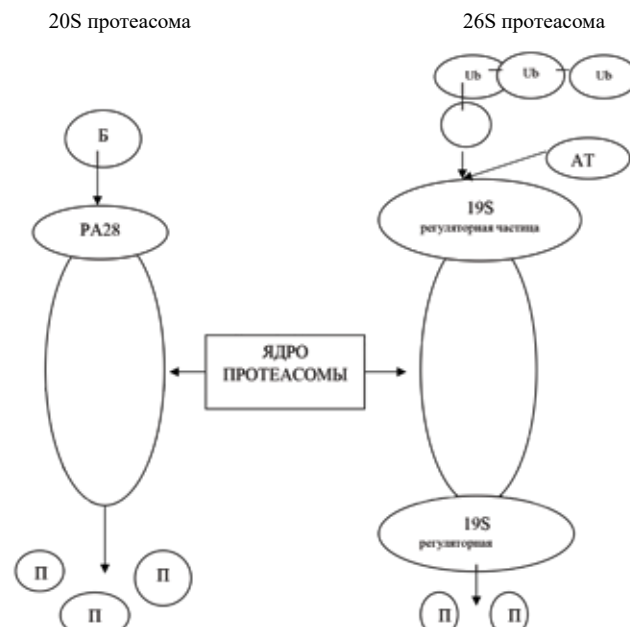


Рис. 1. Убиквитинирование белков

## ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ПРОТЕАСОМЫ

В настоящее время активно исследуется проблема циркулирующих протеасом: обсуждаются патогенетическая и прогностическая значимость данных протеасом, их биологическое значение и пути выхо-

да во внеклеточное пространство. Используя метод иммуноферментного анализа, 20S протеасомы были обнаружены в сыворотке крови человека. В настоящее время такие протеасомы называют циркулирующими, или с-протеасомами. Установлено, что с-протеасомы определяются в внеклеточных жидкостях здоровых людей и пациентов с патологией [16].

По результатам количественной протеомики на основе iTRAQ выявлено, что состав внеклеточной популяции протеасом включал в себя регуляторные частицы 19S и коровые 20S протеасомы [17]. Кроме того, с-протеасомы, полученные из плазмы крови здоровых пациентов, по размеру, форме, субъединичному составу и протеолитической активности сходны с внутриклеточными 20S протеасомами, выделенными из эритроцитов [18, 19]. Как показала электронная микроскопия, очищенные с-протеасомы представляют собой интактные 20S протеасомные частицы, которые способны гидролизировать флуорогенные пептиды и ингибироваться под воздействием лакацитина [18, 20].

Принимая во внимание важную роль протеасомной системы в патогенезе злокачественных новообразований, можно допустить, что при опухолевых процессах протеасомы способны секретироваться раковыми клетками во внеклеточное пространство или выходить в циркуляцию при распаде опухолевых клеток [21]. Более того, с-протеасомы могут появляться при разрушении микрочастиц, образованных в результате мембранного блеббинга. Данный процесс характеризуется попаданием содержимого цитоплазматической мембраны в мембранные выступы и последующим формированием из активированных клеток везикул, который представляют собой микрочастицы гетерогенного размера 0,1–1 мкм с соответствующим содержимым. Вышеупомянутые структуры, транспортируя различные молекулы, могут выполнять роль мессенджеров между клетками [22, 23].

С-протеасомы могут существовать в свободной невезикулярной форме, способны жить во внеклеточном пространстве, выходя из экзосом. Экзосомами являются микроскопические внеклеточные везикулы диаметром 30–100 нм, секретлируемые различными клетками и способные нести генетическую информацию и белковые маркеры, таким образом, они принимают участие в межклеточной коммуникации [24]. Считается, что экзосомы участвуют в презентации антигенов и неклассической секреции белков, в патогенезе болезней, связанных с расстройствами метаболизма, облегчают иммунный ответ и играют принципиальную роль в развитии злокачественных опухолей [25–27].

## РОЛЬ УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНОЙ СИСТЕМЫ В МОЛЕКУЛЯРНОМ ПАТОГЕНЕЗЕ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ПОЛОСТИ РТА

26S протеасомы играют значимую роль в патогенезе злокачественных опухолей, в частности в регуляции пролиферации. Циклины путем последовательной активации CDK регулируют продвижение клетки по клеточному циклу. Данные внутриклеточные белки очень нестабильны и существуют краткосрочный период. Количество и присутствие циклинов в клетке регулируются протеасомозависимой деградацией и факторами транскрипции. УПС участвует в регуляции стабильности CDK-ингибиторов и гидролизе циклинов, их комплексов [28].

Общая схема взаимодействия циклина и 26S протеасомы выглядит следующим образом: после выполнения своей функции циклин полиубиквитинируется и гидролизруется протеасомой, из-за чего соответствующая ему CDK становится неактивной, и начинается следующая фаза клеточного цикла. К примеру, протеасомное разрушение циклина В приводит к выходу из митоза [29]. При прохождении клетки через точку рестрикции, находящуюся между фазой G1 и S-фазой, происходит протеасомное разрушение циклина А. Комплекс стимуляции анафазы (APC), который является E3-убиквитинлигазой, осуществляет убиквитинирование данного циклина [30]. Комплексы SCF и APC представляют собой ключевые факторы деградации циклинов. Вместе с тем сам комплекс SCF регулируется APC через убиквитинирование адаптерного белка Skp2, который подавляет активность SCF до перехода из фазы G1 в S-фазу [31].

Проведенные исследования сообщают, что циклин D1 избыточно экспрессируется в ряде первичных раковых заболеваний человека, что подтверждает его роль в качестве онкогена. Во многих опухолях генетические изменения, затрагивающие ген циклин D1, часто приводят к сверхэкспрессии белка циклин D1. Установлено, что циклин D1 также действует как модулятор транскрипции, регулируя активность нескольких факторов транскрипции и гистондеацетилазы. Белок циклин D1 нестабилен с коротким периодом полураспада, около 24 мин. Он расщепляется, главным образом, 26S протеасомой по убиквитин-зависимому пути. Вместе с тем циклин D1 является важным протоонкогеном. Сверхэкспрессия циклина D1 приводит к сокращению фазы G1 и меньшей зависимости от экзогенных митогенов, что влечет за собой аномальную пролиферацию клеток, а это может способствовать возникновению дополнительных генетических повреждений [32].

УПС играет важное значение в поддержании функциональной активности клеток, а именно в регуляции работы сигнальных систем, которые активируются при взаимодействии ростовых факторов с соответствующими рецепторами [33]. Показано, что протеасомы регулируют уровень фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, который важен для активации экспрессии генов врожденного и адаптивного иммунитета, воспалении, стрессовых ответах. В раковых клетках NF- $\kappa$ B участвует в экспрессии антиапоптотического семейства генов *IAP*, а также генов выживания *BCL-2* [34]. Проведенные исследования показывают, что активность протеасом у пациентов с злокачественными опухолями головы и шеи выше, чем в окружающей относительно нормальной ткани.

Существуют доказательства того, что у пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи поражение регионарных лимфоузлов сопровождалось усилением процессов внутриклеточного протеолиза. Повышение тотальной активности протеасом происходило с увеличением стадии опухоли, при этом наблюдалось снижение экспрессии LMP-2 субъединицы протеасом. Были обнаружены изменения экспрессии транскрипционного фактора NF- $\kappa$ Bp50 и регрессионные зависимости экспрессии ядерного фактора NF- $\kappa$ Bp65 от тотальной активности протеасом [35].

Механизмы участия УПС в канцерогенезе включают ингибирование опосредованного VEGF и PDGF ангиогенеза через деградацию PDGFR и убиквитинирование компонентов VEGFR сигнального пути, а также протеасомальное разрушение  $\alpha$ -субъединицы транскрипционного фактора HIF-1, которое нарушается в условиях гипоксии, что впоследствии приводит к накоплению HIF-1 в опухолевых клетках и активации транскрипции участвующих в ангиогенезе генов [36, 37]. Существуют исследования, доказывающие, что протеасомы принимают участие в посттрансляционной модификации полипептида p105, который является предшественником NF- $\kappa$ Bp50, что ведет к возникновению активных форм транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. Продемонстрирована зависимость между уровнем продукции фактора HIF1 и содержанием транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, что, скорее всего, обеспечивает косвенное участие NF- $\kappa$ Bp50 в регуляции уровня ростового фактора VEGF и процесса неоангиогенеза в ткани плоскоклеточного рака головы и шеи [35]. Проведенное исследование показывает, что протеасомная деградация HIF-1 с участием PP-2A ведет к нарушению адгезивных контактов с экстраклеточным матриксом *in vitro* [37].

УПС может играть важную роль в получении трансформированными клетками невосприимчивости к антиростовым сигналам, деградируя наравне с каспазами белок гена ретинобластомы pRb (retinoblastoma protein) при участии убиквитин-лигазы Mdm2 (mouse double minute 2) и разрушая многие компоненты сигнального пути, опосредованного рост-ингибирующим цитокином TGF- $\beta$  [38]. Вдобавок УПС участвует в регуляции апоптоза. Многие ядерные белки, осуществляющие программируемую клеточную гибель, являются субстратами для протеасом: опухолевый супрессор p53, транскрипционные факторы (c-Fos, c-Myc, AP-1), ингибитор NF $\kappa$ B I $\kappa$ B, белки, контролирующие клеточный цикл, белки, контролирующие активность каспаз (IAPs) и участвующие в проведении проапоптотического сигнала (cFLIP), белки семейства Bcl-2 [39].

### УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНАЯ СИСТЕМА ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПОЛОСТИ РТА

Накопленные данные подтверждают, что УПС играет ключевую роль в метаболизме белков, участвующих в регуляции многих биологических процессов, таких как контроль клеточного цикла, пролиферация, апоптоз, неоангиогенез, прогрессирование и метастазирование опухоли [40]. Анализ систематических обзоров литературы на платформах PubMed, EMBASE, EBM и Web of Science, проведенный A. Villa и соавт. в 2018 г. с целью выявления прогностических биомаркеров для стратификации и долгосрочного наблюдения за прогрессированием оральной лейкоплакии как облигатного предрака плоскоклеточных карцином, показал связь между увеличением экспрессии генов, связанных с протеасомной системой, с высоким риском развития ПКПР [41].

Исследование, проведенные J. Li и соавт., показывают, что сверхэкспрессия активатора протеасом PA28 $\gamma$  связана с неблагоприятным прогнозом у пациентов с ПКПР и способствует прогрессированию опухоли. Кроме того, по результатам исследования на модели ксенотрансплантата мыши было обнаружено, что отсутствие экспрессии PA28 $\gamma$  резко ингибирует рост, пролиферацию клеток в плоскоклеточном раке полости рта и замедляет рост опухоли [42].

Протеомное исследование, проведенное Z. Wang и соавт. с целью выявления потенциальных путей злокачественной трансформации лейкоплакии полости рта в плоскоклеточную карциному, показало увеличение экспрессии активаторов протеасом PA28a и PA28b, что подтверждает клиническую значимость протеасом как маркера ранней малигнизации. Данное

исследование продемонстрировало роль протеасомной деградации белков в процессинге внутриклеточных антигенов в пептиды, которые в дальнейшем связываются с молекулами МНС I [43].

РА28γ-опосредованные механизмы имеют большое значение для терапии рака, особенно в свете глубоко повышенных уровней РА28γ в опухолевой ткани. Значительное повышение уровня РА28γ наблюдалось, в основном, при опухоли молочной железы, особенно с плохим прогнозом [44, 45], колоректальном раке [46], гепатоцеллюлярной карциноме [47] и плоскоклеточном раке полости рта [48].

Исследования, результаты которых были представлены Х. Feng и соавт. в 2016 г., показывают, что активность активатора протеасомы РА28α была существенно выше в тканях ПКПР по сравнению с его активностью в нормальной ткани. Данное исследование продемонстрировало, что при иммуногистохимии экспрессия РА28α увеличивается со степенью прогрессирования дисплазии в эпителии слизистой оболочки полости рта. Установлено, что после оперативного лечения умеренно дифференцированного плоскоклеточного рака не возникало рецидивов в первые 2 года, однако после радикального лечения высоко дифференцированной опухоли через 2 года диагностировались метастазы в шейные лимфоузлы и выживаемость составила 4 года.

В рамках вышеупомянутого исследования авторы использовали методы обратной генетики, которые позволили выявить, что у клеток ПКПР с снижением экспрессии РА28α наблюдалось последовательное и статистически значимое уменьшение способности к инвазии и миграции. Инвазия была снижена до 52%, а миграция до 44%. Подавление экспрессии РА28α приводило к уменьшению роста опухоли клеток ПКПР *in vivo*. Объем опухолей уменьшился на 56% по сравнению с опухолями из контрольной группы, при этом процессы ангиогенеза и апоптоза не были затронуты [49].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

УПС играет ключевую роль в патогенезе плоскоклеточных карцином полости рта на этапах начала малигнизации и последующей опухолевой прогрессии. Последние исследования функционирования протеасом при ПКПР продемонстрировали их ключевую роль в молекулярных механизмах развития данного заболевания. Дальнейшее изучение протеасомной системы в патогенезе ПКПР позволит найти достоверные маркеры прогнозирования развития рака полости рта из прекарцинозной патологии и оценить характер течения заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Чойнзонов Е.Л., Спирина Л.В., Кондакова И. В., Чижевская С.Ю., Шишкин Д.А., Кульбакин Д.Е. Прогностическая значимость определения активности протеасом в тканях плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Бюллетень СО РАМН*. 2014; 34 (4): 103–108.
2. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Прогнозирование метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Вопросы онкологии*. 2012; 58 (1): 26–32.
3. Voutsadakis I.A. Ubiquitination and the ubiquitin – proteasome system in the pathogenesis and treatment of squamous head and neck carcinoma. *Anticancer Research*. 2013; 33 (9): 3527–3542.
4. Lub S., Maes K., Menu E., Bruyne E., Vanderkerken K., Valkenborgh. E. Novel strategies to target the ubiquitin proteasome system in multiple myeloma. *Oncotarget*. 2016; 7 (6): 6521–6537. DOI: 10.18632/oncotarget.6658.
5. Harshbarger W., Miller C., Diedrich C., Sacchettini J. Crystal structure of the human 20S proteasome in complex with carfilzomib. *Structure*. 2015; 23 (2): 418–424. DOI: 10.1016/j.str.2014.11.017.
6. Сорокин А.В., Ким Е.Р., Овчинников Л.П. Протеасомная система деградации и процессинга белков. *Успехи биологической химии*. 2009; 49: 3–76.
7. Sijts E.J., Kloetzel P.M. The role of the proteasome in the generation of MHC class I ligands and immune responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2011; 68 (9): 1491–1502. DOI: 10.1007/s00018-011-0657-y.
8. Guimaraes G., Gomes M., Campos P.C., Marinho F.V., de Assis N., Silveira T.N., Oliveira S.C. Immunoproteasome subunits are required for CD8+ T cell function and host resistance to brucella abortus infection in mice. *Infection and Immunity*. 2018; 86 (3): e00615–00617. DOI: 10.1128/IAI.00615-17.
9. Mao I., Liu J., Li X., Luo H. REGγ, a proteasome activator and beyond? *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2008; 65 (24): 3971–3980. DOI: 10.1007/s00018-008-8291-z.
10. Savulescu A.F., Glickman M.H. Proteasome activator 200: the heat is on. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2011; 10 (5): R110.006890. DOI: 10.1074/mcp.R110.006890.
11. Liu C.W., Jacobson A.D. Functions of the 19S complex in proteasomal degradation. *Trends in Biochemical Sciences*. 2013; 38 (2): 103–110. DOI: 10.1016/j.tibs.2012.11.009.
12. Cascio P. PA28αβ: the enigmatic magic ring of the proteasome? *Biomolecules*. 2014; 4 (2): 566–584. DOI: 10.3390/biom4020566.
13. Sharova N., Zakharova L. Multiple forms of proteasomes and their role in tumor fate. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic Immune Drug Discovery*. 2008; 2: 152–161. DOI: 10.2174/187221408786241847.
14. Tanaka K. The proteasome: overview of structure and function. *The Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2009; 85: 12–36. DOI: 10.2183/pjab.85.12.
15. Шарова Н.П., Астахова Т.М., Карпова Я.Д., Абатурова С.Б., Люпина Ю.В., Богомякова Ю.В., Абрамова Е.Б., Ерохов П.А. Множественные формы протеасом как объекты для разработки новых противоопухолевых лекарств. *Онкохирургия*. 2011; 3 (2): 37–42.

16. Schliessmann S.S., Cicko S., Thomassen J., Anlasik T., Müller T., Idzko M., Zissel G., Sixt S.U. Acute smoke exposure decreases bronchial extracellular proteasome concentration. *The European Respiratory Journal*. 2011; 38: 737.
17. Зайкова Ю.Я., Куличкова В.А., Ермолаева Ю.Б., Боттринг А., Барлев Н.А., Цимоха А.С. Характеристика внеклеточных протеасом и ассоциированных с ними белков методом iTRAQ-масс-спектрометрии. *Цитология*. 2013; 55 (2): 111–122.
18. Sixt S.U., Beiderlinden M., Jennissen H.P., Peters J. Extracellular proteasome in the human alveolar space: a new house-keeping enzyme? *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2007; 292 (2): 1280–1288. DOI: 10.1152/ajplung.00140.2006.
19. Bochmann I., Ebstein F., Lehmann A., Wohlschlaeger J., Sixt S.U., Kloetzel P.M., Dahmann B. T lymphocytes export proteasomes by way of microparticles: a possible mechanism for generation of extracellular proteasomes. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2014; 18 (1): 59–68. DOI: 10.1111/jcmm.12160.
20. Зайкова Ю.Я., Куличкова В.А., Ермолаева Ю.Б., Гаузе Л.Н., Цимоха А.С. Сравнительный анализ вне- и внутриклеточных протеасом клеток человека линии K562. *Цитология*. 2011; 53 (6): 459–465.
21. Van Zijl F., Krupitza G., Mikulits W. Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration. *Mutation Research*. 2011; 728 (1-2): 23–34. DOI: 10.1016/J.MRREV.2011.05.002.
22. Tang K., Liu J., Yang Z., Zhang B., Zhang H., Huang C., Ma J., Shen G.X., Ye D., Huang B. Microparticles mediate enzyme transfer from platelets to mast cells: a new pathway for lipoxin A4 biosynthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010; 400 (3): 432–436. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.08.095.
23. Yuan A., Farber E.L., Rapoport A.L., Tejada D., Deniskin R., Akhmedov N.B., Farber D.B. Transfer of microRNAs by embryonic stem cell microvesicles. *PLoS One*. 2009; 4 (3): 4722. DOI: 10.1371/journal.pone.0004722.
24. Юнусова Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А., Молчанов С.В. Протеасомы и экзосомы при раке яичников: связь с особенностями клинического течения и прогнозом. *Сибирский онкологический журнал*. 2014; (4): 53–59.
25. Штамм Т.А., Нарыжный С.Н., Ланда С.Б., Бурдаков В.С., Артамонова Т.О., Филатов М.В. Получение и анализ экзосом, секретируемых злокачественно трансформированными клетками человека в системах *in vitro*. *Цитология*. 2012; 54 (5): 430–438.
26. Keller S., König A.-K., Marme F., Runz S., Wolterink S., Koensgen D., Mustea A., Schouli J., Altevogt P. Systemic presence and tumor-growth promoting effect of ovarian carcinoma released exosomes. *Cancer Letters*. 2009; 278 (1): 73–81. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.12.028.
27. Rupp A.-K., Rupp C., Keller S., Brase J.C., Eehalt R., Fogel M., Moldenhauer G., Marmé F., Sültmann H., Altevogt P. Loss of EpCAM expression in breast cancer derived serum exosomes: role of proteolytic cleavage. *Gynecologic Oncology*. 2011; 122 (2): 437–446. DOI: 10.1016/j.ygy.2011.04.035.
28. Tu Y., Chen C., Pan J., Xu J., Zhou Z.-G., Wang C.-Y. The ubiquitin proteasome pathway (UPP) in the regulation of cell cycle control and DNA damage repair and its implication in tumorigenesis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2012; 5 (8): 726–738.
29. Bassermann F., Eichner R., Pagano M. The ubiquitin proteasome system – implications for cell cycle control and the targeted treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014; 1843 (1): 150–162. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.02.028.
30. Borg N.A., Vishva M.D. Ubiquitin in cell-cycle regulation and dysregulation in cancer. *Annual Review of Cancer Biology*. 2017; 1: 59–77. DOI: 10.1146/annurev-cancer-bio-040716-075607.
31. Skaar J.R., Pagano M. Control of cell growth by the SCF and APC/C ubiquitin ligases. *Current Opinion in Cell Biology*. 2009; 21 (6): 816–824. DOI: 10.1016/j.ceb.2009.08.004.
32. Alao J.P. The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic intervention. *Molecular Cancer*. 2007; 6: 24. DOI: 10.1186/1476-4598-6-24.
33. Huang Q., Figueiredo-Pereira M.E. Ubiquitin/proteasome pathway impairment in neurodegeneration: therapeutic implications. *Apoptosis: an International Journal on Programmed Cell Death*. 2010; 15 (11): 1292–1311. DOI: 10.1007/s10495-010-0466-z.
34. Thibautaud T.A., Smith D.M. A practical review of proteasome pharmacology. *Pharmacological Reviews*. 2019; 71 (2): 170–197. DOI: 10.1124/pr.117.015370.
35. Spirina L.V., Kondakova I.V., Choyznov E.L., Chigevskaya S.Y., Shishkin D.A., Kulbakin D.Y. Expression of vascular endothelial growth factor and transcription factors HIF-1, NF-κB expression in squamous cell carcinoma of head and neck; Association with proteasome and calpain activities. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 2013; 139 (4): 625–633. DOI: 10.1007/s00432-012-1366-0.
36. Spirina L.V., Yunusova N.V., Kondakova I.V., Koloмиets L.A., Koval V.D., Chernyshova A.L., Shpileva O.V. Association of growth factors, HIF1 and NF-κB expression with proteasomes in endometrial cancer. *Molecular Biology Reports*. 2012; 39 (9): 8655–8662. DOI: 10.1007/s11033-012-1720-y.
37. Rahimi N. The ubiquitin-proteasome system meets angiogenesis. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2012; 11 (3): 538–548. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0555.
38. Glasgow E., Mishra L. Transforming growth factor-beta signaling and ubiquitinators in cancer. *Endocrine-Related Cancer*. 2008; 15 (1): 59–72. DOI: 10.1677/ERC-07-0168.
39. Цимоха А.С. Протеасомы: участие в клеточных процессах. *Цитология*. 2010; 52 (4): 277–300.
40. Jang H.H. Regulation of protein degradation by proteasomes in cancer. *Journal of Cancer Prevention*. 2018; 23 (4): 153–161. DOI: 10.15430/JCP.2018.23.4.153.
41. Villa A., Celentano A., Glurich I., Borgnakke W.S., Jensen S.B., Peterson D.E., Delli K., Ojeda D. Vissink A., Farah C.S. World workshop on oral medicine vii: prognostic biomarkers in oral leukoplakia: a systematic review of longitudinal studies. *Oral Diseases*. 2019; 25 (Suppl. 1): 64–78. DOI: 10.1111/odi.13087.

42. Li J., Feng X., Sun C., Zeng X., Xie L., Xu H., Li T., Wang R., Xu X., Zhou X., Zhou M., Zhou Y., Dan H., Wang Z., Ji N., Deng P., Liao G., Geng N., Wang Y., Zhang D., Lin Y., Ye L., Liang X., Li L., Luo G., Jiang L., Wang Z., Chena Q. Associations between proteasomal activator PA28 $\gamma$  and outcome of oral squamous cell carcinoma: Evidence from cohort studies and functional analyses. *EBioMedicine*. 2015; 2 (8): 851–858. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.07.004.
43. Wang Z., Feng X., Liu X., Jiang L., Zeng X., Ji N., Li J., Li L., Chen Q. Involvement of potential pathways in malignant transformation from oral leukoplakia to oral squamous cell carcinoma revealed by proteomic analysis. *BMC Genomics*. 2009; 10: 383. DOI: 10.1186/1471-2164-10-383.
44. Wang X., Tu S., Tan J., Tian T., Ran L., Rodier J.F., Ren G. REG gamma: a potential marker in breast cancer and effect on cell cycle and proliferation of breast cancer cell. *Medical Oncology*. 2011; 28 (1): 31–41. DOI: 10.1007/s12032-010-9546-8.
45. Chai F., Liang Y., Bi J., Chen L., Zhang F., Cui Y., Bian X., Jiang J. High expression of REGgamma is associated with metastasis and poor prognosis of patients with breast cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2014; 7 (1): 7834–7843.
46. Arlt A., Bauer I., Schafmayer C., Tepel J., Sebens Muerkoster S., Brosch M., Roder C., Kalthoff H., Hampe J., Moyer M.P., Folsch U.R., Schäfer H. Increased proteasome subunit protein expression and proteasome activity in colon cancer relate to an enhanced activation of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2). *Oncogene*. 2009; 28 (45): 3983–3996. DOI: 10.1038/onc.2009.264.
47. Kondo M., Moriishi K., Wada H., Noda T., Marubashi S., Wakasa K., Matsuura Y., Doki Y., Mori M., Nagano H. Up-regulation of nuclear PA28gamma expression in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2012; 3 (3): 379–385. DOI: 10.3892/etm.2011.415.
48. Kontos C.K. Surrogate prognostic biomarkers in OSCC: The paradigm of PA28gamma overexpression. *EBioMedicine*. 2015; 2 (8): 784–785. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.07.032.
49. Xiaodong F., Yuchen J., Liang X., Lu J., Jing L., Chongkui S., Hao X., Ruinan W., Min Z., Yu Z., Dan H., Zhiyong W., Ning J., Peng D., Ga L., Ning G., Yun W., Dunfang Z., Yunfeng L., Qianming C. Overexpression of proteasomal activator PA28 $\alpha$  serves as a prognostic factor in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2016; 35: 35. DOI: 10.1186/s13046-016-0309-z.

## Вклад авторов

Михалев Д.Е. – разработка концепции статьи, составление черновика рукописи. Байдик О.Д. – разработка концепции статьи, анализ статьи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания. Кондакова И.В., Сиденко Е.А., Мухамедов М.Р., Сысолятин П.Г. – анализ статьи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

## Сведения об авторах

**Михалев Дмитрий Евгеньевич**, аспирант, кафедра стоматологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-5899-3872.

**Байдик Ольга Дмитриевна**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4748-4175.

**Кондакова Ирина Викторовна**, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0947-8778.

**Сиденко Евгения Александровна**, аспирант, лаборатория биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5838-9459.

**Мухамедов Марат Рафкатович**, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение опухолей головы и шеи, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1555-050X.

**Сысолятин Павел Гаврилович**, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, кафедра госпитальной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-4045-2664.

(✉) **Михалев Дмитрий Евгеньевич**, e-mail: dm199412@gmail.com

Поступила в редакцию 20.11.2020

Подписана в печать 21.01.2021

## Патоморфологические и молекулярно-генетические особенности диффузного типа рака желудка

Михалева Л.М., Мидибер К.Ю., Печникова В.В., Васюкова О.А., Гуцин М.Ю.

Научно-исследовательский институт (НИИ) морфологии человека  
Россия, 117418, г. Москва, ул. Цурюпы, 3

### РЕЗЮМЕ

Рак желудка (РЖ) занимает пятое место в мире по распространенности среди всех злокачественных новообразований и является третьей по значимости причиной смертности от онкологических заболеваний. РЖ является мультифакториальным, морфологически неоднородным заболеванием. В настоящее время используется несколько морфологических классификаций РЖ, однако для постановки диагноза требуется учитывать не только морфологический тип опухоли, но и ее молекулярный подтип. По данным литературы, РЖ интестинального типа чаще всего ассоциирован с действием факторов окружающей среды и, как правило, встречается в старших возрастных группах у мужчин. Диффузный тип рака желудка (ДТРЖ) является в большей степени генетически детерминированным заболеванием и чаще встречается у более молодых пациентов, при этом с одинаковой частотой среди мужчин и женщин.

В данном обзоре подробно освещается тема РЖ, его классификация по Р.А. Lauren (1965), его молекулярным подтипы, охарактеризованные в Атласе ракового генома (The Cancer Genome Atlas), а также рассматривается влияние определенных факторов риска на патогенез заболевания, таких как инфицирование *H. pylori* или вирусом Эпштейна – Барр. Отдельную роль в данной аналитической работе занимает вопрос экспрессии опухолевыми клетками маркера PD-L1 и использование данного параметра для прогнозирования и терапии этого заболевания. Немаловажной частью работы является обсуждение особенностей интестинального и диффузного типов рака желудка, которые отражают не только различия используемых в современной диагностике классификаций, но и взаимосвязь патоморфологической картины с молекулярным подтипом рака желудка.

**Ключевые слова:** рак желудка диффузного типа, эпидемиология, молекулярно-генетическая диагностика, классификация, иммунотерапия.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках государственного задания НИИ морфологии человека (№ АААА-А19-119021590053-6).

**Для цитирования:** Михалева Л.М., Мидибер К.Ю., Печникова В.В., Васюкова О.А., Гуцин М.Ю. Патоморфологические и молекулярно-генетические особенности диффузного типа рака желудка. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 168–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-168-175>.

## Pathomorphological and molecular genetic features of diffuse gastric cancer

Mikhaleva L.M., Midiber K.Yu., Pechnikova V.V., Vasyukova O.A., Gushchin M.Yu.

Research Institute of Human Morphology  
3, Tsuruyupy Str., Moscow, 117418, Russian Federation

### ABSTRACT

Gastric cancer (GC) is the 5th most common type of cancer in the world and the third leading cause of death from cancer. GC is a multi-factorial and morphologically heterogeneous disease. Currently, several morphological classifications of GC are used, however, for diagnosis, it is necessary to take into account not only the morphological type of the tumor, but also its molecular subtype. According to the literature, the intestinal type of GC is most often associated with effects of environmental factors and is usually found in older age groups in men, while diffuse gastric cancer (DGC) is a genetically determined disease which is more common in younger patients, with the same frequency among men and women.

This review covers in detail GC, its classification by P.A. Lauren (1965), and its molecular subtypes characterized during the Cancer Genome Atlas project and examines the impact of certain risk factors on the pathogenesis of the disease, such as: *H. pylori* infection or Epstein – Barr virus. A separate section in this analytical work is dedicated to expression of the PD-L1 marker by tumor cells and the use of this parameter for prognosis and therapy of this disease. An essential part of the work is discussion of the features of intestinal and diffuse types of gastric cancer, which reflect not only the differences in classifications used in modern diagnosis, but also the relationship between the pathological pattern and the molecular subtype of gastric cancer.

**Key words:** diffuse gastric cancer, epidemiology, molecular genetic diagnosis, classification, immunotherapy.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was performed as part of the state assignment of the Research Institute of Human Morphology (No. AAAA-A19-119021590053-6).

**For citation:** Mikhaleva L.M., Midiber K.Yu., Pechnikova V.V., Vasyukova O.A., Gushchin M.Yu. Pathomorphological and molecular genetic features of diffuse gastric cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 168–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-168-175>.

### ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка (РЖ) занимает пятое место в мире по распространенности среди всех злокачественных новообразований и является третьей по значимости причиной смертности от онкологических заболеваний. Заболеваемость и смертность различаются в зависимости от географического региона. В таких странах, как Япония, Китай, Корея, Чили, РЖ занимает первое место по заболеваемости и смертности [1]. В России за 2018 г. диагноз «рак желудка» впервые был установлен у 21 279 мужчин и 15 662 женщин, средний возраст пациентов составил 67,5 лет, заболеваемость – 25,4 на 100 тыс. населения. В 2017 г. в России от злокачественных новообразований желудка умерло 16 572 человека, средний возраст 68,7 лет, смертность на 100 тыс. населения составила 18,97 [2].

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ

В 1965 г. Р.А. Lauren предложил классификацию РЖ, в которой выделяют интестинальный (кишечный), диффузный и смешанные гистотипы [3]. Рак желудка является мультифакториальным, морфологически неоднородным заболеванием. Например, РЖ интестинального типа чаще всего ассоциирован с действием факторов окружающей среды (диета, курение, ожирение, употребление алкоголя) и инфицированностью *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) [4], что, в свою очередь, приводит к развитию хронического гастрита, за которым следует атрофический гастрит, кишечная метаплазия, дисплазия и карцинома через каскад Correa [5].

Интестинальный тип чаще встречается в старших возрастных группах у мужчин и макроскопически обычно представлен опухолью с экзофитным

типом роста, тенденцией к изъязвлению, а микроскопически состоит из клеток, формирующих железы. Диффузный тип рака желудка (ДТРЖ) менее связан с факторами окружающей среды и воспалительными заболеваниями, роль *H. pylori* в патогенезе ДТРЖ в настоящее время остается дискутабельной. Однако в ряде исследований, проведенных в Великобритании и Японии, доказано наличие *H. pylori* вне опухолевой ткани примерно в 32% случаев у пациентов моложе 40 лет с морфологическим подтвержденным ДТРЖ [6].

Считается, что ДТРЖ является в большей степени генетически детерминированным заболеванием, связанным с потерей гетерозиготности в хромосоме p17, мутацией/потерей гетерозиготности p53 и мутацией или потерей E-кадгерина [7]. ДТРЖ чаще встречается у более молодых пациентов, при этом с одинаковой частотой среди мужчин и женщин. На долю всех случаев ДТРЖ приходится около 1–3% случаев с доказанным наследственным генетическим синдромом, который вызывает мутацию в гене E-кадгерина (*CDH1*), расположенном в 16-й хромосоме, – наследственный ДТРЖ. Для этой категории пациентов рекомендуется выполнение гастрэктомии в виде метода профилактического лечения [8].

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ РАКА ЖЕЛУДКА

По данным Атласа ракового генома, существуют четыре молекулярных подтипа РЖ [9]:

1. Ассоциированный с вирусом Эпштейна – Барр (EBV-ассоциированный), на долю которого приходится около 9% случаев рака.
2. Обусловленный микросателлитной нестабильностью (MSI), на этот подтип приходится около 22% случаев рака.
3. Со стабильным геномом (GS), около 20% случаев рака.
4. Обусловленный хромосомной нестабильностью (CIN), на последний подтип приходится около 50% случаев рака.

*EBV-ассоциированный молекулярный подтип РЖ (Epstein – Barr Virus Positive Gastric Cancer).* Вирус Эпштейна – Барр (EBV) – это человеческий γ-герпесвирус, который имеет тропность к лимфатической системе и обладает возможностью пожизненно персистировать в организме человека. Учитывая лимфотропность EBV, после проникновения в В-лимфоциты вирус вызывает их неконтролируемую пролиферацию. EBV также имеет выраженную тропность к слизистой оболочке желудка, которая в первую очередь связана с ее развитой лимфатической системой [10–12].

Международное агентство по изучению рака (IARC) относит EBV к 1-й группе канцерогенов. По данным ряда исследователей, только латентная инфекция EBV может быть ассоциирована с различными типами неоплазий и гематобластомами человека.

Впервые EBV-ассоциированная аденокарцинома желудка была описана А.Р. Burke в 1990 г. Известно, что примерно у 90 тыс. человек ежегодно развивается EBV-ассоциированная карцинома желудка, что составляет примерно 10% от всех случаев рака желудка [13]. Взаимодействие *H. pylori* и EBV до конца не изучено, однако не вызывает сомнений, что у группы пациентов с отсутствием в анамнезе инфицирования *H. pylori* или прошедших успешную эрадикацию возбудителя EBV может являться ведущим фактором хронического воспаления в слизистой оболочке желудка и угрозой возникновения злокачественных новообразований [14–16].

*РЖ, обусловленный микросателлитной нестабильностью (Microsatellite Unstable Gastric Cancer, MSI).* Микросателлитная нестабильность (microsatellite instability, MSI) – фенотип, характеризующийся повышенной вероятностью возникновения мутаций в результате нарушения системы репарации ошибочно спаренных оснований ДНК. В результате нарушения репарации в клетках возникают накопления ошибок при репликации ДНК, что приводит к появлению новых микросателлитных повторов.

При использовании стандартной панели, в которую входят BAT26 и BAT27 моноклеотидные и D2S123, D5S346 и D17S250 динуклеотидные повторы [17], микросателлитную нестабильность можно разделить на три уровня: высокий уровень MSI (MSI-H), низкий уровень MSI (MSI-L) и микросателлитная стабильность (MSS). По данным литературы, MSI-H ассоциированная карцинома в зависимости от этнической группы встречалась в 5–50% случаев, а в отношении MSI-L- и MSS-ассоциированных карцином известно, что они чаще локализируются в антральном отделе желудка, по гистологической классификации Lauren относятся к интестинальному типу и имеют хороший прогноз с редким метастазированием по сравнению с MSI-H [18].

*РЖ со стабильным геномом (Genomically Stable Gastric Cancer, GS).* РЖ со стабильным геномом отличается более низкой мутационной нагрузкой по сравнению с другими молекулярными подтипами и возникает в относительно молодом возрасте. Для этой молекулярной подгруппы характерен диффузный гистологический тип по Lauren, а также большое количество мутаций в RhoA и CDH1 (как уже было сказано ранее, CDH1 связан с наследственным ДТРЖ).

*РЖ, обусловленный хромосомной нестабильностью (Chromosomal Instability Gastric Cancer, CIN).* Хромосомная нестабильность – один из видов геномной нестабильности, при которой в дочерних поколениях делящихся клеток наблюдаются неклональные изменения кариотипа, а именно потери или приобретения хромосом и их участков. Для раков с хромосомной нестабильностью характерна крайне высокая частота хромосомных аномалий и высокое их разнообразие [19]. При РЖ высокий уровень CIN всегда ассоциирован с плохим прогнозом.

В исследовании, проведенном A.J. Bass и соавт. [9], был соотнесен молекулярный подтип РЖ с его локализацией. Каждый молекулярный подтип РЖ мог иметь любую локализацию, однако CIN-ассоциированные опухоли чаще встречались в желудочно-пищеводном соединении и кардии (65%). Большинство EBV-ассоциированных опухолей обнаруживались в дне или теле желудка (62%). MSI-ассоциированные опухоли реже определялись в желудочно-пищеводном соединении и кардии, однако с примерно одинаковой частотой встречались в других отделах желудка. GS-опухоли примерно с одинаковой частотой встречались во всех отделах желудка, в основном этот подтип был представлен ДТРЖ по Lauren. При этом GS-опухоли диагностировались в более раннем возрасте (средний возраст составил 59 лет), тогда как MSI-ассоциированные – в относительно более старшем возрасте (средний возраст 72 года). Пациенты с MSI-ассоциированными опухолями, как правило, были женщинами (56%), а большинство случаев EBV-ассоциированных опухолей выявлено у мужчин (81%).

## PD-L1 И РАК ЖЕЛУДКА

PD1 (Programmed cell death 1) – мембранный белок надсемейства иммуноглобулинов, участвующий в клеточной дифференцировке иммунных клеток. PD-1 играет важную роль в отрицательной регуляции иммунной системы посредством предотвращения активации Т-лимфоцитов, что снижает аутоиммунность и повышает аутоотолерантность [20]. Белок имеет два лиганда: PD-L1 и PD-L2. У опухолевых клеток, экспрессирующих PD-L1, данный лиганд участвует в механизмах ускользания опухоли от иммунного контроля. Определение экспрессии PD-L1 дает возможность выделить группу пациентов, которые с наибольшей вероятностью дадут положительный ответ на терапию ингибиторами иммунных контрольных точек. Достаточно хороший результат в исследованиях по PD-L1 достигнут в отношении немелкоклеточного рака легкого.

Связь между экспрессией PD-L1 и прогнозом в РЖ все еще является предметом многочисленных споров. По данным исследования C. Boger и соавт. [21], выявлено улучшение прогноза заболевания у пациентов с PD-L1-позитивными опухолевыми клетками. Однако по данным H. Chang и соавт. [22], высокая экспрессия PD-L1 является неблагоприятным прогностическим фактором, а A. Kawazoe и соавт. [23] отрицают PD-L1 как прогностический фактор в принципе. Важно учитывать, что все вышеприведенные данные были получены от пациентов азиатской этнической группы и поэтому результаты не могут быть применимы в общей популяции, так как реакция на лекарственные вещества в разных этнических группах может быть неодинакова.

По данным эксперимента C. Ma и соавт. [24] и S. Derks и соавт. [25], EBV- и MSI-ассоциированные РЖ чаще всего демонстрировали резко положительную экспрессию PD-L1, или сверхэкспрессию PD-L1, что является значительным неблагоприятным прогностическим фактором. Другое исследование [9] показало, что в молекулярной подгруппе EBV- и MSI-ассоциированных РЖ определялась выраженная лимфоцитарная инфильтрация в опухолевой строме. Поэтому данные подтипы могут быть классифицированы как РЖ с выраженной лимфоидной стромой (медуллярная карцинома). Лимфоидная строма в этих опухолях имеет большое количество CD8+ Т-клеток, способных вызывать сильный противоопухолевый воспалительный ответ. Кроме того, положительная экспрессия PD-L1 была связана со значительным увеличением количества CD8+ Т-клеток по краю инвазивного фронта опухоли.

S. Derks и соавт. [25] также наблюдали разницу в характере инфильтрации PD-L1-положительных клеток в зависимости от молекулярного подтипа опухоли. В EBV- и MSI-ассоциированных карциномах желудка PD-L1 положительные клетки имели способность проникать в центр опухолевого процесса, в отличие от MSS карцином желудка, в которых PD-L1 положительные клетки оставались в основном по краю области инвазии опухоли. Опираясь на полученный результат, пациенты с EBV- и MSI-ассоциированными карциномами желудка могут быть основными кандидатами для терапии ингибиторами PD-1.

По данным H. Saito и соавт. [26], пятилетняя выживаемость у пациентов с положительной экспрессией PD-L1 и без нее отличалась на 48,9 и 80,7% соответственно. Кроме того, PD-L1 положительная экспрессия наблюдалась в старшей возрастной группе пациентов, а по гистологическому типу положительная экспрессия чаще выявлялась в недифференцированных карциномах желудка.

L. Wang и соавт. в своем исследовании [27] изучали корреляцию между HER2 статусом и экспрессией PD-L1. У HER2-положительных пациентов была положительная экспрессия PD-L1 в 24,2% случаев, в то время как у HER2-негативных пациентов положительная экспрессия PD-L1 наблюдалась в 39,0% случаев. Исходя из полученных данных, HER2-негативные пациенты могут стать лучшими кандидатами на анти-PD-1 направленную терапию. Однако авторы обращают внимание на ложноположительные результаты, которые были связаны с техникой взятия биопсии: выраженная экспрессия PD-L1 выявлена по краю инвазивного фронта опухоли, а не в ее центре.

H. Fukamachi и соавт. [28], на основании исследования ДТРЖ по профилям экспрессии генов, выделяют два кластера ДТРЖ. Первый кластер представлен ДТРЖ со стабильным геномом (GS), который можно трактовать как «первичный» ДТРЖ. Второй кластер представлен ДТРЖ с микросателлитной (MSI) и хромосомной нестабильностью (CIN), который определяется авторами как ДТРЖ, развившийся из интестинального типа. Помимо этого, был проведен анализ экспрессии mTOR и PD-L1 в каждом отдельном кластере, который показал более выраженную экспрессию во втором кластере (MSI и CIN). Исходя из этих данных можно предположить, что у группы пациентов с ДТРЖ, который развивался из интестинального типа, возможно применение ингибиторов mTOR и PD1 для лечения.

## HELICOBACTER PYLORI И ДИФфуЗНЫЙ ТИП РАКА ЖЕЛУДКА

Международное агентство по изучению рака классифицировало *H. pylori* как канцероген I группы (сильный канцероген) в 1994 г. [29, 30]. Первоначально считалось, что инфекция *H. pylori* в основном связана с интестинальным типом РЖ, в то время как для диффузного типа в основе патогенеза больше рассматривали генетические аномалии. Однако если не рассматривать случаи наследственного ДТРЖ, то в многочисленных исследованиях сообщается о существенной роли *H. pylori* и вируса Эпштейна – Барр в возникновении sporadического ДТРЖ [31–33]. Серологические исследования также подтвердили, что *H. pylori* связан с обоими гистологическими типами рака желудка.

Ряд исследований показал, что пациенты с низким титром *H. pylori* IgG более склонны к развитию интестинального типа РЖ, в то время как пациенты с высоким титром *H. pylori* IgG имеют высокий риск развития ДТРЖ [34–36]. Имеются данные о том, что *H. pylori* способен ингибировать факторы, ответ-

ственные за клеточную адгезию и тем самым участвовать в патогенезе ДТРЖ. Y. Yang и соавт. продемонстрировали расщепление E-кадгерина штаммами *H. pylori* SS1 и 26695. Обнаружено, что штамм SS1 более эффективно расщепляет E-кадгерин через 12 и 24 ч [37]. После проникновения *H. pylori* в эпителий желудка происходит нефосфорилированное связывание CagA с E-кадгерином, которое ведет к разделению комплекса E-кадгерина и  $\beta$ -катенина и вызывает накопление  $\beta$ -катенина в цитоплазме и ядре, что в конечном итоге активирует  $\beta$ -катенин-зависимый ген, участвующий в прогрессировании рака [38]. Аберрантная активация  $\beta$ -катенина нарушает нормальные апикально-соединительные комплексы, что приводит к потере клеточной полярности [39].

## МОРФОЛОГИЯ ДИФфуЗНОГО ТИПА РАКА ЖЕЛУДКА

В ходе исследования H.E. Lee и соавт. [40] были выявлены различия в морфологии наследственного и sporadического ДТРЖ. На основании материала, представленного 11 случаями гастрэктомии у больных с наследственным ДТРЖ и генетически подтвержденной мутацией в гене *CDH1*, морфологически клетки опухоли были разделены на три группы.

Первая группа – хорошо дифференцированные «большие (перстневидные) клетки» с большим количеством цитоплазмы, маленьким ядерно-цитоплазматическим соотношением, уплощенные и эксцентрично расположенными ядрами с умеренно выраженной атипией, которые располагались под поверхностным эпителием и у которых также была выявлена позитивная экспрессия к муцикармину, pCEA и негативная экспрессия к p16 и CDX2.

Вторая группа – хорошо дифференцированные «малые (перстневидные) клетки» с меньшим количеством цитоплазмы, с более округлыми и гиперхромными ядрами с выраженными признаками атии и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Располагались такие клетки в собственной пластике слизистой оболочки, в них определялась негативная экспрессия к муцикармину, pCEA, p16 и CDX2.

Третья группа – плоходифференцированные «малые (перстневидные) клетки» с положительной экспрессией к p16 и негативной – к CDX2. В качестве контрольной группы был использован материал 20 случаев гастрэктомии при sporadическом ДТРЖ, для них не выделено особенностей в морфологии, однако отмечена позитивная экспрессия к p16 и CDX2.

В работе H.H. Wong и P. Chu [41] рассмотрены особенности иммуногистохимической диагностики в группе злокачественных новообразований желу-

дочно-кишечного тракта. В отношении ДТЖЗ по Lauren были представлены данные о положительной экспрессии к CDX-2, CK7, HerPar-1 примерно в 70% случаев, около половины случаев были с положительной экспрессией к CK20, MUC2, MUC5AC. Также была выявлена отрицательная экспрессия к MUC1 и E-кадгерину. Морфологические случаи низкодифференцированной аденокарциномы с выраженной лимфоузловой инфильтрацией, по данным авторов, могут быть положительными к EBV.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время важна не только своевременная диагностика РЖ, но и персонализированный подход к каждому пациенту. Крайне важным аспектом диагностики (верификации) является комплексный подход к изучению операционного материала с использованием традиционных методов исследования на светопрозрачном уровне с обязательным окрашиванием материала с помощью реактива Шиффа с ализариновым синим и подсчетом количества перстневидных клеток, выраженным в процентах, определения *H. pylori*, иммуногистохимического исследования с использованием панели антител (CDX-2, CK7, CK20, HerPar-1, MUC1, MUC2, MUC5AC, HER2, mTOR, PD-L1, E-кадгерина).

Обязательным является молекулярно-генетическое исследование материала для определения молекулярного подтипа РЖ и соотнесение полученных данных с экспрессией таких антител, как HER2, PD-L1 и mTOR, для более точного определения когорты пациентов, которым может быть показана терапия ингибиторами mTOR и PD1. Только подобный всеобъемлющий подход в диагностике рака желудка может дать специалистам более точное понимание болезни и может помочь в выборе тактики лечения таких пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer incidence in five continents. IARC Press, 1996.
2. Злокачественные новообразования в России в 2018 году; под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019: 250.
3. Laurén P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1965; 64: 31–49. DOI: 10.1111/apm.1965.64.1.31.
4. Binh T.T., Tuan V.P., Dung H.D.Q., Tung P.H., Tri T.D., Thuan N.P.M., Khien V.V., Hoan P.Q., Suzuki R., Uchida T. et al. Advanced non-cardia gastric cancer and *Helicobacter pylori* infection in Vietnam. *Gut Pathog.* 2017; 9: 46. DOI: 10.1186/s13099-017-0195-8.
5. Correa P. Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process—first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Res.* 1992; 52 (24): 6735–6740.
6. Fischbach W., Chan A., Wong B. *Helicobacter pylori* and gastric malignancy. *Helicobacter.* 2005; 10: 34–39. DOI: 10.1111/j.1523-5378.2005.00338.x.
7. Белкофев А.В., Решетников О.В., Курилович С.А., Максимов В.Н. Рак желудка: современные молекулярно-генетические данные (обзор литературы). *Сибирский онкологический журнал.* 2014; 2 (62): 56–64.
8. World cancer report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015.
9. Bass A., Thorsson V., Shmulevich I., Reynolds S.M., Miller M., Bernard B. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014; 513 (7517): 202–209. DOI: 10.1038/nature13480.
10. Grinstein S., Preciado M.V., Gattuso P., Chabay P.A., Warren W.H., De Matteo E., Gould V.E. Demonstration of Epstein-Barr virus in carcinomas of various sites. *Cancer Res.* 2002 Sept. 1; 62 (17): 4876–4878.
11. Tajima M., Komuro M., Okinaga K. Establishment of Epstein-Barr virus-positive human gastric epithelial cell lines. *Jpn J. Cancer Res.* 1998; 89 (3): 262–268. DOI: 10.1111/j.1349-7006.1998.tb00557.x
12. Zhang Y., Molot R. Severe gastritis secondary to Epstein-Barr viral infection. Unusual presentation of infectious mononucleosis and associated diffuse lymphoid hyperplasia in gastric mucosa. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2003; 127 (4): 478–480. DOI: 10.1043/0003-9985(2003)127.
13. Uozaki H., Fukayama M. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma – viral carcinogenesis through epigenetic mechanisms. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2008; 1 (3): 198–216.
14. Кононов А.В. Гетерогенность воспалительного ответа в популяции при *Helicobacter pylori*-инфекции. *Педиатрия.* 2002; 2: 124–130.
15. Кононов А.В. Молекулярно-клеточные основы взаимодействия *Helicobacter pylori* и хозяина. Инфект удален – что дальше? *Омский научный вестник.* 2002; 21: 17–28.
16. Кононов А.В., Мозговой С.И., Ливзан М.А., Предвечная И.К., Новикова Л.Д. Обратное развитие морфологических признаков при основных вариантах хронического гастрита в условиях эрадикации *Helicobacter pylori*. *Архив патологии.* 2005; 67 (3): 17–21.
17. Boland C.R., Thibodeau S.N., Hamilton S.R., Sidransky D., Eshleman J.R., Burt R.W., Meltzer S.J., Rodriguez-Bigas M.A., Fodde R., Ranzani G.N., Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998; 58 (2): 5248–5257.
18. Corso G., Pedrazzani C., Marrelli D., Pascale V., Pinto E., Roviello F. Correlation of microsatellite instability at multiple loci with long-term survival in advanced gastric carcinoma. *Arch. Surg.* 2009; 144 (8): 722–727. DOI: 10.1001/archsurg.2009.42.
19. Geigl J., Obenaus A.C., Schwarzbach T., Speicher M.R. Defining ‘chromosomal instability. *Trends Genet.* 2008; 24 (2): 64–69. DOI: 10.1016/j.tig.2007.11.006.

20. Mamalis A., Garcha M., Jagdeo J. Targeting the PD-1 pathway: a promising future for the treatment of melanoma. *Arch. Dermatol. Res.* 2014; 306 (6): 511–519. DOI: 10.1007/s00403-014-1457-7.
21. Boger C., Behrens H.M., Mathiak M., Kruger S., Kalthoff H., Rocken C. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients. *Oncotarget.* 2016; 7 (17): 24269–24283. DOI: 10.18632/oncotarget.8169.
22. Chang H., Jung W.Y., Kang Y., Lee H., Kim A., Kim H.K., Shin B.K., Kim B.H. Programmed death-ligand 1 expression in gastric adenocarcinoma is a poor prognostic factor in a high CD8+ tumor infiltrating lymphocytes group. *Oncotarget.* 2016; 7 (49): 80426–80434. DOI: 10.18632/oncotarget.12603.
23. Kawazoe A., Kuwata T., Kuboki Y., Shitara K., Nagatsuma A.K., Aizawa M., Yoshino T., Doi T., Ohtsu A., Ochiai A. Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein-Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients. *Gastric Cancer.* 2017; 20 (3): 407–415. DOI: 10.1007/s10120-016-0631-3.
24. Ma C., Patel K., Singhi A.D., Ren B., Zhu B., Shaikh F., Sun W. Programmed death-ligand 1 expression is common in gastric cancer associated with Epstein-Barr virus or microsatellite instability. *Am. J. Surg. Pathol.* 2016; 40 (11): 1496–1506. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000698.
25. Derks S., Liao X., Chiaravalli A.M., Xu X., Camargo M.C., Solcia E., Sessa F., Fleitas T., Freeman G.J., Rodig S.J., Rabkin C.S., Bass A.J. Abundant PD-L1 expression in Epstein-Barr virus-infected gastric cancers. *Oncotarget.* 2016; 7 (22): 32925–32932. DOI: 10.18632/oncotarget.9076.
26. Saito H., Kono Y., Murakami Y., Shishido Y., Kuroda H., Matsunaga T., Fukumoto Y., Osaki T., Ashida K., Fujiwara Y. Highly activated PD-1/PD-L1 pathway in gastric cancer with PD-L1 expression. *Anticancer Res.* 2018; 38 (1): 107–112. DOI: 10.21873/anticancer.12197.
27. Wang L., Zhang Q., Ni S., Tan C., Cai X., Huang D., Sheng W. Programmed death-ligand 1 expression in gastric cancer: correlation with mismatch repair deficiency and HER2-negative status. *Cancer Med.* 2018; 7 (6): 2612–2620. DOI: 10.1002/cam4.1502.
28. Fukumachi H., Kim S.K., Koh J., Lee H.S., Sasaki Y., Yamashita K. et al. A subset of diffuse-type gastric cancer is susceptible to mTOR inhibitors and checkpoint inhibitors. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019; 38 (1): 127. DOI: 10.1186/s13046-019-1121-3.
29. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, 7–14 June 1994. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 1994; 61: 1–241.
30. IARC *Helicobacter pylori* working group. *Helicobacter pylori* eradication as a strategy for preventing gastric cancer. Lyon, France 2014: IARC working group reports, No. 8
31. Uemura N., Okamoto S., Yamamoto S., Matsumura N., Yamaguchi S., Yamakido M., Taniyama K., Sasaki N., Schlemper R.J. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345 (11): 784–789. DOI: 10.1056/NEJMoa001999.
32. Komoto K., Haruma K., Kamada T., Tanaka S., Yoshihara M., Sumii K., Kajiyama G., Talley N.J. *Helicobacter pylori* infection and gastric neoplasia: correlations with histological gastritis and tumor histology. *Am. J. Gastroenterol.* 1998; 93 (8): 1271–1276. DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.00408.x.
33. Nishibayashi H., Kanayama S., Kiyohara T., Yamamoto K., Miyazaki Y., Yasunaga Y., Shinomura Y., Takeshita T., Takeuchi T., Morimoto K., Matsuzawa Y. *Helicobacter pylori*-induced enlarged-fold gastritis is associated with increased mutagenicity of gastric juice, increased oxidative DNA damage, and an increased risk of gastric carcinoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2003; 18 (12): 1384–13891. DOI: 10.1046/j.1440-1746.2003.03192.x.
34. Watanabe M., Kato J., Inoue I., Yoshimura N., Yoshida T., Mukoubayashi C., Deguchi H., Enomoto S., Ueda K., Maekita T., Iguchi M., Tamai H., Utsunomiya H., Yamamichi N., Fujishiro M., Iwane M., Tekeshita T., Mohara O., Ushijima T., Ichinose M. Development of gastric cancer in nonatrophic stomach with highly active inflammation identified by serum levels of pepsinogen and *Helicobacter pylori* antibody together with endoscopic rugal hyperplastic gastritis. *Int. J. Cancer.* 2012 Dec. 1; 131 (11): 2632–2642. DOI: 10.1002/ijc.27514.
35. Tatemichi M., Sasazuki S., Inoue M., Tsugane S. Clinical significance of IgG antibody titer against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter.* 2009; 14 (3): 231–236. DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00681.x.
36. Lee J.Y., Gong E.J., Chung E.J., Park H.W., Bae S.E., Kim E.H., Kim J., Do Y.S., Kim T.H., Chang H.S., Song H.J., Choe J., Jung H.Y. The characteristics and prognosis of diffuse-type early gastric cancer diagnosed during health check-ups. *Gut and Liver.* 2017; 11 (6): 807–812. DOI: 10.5009/gnl17033.
37. Yang Y., Du J., Liu F., Wang X., Li X., Li Y. Role of caspase-3/E-cadherin in *Helicobacter pylori*-induced apoptosis of gastric epithelial cells. *Oncotarget.* 2017; 8 (35): 59204–59216. DOI: 10.18632/oncotarget.19471.
38. Oliveira M.J., Costa A.M., Costa A.C., Ferreira R.M., Sampaio P., Machado J.C., Seruca R., Mareel M., Figueiredo C. CagA associates with c-Met, E-cadherin, and p120-catenin in a multiprotein complex that suppresses *Helicobacter pylori*-induced cell-invasive phenotype. *J. Infect. Dis.* 2009; 200 (5): 745–755. DOI: 10.1086/604727.
39. Bagnoli F., Buti L., Tompkins L., Covacci A., Amieva M.R. *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2005; 102 (45): 16339–16344. DOI: 10.1073/pnas.0502598102.
40. Lee H.E., Smyrk T.C., Zhang L. Histologic and immunohistochemical differences between hereditary and sporadic diffuse gastric carcinoma. *Human Pathology.* 2018; 74: 64–72. DOI: 10.1016/j.humpath.2017.12.023.
41. Wong H.H., Chu P. Immunohistochemical features of the gastrointestinal tract tumors. *J. Gastrointest. Oncol.* 2012; 3 (3): 262–284. DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.019.

## Вклад авторов

Михалева Л.М., Мидибер К.Ю. – разработка концепции и дизайна. Печникова В.В., Васюкова О.А. – анализ и интерпретация данных. Михалева Л.М. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Михалева Л.М., Мидибер К.Ю., Печникова В.В., Васюкова О.А., Гуцин М.Ю. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Сведения об авторах

**Михалева Людмила Михайловна**, д-р мед. наук, профессор, зав. патологоанатомическим отделением, директор НИИ морфологии человека, г. Москва. ORCID 0000-0003-2052-914X.

**Мидибер Константин Юрьевич**, врач-патологоанатом, науч. сотрудник, лаборатория клинической морфологии, НИИ морфологии человека, г. Москва. ORCID 0000-0002-1426-968X.

**Печникова Валентина Викторовна**, врач-патологоанатом, мл. науч. сотрудник, лаборатория клинической морфологии, НИИ морфологии человека, г. Москва. ORCID 0000-0001-5896-4556.

**Васюкова Олеся Александровна**, врач-патологоанатом, мл. науч. сотрудник, лаборатория клинической морфологии, НИИ морфологии человека, г. Москва. ORCID 0000-0001-6068-7009.

**Гуцин Михаил Юрьевич**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической морфологии, НИИ морфологии, г. Москва. ORCID 0000-0002-1041-8561.

(✉) **Мидибер Константин Юрьевич**, e-mail: midiberkonst@gmail.com

Поступила в редакцию 27.01.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Особенности апоптоза и блеббинга цитоплазматической мембраны лимфоцитов при бронхиальной астме

**Соловьева И.А.<sup>1,2</sup>, Демко И.В.<sup>1,2</sup>, Собко Е.А.<sup>1,2</sup>, Крапошина А.Ю.<sup>1,2</sup>, Гордеева Н.В.<sup>1,2</sup>, Аникин Д.А.<sup>1</sup>, Аникина Д.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого

Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

<sup>2</sup> Краевая клиническая больница

Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3а

### РЕЗЮМЕ

С учетом стойкой общемировой тенденции к нарастанию численности больных бронхиальной астмой (БА) за последние десятилетия перед исследователями встает задача всестороннего изучения патогенеза бронхиальной астмы. В многочисленных исследованиях доказано, что течение БА сопряжено с длительной персистенцией лейкоцитов (лимфоцитов, макрофагов, эозинофилов) в тканях бронхов. Однако остается открытым вопрос о причинах данного явления. В данной статье представлен обзор современных научных исследований, посвященных изучению механизмов нарушения апоптоза лимфоцитов у больных бронхиальной астмой.

Рассматриваются основные механизмы молекулярной регуляции апоптоза лимфоцитов, например транскрипционные факторы, система Fas/FasL, факторы bcl-2/bcl-XL и др. Приводятся данные об участии снижения апоптоза лимфоцитов в формировании фенотипа с тяжелым течением бронхиальной астмы. Учитывая высокую распространенность ожирения среди больных бронхиальной астмой, проанализированы немногочисленные статьи, касающиеся апоптоза иммунокомпетентных клеток при ожирении. Кроме того, в статье освещаются ключевые механизмы развития блеббинга цитоплазматической мембраны (ЦПМ) с формированием лимфоцитарных микровезикул, а также их влияние на течение патологических процессов при астме.

Авторы считают, что дальнейшее углубленное изучение процессов апоптоза и некроза лимфоцитов, а также блеббинга ЦПМ сможет помочь в улучшении принципов диагностики и лечения бронхиальной астмы.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, ожирение, апоптоз лимфоцитов, программируемая клеточная гибель, каспазы, блеббинг цитоплазматической мембраны.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Соловьева И.А., Демко И.В., Собко Е.А., Крапошина А.Ю., Гордеева Н.В., Аникин Д.А., Аникина Д.А. Особенности апоптоза и блеббинга цитоплазматической мембраны лимфоцитов при бронхиальной астме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 176–183. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-176-183>.

## Features of apoptosis and blebbing of the lymphocyte plasma membrane in bronchial asthma

Solovieva I.A.<sup>1,2</sup>, Demko I.V.<sup>1,2</sup>, Sobko E.A.<sup>1,2</sup>, Kraposhina A.Yu.<sup>1,2</sup>, Gordeeva N.V.<sup>1,2</sup>, Anikin D.A.<sup>1</sup>, Anikina D.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University  
1, Partizana Zeleznaya Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

<sup>2</sup> Clinical Regional Hospital  
3a, Partizana Zeleznaya Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

### ABSTRACT

Given a persistent global trend towards an increase in the number of patients with bronchial asthma (BA) over the past decades, researchers are facing challenges related to a comprehensive study of the pathogenesis of BA. Numerous studies have shown that BA is associated with long-term persistence of leukocytes (lymphocytes, macrophages, and eosinophils) in the bronchial tissues. However, the causes of this phenomenon remain understudied. The article provides an overview of modern research on the mechanisms of disorders of lymphocyte apoptosis in patients with BA.

Our study considers the main mechanisms of molecular regulation of lymphocyte apoptosis, including transcription factors, the Fas/FasL system, and bcl-2/bcl-XL factors. We present the data on the role of reduced lymphocyte apoptosis in the formation of a severe BA phenotype. Taking into account high prevalence of obesity among patients with BA, we analyzed a few existing articles on the apoptosis of immunocompetent cells in obesity. In addition, the article highlights the key mechanisms of development of lymphocyte plasma membrane blebbing (PMB) with formation of microvesicles, as well as their influence on the course of pathological processes in BA.

The authors believe that further in-depth study of apoptosis, lymphocyte necrosis, and plasma membrane blebbing can help improve the principles of diagnosis and treatment of BA.

**Key words:** bronchial asthma, obesity, lymphocyte apoptosis, programmed cell death, caspase, plasma membrane blebbing.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Solovieva I.A., Demko I.V., Sobko E.A., Kraposhina A.Yu., Gordeeva N.V., Anikin D.A., Anikina D.A. Features of apoptosis and blebbing of the lymphocyte plasma membrane in bronchial asthma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 176–183. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-176-183>.

## ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) – хроническое заболевание дыхательных путей, которое ложится серьезным социальным и экономическим бременем как на пациента, так и на общество в целом [1, 2]. Эксперты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) отмечают стойкую тенденцию к нарастанию численности больных БА [3].

В России также в последние годы отмечен продолжающийся рост общей заболеваемости БА [4]. Согласно статистическим данным, распространенность БА среди взрослого населения России составляет до 10,6% [5].

Известно, что астма сокращает среднюю продолжительность жизни женщин на 13,5 года, а мужчин – на 6,6 года, также служит причиной 1,4% всех госпитализаций и 1,5% случаев инвалидности. Финансовое бремя, связанное с диагностикой и лечением БА, оказывает существенное влияние на экономику страны [6].

Не менее важную проблему медико-социального характера во всем мире представляет собой ожирение, которое ВОЗ сегодня рассматривает как эпидемию, охватившую миллионы людей. С 1980 г. число лиц, страдающих ожирением, в мире увеличилось более чем в 2 раза. Избыточная масса тела (МТ) отмечается примерно у 1 млрд взрослого населения планеты, а у 475 млн – ожирение [7, 8].

Ожирение является наиболее распространенным сопутствующим заболеванием БА. Показано, что ожирение увеличивает распространенность и частоту возникновения БА, повышает риск обострений, ухудшения респираторных симптомов и плохого контроля заболевания. Точные механизмы взаимного влияния астмы и ожирения остаются неясными и, вероятно, являются многофакторными, обусловленные механическими изменениями дыхательных путей, системной воспалительной реакцией и метаболической дисрегуляции [9, 10].

Достаточно недавние данные подчеркивают роль программированной гибели клеток (ПГК) и аутоиммунитета как потенциально важных факторов в патогенезе хронических обструктивных заболеваний дыхательных путей. Интенсификация изучения процесса гибели клеток обусловлена тем, что в настоящее время существует несколько методов, доступных для регистрации различных проявлений ПГК и анализа молекулярных механизмов [11], которые тесно связаны с механизмами других важных событий (например, активация клетки и биологическая передача сигналов).

Именно исследование апоптоза считается продуктивным и плодотворным для понимания определенного количества важных процессов, включая иммунный гомеостаз.

## РОЛЬ ЛИМФОЦИТОВ В РАЗВИТИИ АСТМЫ

Течение БА характеризуется прогрессирующим хроническим воспалением дыхательных путей, в основе которого лежит продукция провоспалительных цитокинов (интерлейкина (ИЛ) 4, 5, 9, 13, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и др.) [12], а также длительная персистенция лейкоцитов (лимфоцитов, макрофагов, эозинофилов) в тканях бронхов [13].

Лимфоциты являются неотъемлемыми регуляторными и эффекторными клетками адаптивной иммунной системы. Совместно с антигенпрезентирующими клетками, Т- и В-лимфоциты обеспечивают иммунный ответ на патогены и формируют долговременную иммунологическую память [14].

Численность лимфоцитов регулируется за счет постоянного баланса между продукцией, пролиферацией и клеточной гибелью. Равновесие этих процессов характеризуется как лимфоцитарный гомеостаз [15].

Число Т-лимфоцитов эффекторного звена при иммунном ответе может повышаться в 1 000 раз [16], однако программированная смерть клеток регулирует накопление общего числа лимфоцитов, в том числе и при астме [17].

Таким образом, постоянное присутствие регуляторных и эффекторных клеток иммунитета при БА

может быть обусловлено не только их ускоренной миграцией в ткани, но и ограничением клеточной элиминации вследствие дисрегуляции процессов программируемой клеточной гибели.

## ТИПЫ ПРОГРАММИРОВАННОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТОК

На основании физиологических, морфологических и биохимических критериев исследователи выделяют три типа ПКГ: апоптоз (ПКГ I типа), аутофагия (ПКГ II типа) и некроз (ПКГ III типа) [18, 19].

### Аутофагия и апоптоз

Аутофагия – процесс прижизненной утилизации измененного метаболитами содержимого цитоплазмы, является процессом самообновления клеток, который при чрезмерном воздействии приводит к их гибели [20, 21].

В то же время естественное, физиологическое, запрограммированное отмирание клеток (50–500 млрд клеток ежедневно) преимущественно осуществляется путем апоптоза: после мембранного блеббинга, уменьшения клеток, конденсации хроматина и фрагментации ДНК происходит быстрое поглощение апоптотических телец фагоцитарными клетками без какой-либо воспалительной реакции [22, 23].

### Пути реализации апоптоза

Реализация ПКГ I типа (апоптоза) осуществляется несколькими путями и механизмами, зависящими как от особенностей клеток, так и от воздействия внутренних и внешних сигналов [24]. После действия токсических агентов или нерепарируемого повреждения ДНК в процесс апоптотической гибели включается митохондриальный (внутренний) сигнальный путь. Основными регуляторами этого процесса являются гены *p53* и *Bcl-2* (главный супрессор апоптоза) с соответствующими белками [25, 26].

Более часто реализуется внешний, или рецептор-опосредованный, путь активации апоптоза, который инициируется многообразием внеклеточных триггеров и осуществляется при участии рецепторов фактора некроза опухоли (ФНО). Наиболее изученным активатором является Fas (APO-1 или CD95), который стимулирует апоптоз клеток после образования комплекс-соединения со своим лигандом – Fas/FasL [27, 28].

После проведения индуцирующих сигналов от триггеров через адапторные белки начинается эффекторная фаза апоптоза, главными участниками данной фазы являются цистеиновые протеазы (каспазы), которые при инициации апоптоза достаточно быстро переходят из неактивной (прокаспазы) в активную форму, обеспечивая расщепление белковых

молекул в местах расположения аспарагиновых оснований [29, 30].

Усиление интереса экспертов к вопросам ПКГ [31] привело к росту количества исследований, касающихся проблемы апоптоза. Появились методы регистрации апоптоза, анализа молекулярно-генетических механизмов, что позволило исследователям понять значительную роль апоптоза как в поддержании гомеостаза постоянно регенерирующих тканей, так и понять влияние дисрегуляции запрограммированной клеточной смерти на патогенез многих патологических процессов [32].

Самым оптимальным методом определения апоптоза в клетках был признан TUNEL-метод (terminal deoxynucleotid transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labelling), или терминальное дезоксиуридиновое мечение концов [33], поскольку во время апоптоза под действием эндонуклеаз происходят многочисленные разрывы нитей ДНК, в результате чего образуется множество 3'-концов [34]. TUNEL-метод основывается на связывании с 3'-концом нити ДНК дезоксиуридинтрифосфата, меченного биотином. Связывание производит фермент дезоксинуклеотид-трансфераза. Существует еще ряд оптимальных биохимических, молекулярных и генетических методов определения апоптоза [35]. В контексте существующей информации о нарушении апоптоза лимфоцитов при системных, аутоиммунных и аллергических заболеваниях исследование апоптоза при бронхиальной астме стало актуальным и важным.

Персистенция аллергического воспалительного процесса в дыхательных путях связана с избыточной активацией иммунокомпетентных клеток (ИКК), которая, в свою очередь, приводит к накоплению аутореактивных клонов с одновременным снижением активности апоптоза (позитивная активация и отсутствие апоптоза) [36–38]. Возможно, апоптоз лимфоцитов тесно связан с их миграцией к очагу воспаления в результате воздействия аллергена, т. е. апоптоз действует как механизм антигенуправляемой селекции лимфоцитов [39].

## АПОПТОЗ ЛИМФОЦИТОВ И БРОНХИАЛЬНАЯ АСТМА

При БА в ИКК запускается несколько путей гибели, причем в течение болезни они способны переключаться [40]. При астме происходит выраженное угнетение механизмов ПКГ лимфоцитов, связанное с увеличением экспрессии мРНК IL-5 и основных антиапоптотических факторов (bcl-2, bcl-XL), ингибирующих апоптоз по рецепторному и митохондриальному путям, что прямо коррелирует со степенью тяжести астмы [41].

Одним из молекулярных механизмов, играющих важную роль в регуляции апоптотической программы, являются транскрипционные факторы, например JAK-STAT (janus kinases – signal transducer and activator of transcription), а также PAX-5, NF-κB, p53 и др. Транскрипционные факторы регулируют экспрессию белков, таких как ИЛ-4, -15, -13, IgE, рецепторных молекул Fas и других, а также пролиферацию клеток – лимфоцитов и эозинофилов [42, 43].

Доказано, что антиапоптотическим эффектом обладают снижение экспрессии гена и активности транскрипционного фактора p53 и стимуляция активности – NF-κB. А высокие уровни экспрессии STAT6 при сниженных – PAX-5 и повышенных уровнях NF-κB приводят к формированию и утяжелению течения БА [44].

Соотношение Bcl-2/Bax у пациентов с тяжелой БА намного выше, что подтверждает многие исследования, в которых было продемонстрировано, что NF-κB стимулирует экспрессию и активность Bcl-2, который сам действует как мощная антиапоптотическая молекула и ингибирует проапоптотические молекулы Bax [45, 46].

В процессе недавних исследований установлено, что уровни Bcl-2 или отношение Bcl-2/Bax выше у астматиков, чем у здоровых людей. Уровень экспрессии NF-κB положительно коррелирует с соотношением Bcl2/Bax у пациентов с астмой [47].

Интересно, что система Fas/FasL, запускающая рецептор-опосредованный путь активации апоптоза, менее активна в Th2-лимфоцитах, типичных для астмы, что говорит об их эволюционной предрасположенности к снижению уровню апоптоза [48, 49]. Согласно проведенным исследованиям, стероиды могут усиливать апоптоз, но также и снижать экспрессию Fas (CD95) и регуляторов CD25, переключая апоптоз на другой путь [50].

В ряде исследований продемонстрирована связь между активностью апоптоза и тяжестью БА [51], показано наличие обратной корреляционной связи между количеством апоптотических клеток и тяжестью БА [52]. В другом исследовании отмечено, что при тяжелой БА в сравнении с легкой степенью количество лимфоцитов в апоптозе значительно меньше на фоне 6-дневной инкубации в растворе с добавлением индуктора апоптоза – дексаметазона, что может говорить о торможении ПКГ I типа у больных с тяжелой астмой [53].

## Некроз

В настоящее время важную роль отводят не только изучению последствий апоптоза, но и ПКГ III типа – некроза для окружающих клеток и организма в целом.

Гибель клетки по типу некроза сопровождается разрушением клеточной мембраны и поступлением во внеклеточное пространство внутриклеточных молекул с развитием альтерации окружающих клеток и воспалением, а фагоцитоз погибших клеток – развитием полноценного иммунного ответа [54]. Некротическая гибель лимфоцитов всегда сопряжена с экскрецией пула медиаторов воспаления, оказывающих цитотоксическое и гистохимическое действие, что также сопровождается активной пролиферацией и миграцией в дыхательные пути новых клеток-эффекторов, утяжеляющих воспаление дыхательных путей [55].

А.П. Парахонский в своей публикации подчеркивает, что развитие БА тесно связано не только с нарушением реализации апоптотической программы гибели ИКК крови, но и с увеличением некроза лимфоцитов [56]. В немногочисленных исследованиях доказано, что у больных с тяжелой персистирующей астмой преобладает некротическая гибель лимфоцитов [57].

## **БЛЕББИНГ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ (ЦПМ) И БРОНХИАЛЬНАЯ АСТМА**

При окислительном стрессе, апоптозе и некрозе лимфоцитов идет активное образование мембранных микровезикул (МВ) в результате интенсивного блеббинга цитоплазматической мембраны (ЦПМ) [58, 59].

Развитие блеббинга ЦПМ возникает в результате нарушения мембран-цитоскелетных взаимодействий в исходе активации ферментативных реакций, развития энергетического и ионного дисбаланса в клетке, а также окислительного повреждения цитоскелета. Блеббингу предшествуют дисбаланс актин-миозиновых контактов и экстернализация фосфатидилсерина, что характеризуется пузырьвидным выпячиванием мембраны, сопровождается миграцией органелл и антигенов в образующиеся блеббы, приобретающие воспалительный и аутоантигенный потенциал. Например, экстрацеллюлярные частицы, происходящие из Т-клеток, несут на себе антигены CD4, CD3 или CD8 [60, 61].

### **Микровезикулы**

Свидетельства роли везикул ЦПМ ИКК пока значительно ограничены. Обсуждается их роль в регуляции гомеостаза путем транспорта сигналов между клетками, вплоть до презентации антигена клеткам иммунной системы [62].

Микровезикулы могут оказывать влияние на клетки по двум основным путям – взаимодействия с рецепторами и переноса микроРНК [63], способны регулировать экспрессию генов и дифференцировку клеток, что вовлекает их в патогенез многих процес-

сов [64]. Значительная часть исследований посвящена провоспалительной роли и проблеме содержащихся в МВ микроРНК – высококонсервативных некодирующих РНК длиной 18–24 нуклеотидов [65].

Другим фактором, влияющим на воспалительный процесс, может быть способность МВ индуцировать апоптоз ИКК. Апоптогенную активность микровезикул возможно объяснить влиянием содержащихся в везикулах каспаз и других биологически активных веществ, индуцирующих апоптоз [66].

Однако недостаточно исследований посвящено патогенному влиянию лимфоцитарных микровезикул (ЛМВ) на течение патологических процессов, в частности на патогенез БА. Известно, что ЛМВ индуцируют активацию фермента НАДФ-оксидазы, что ведет к активации механизмов окислительного стресса [67].

Высокое содержание циркулирующих везикулярных микрочастиц у больных с астмой может служить полезным биомаркером активности апоптоза и воспалительного процесса в дыхательных путях, потенциальным предиктором прогрессирования степени тяжести БА, отражая действие важного элемента патогенеза астмы, а не просто появление инертной «клеточной пыли», как считалось долгое время.

## **АПОПТОЗ И ОЖИРЕНИЕ**

Крайне мало исследований и публикаций посвящено проблеме апоптоза ИКК, в частности лимфоцитов, при ожирении. Известно, что метаболические изменения в белой жировой ткани людей с ожирением приводят к персистенции ИКК в жировой ткани. Местно наблюдаются повышенные уровни провоспалительных цитокинов и активных свободных радикалов, способствующих окислительному стрессу и прогрессированию системного воспаления [68].

При ожирении происходит повышение активности апоптоза лимфоцитов крови, при котором взаимодействие рецептора гибели Fas с FasL приводит к активации каспазы 8, 10, 3. В одной из работ было показано, что у пациентов с ожирением увеличена концентрация индуктора апоптоза – белка p53, а его уровень прямо коррелирует с индексом массы тела, объемом талии и индексом НОМА-IR [69, 70].

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В физиопатологическом контексте астма является хроническим воспалительным заболеванием дыхательных путей, и исследование ПКГ, в частности апоптоза, обусловлено тем фактом, что лимфоциты играют большую роль в патогенезе БА. Несмотря на многочисленные данные о БА, концепция апоптоза в патогенезе астмы является противоречивой. Результаты иммунологических исследований свидетель-

ствуют о ряде изменений функционального состояния лимфоцитов у больных астмой. Исследования апоптоза продолжаются и в настоящее время. Особую актуальность такие работы имеют при изучении синтропии БА и ожирения. Важно отметить, что все больше доказательств того, что ожирение причинно связано с астмой. Лучшее понимание этой взаимосвязи на уровне патогенеза может привести к появлению новых методов лечения для терапевтически резистентной когорты пациентов.

Таким образом, дальнейшее изучение всех аспектов апоптоза и блеббинга ЦПМ лимфоидных клеток при ассоциации БА и ожирения, установление их цитологических, молекулярных и биохимических маркеров может способствовать более полному пониманию механизмов патогенеза астмы, улучшению принципов диагностики, созданию нового ориентира дифференциальной диагностики, а также служить базисом для создания высокоэффективных, современных методов лечения, прогнозирования эффективности терапии трудно контролируемых и резистентных к терапии форм БА.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Global Strategy for asthma management and prevention. Global Initiative for Asthma. GINA. URL: <http://www.slideshare.net/cristobalbunuel/gina-report-2016>; 2016. URL: [http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA.Report\\_2016.pdf](http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA.Report_2016.pdf).
- Федеральные клинические рекомендации по бронхиальной астме. 2016: 64. URL: <http://spulmo.ru/obshchestvonews/news-812>.
- Reddel H.K., Hurd S.S., FitzGerald J.M. World Asthma Day. GINA 2014: A global asthma strategy for a global problem. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2014; 18 (5): 505–506. DOI: 10.5588/ijtld.14.0246.
- Бельтюков Е.К., Братухин К.П. Эпидемиология аллергического ринита и бронхиальной астмы в Свердловской области. *Доктор.ру.* 2015; 108 (7): 11–14.
- Ушакова Д.В., Никонов Е.Л. Эпидемиология бронхиальной астмы. *Терапия.* 2018; 20 (2): 90–95.
- Федосеев Г.Б., Емельянов А.В., Сергеева Г.Р., Иванова Н.И., Зибрина Т.М., Максименко И.Н., Цуканова И.В. Распространенность бронхиальной астмы и аллергического ринита среди взрослого населения Санкт-Петербурга. *Терапевтический архив.* 2003; 75 (1): 523–526.
- Guzzardi M.A., Iozzo P., Salonen M.K., Kajantie E., Eriksson J.G. Maternal adiposity and infancy growth predict later telomere length: a longitudinal cohort study. *Int. J. Obes.* 2016; 40 (7): 1063–1069. DOI: 10.1038/ijo.2016.58.
- Минеев В.Н., Лалаева Т.М., Васильева Т.С., Трофимов В.И. Фенотип бронхиальной астмы с ожирением. *Пульмонология.* 2012; (2): 102–107. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-2-102-107.
- Baffi C.W., Winnica D.E., Holguin F. Asthma and obesity: mechanisms and clinical implications. *Asthma Res. Pract.* 2015; 1: 1. DOI: 10.1186/s40733-015-0001-7.
- Глушкова Е.Ф., Шартанова Н.В., Лусс Л.В. Ожирение и бронхиальная астма: клинко-аллергологическая характеристика. *Русский Медицинский Журнал.* 2018; 8 (1): 4–8.
- Vodounon C.A., Chabi C.B., Skibo Yu.V., Ezin V., Aikou N., Kotchoni S.O., Akpona S.A., Baba-Moussa L., Abramova Z.I. Influence of the programmed cell death of lymphocytes on the immunity of patients with atopic bronchial asthma. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2014; 10 (1): 14. DOI: 10.1186/1710-1492-10-14.
- Shore S.A. Obesity and asthma: possible mechanisms. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 121 (5): 1087–1093. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.03.004.
- Miranda C., Busacker A., Balzar S., Trudeau J., Wenzel S.E. Distinguishing severe asthma phenotype: role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004; 113 (1): 101–108. DOI: 10.1016/j.jaci.2003.10.041.
- Wiik A.S., Gordon T.P., Kavanaugh A.F., Lahita R.G., Reeves W., van Venrooij W.J., Wilson M.R., Fritzler M. Cutting edge diagnostics in rheumatology: the role of patients, clinicians, and laboratory scientists in optimizing the use of autoimmune serology. *Arthritis Rheum.* 2004; 51 (2): 291–298. DOI: 10.1002/art.20229.
- Jameson S.C. Maintaining the norm: T-cell homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.* 2002; 8 (2): 547–556. DOI: 10.1038/nri853.
- Plas D.R., Rathmell J.C., Thompson C.B. Homeostatic control of lymphocyte survival: potential origins and implications. *Nat. Immunol.* 2002; 3 (6): 515–521. DOI: 10.1038/ni0602-515.
- Badovinac V.P., Harty J.T. Programming, demarcating, and manipulating CD8+ T-cell memory. *Immunol. Rev.* 2006; 211 (1): 67–80. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2006.00384.x.
- Скибо Ю.В., Пономарева А.А., Решетникова И.Д., Абрамова З.И. Индукция аутофагии в Т-лимфоцитах периферической крови больных атопической бронхиальной астмой. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2012; 7 (3): 146–150.
- Green D.R. The end and after: how dying cells impact the living organism. *Immunity.* 2011; 35 (4): 441–445. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.10.003.
- Черников В.П., Белоусова Т.А., Кактурский Л.В. Морфологические и биохимические критерии клеточной гибели. *Архив патологии.* 2010; 72 (3): 48–54.
- Romao S., Gannage M., Munz C. Checking the garbage bin for problems in the house, or how autophagy assists in antigen presentation to the immune system. *Semin. Cancer Biol.* 2013; 23 (5): 391–396. DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.03.001.
- Walsh C.M., Edinger A.L. The complex interplay between autophagy, apoptosis and necrotic signals promotes T-cell homeostasis. *Immunol. Rev.* 2010; 236 (1): 95–109. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00919.x.
- Варга О.Ю., Рябков В.А. Апоптоз: понятие, механизмы реализации, значение. *Экология человека.* 2006; (7): 28–32.
- Zhao Y.X., Zhang H.R., Yang X.N., Zhang Y.H., Feng S., Yu F.X., Yan X.X. Fine particulate matter-induced exacerbation of allergic asthma via activation of T-cell immunoglobulin and mucin domain 1. *Chinese Medical Journal* 2018; 131 (20): 2461–2473. DOI: 10.4103/0366-6999.243551.
- Чечина О.Е., Биктасова А.К., Сазонова Е.В. Роль цитокинов в редокс-зависимой регуляции апоптоза. *Бюл-*

- летье сибирской медицины. 2009; 8 (2): 67–71. DOI: 10.20538/1682-0363-2009-2-67-71.
26. Tian B.P., Xia L.X., Bao Z.Q., Zhang H., Xu Z.W., Mao Y.Y. Bcl-2 inhibitors reduce steroid-insensitive airway inflammation. *J. Allergy Clin Immunol.* 2017; 140 (2): 418–430. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.11.027.
27. Лунев Д.А., Заклякова Л.В., Овсянникова Е.Г., Сарсенгалиева А.К. Роль апоптоза в поддержании гомеостаза живых систем. *Астраханский медицинский журнал.* 2010; 5 (1): 11–20.
28. Brison D.R. Apoptosis in mammalian preimplantation embryos: regulation by survival factors. *Pathol. Int.* 2001; 51 (12): 948–953.
29. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis. *Nature.* 2000; 407 (6805): 770–776. DOI: 10.1038/35037710.
30. Marsden V.S., O’connor L., O’reilly R.A.. Apoptosis initiated by Bcl-2-regulated caspase activation independently of the cytochrome c/Apaf-1/caspase-9 apoptosome. *Nature.* 2002; 419 (6907): 614–617. DOI: 10.1038/nature01101.
31. Kroemer G., Martin S.J. Caspase-independent cell death. *Nat. Med.* 2005; 11 (7): 725–730. DOI: 10.1038/nm1263.
32. Milner T.A., Waters E.M., Robinson D.C., Pierce J.P. Degrading processes identified by electron microscopic immunocytochemical methods. *Meth. Mol. Biol.* 2011; 793: 23–59. DOI: 10.1007/978-1-61779-328-8\_3.
33. Whelan R.S., Kaplinskiy V., Kitsis R.N. Cell death in the pathogenesis of heart disease: mechanisms and significance. *Annu. Rev. Physiol.* 2010; 72 (1): 19–44. DOI: 10.1146/annurev.physiol.010908.163111.
34. Yang F., Tu J., Pan J.Q., Luo H.L., Liu Y.H., Wan J., Zhang J., Wei P.F., Jiang T., Chen Y.H., Wang L.P. Light-controlled inhibition of malignant glioma by opsin gene transfer. *Cell Death Dis.* 2013; 4(10): 893–907. DOI: 10.1038/cddis.2013.425.
35. Zeng W., Wang X., Xu P., Liu G., Eden H.S., Chen X. Molecular imaging of apoptosis: from micro to macro. *Theranostics.* 2015; 5 (6): 559–582. DOI: 10.7150/thno.11548.
36. Сергеева Т.Ф., Ширманова М.В., Загайнова Е.В., Лукьянов К.А. Современные методы исследования апоптотической гибели клеток. *Современные технологии в медицине.* 2015; 7 (3): 172–182. DOI: 10.17691/stm2015.7.3.21.
37. Todo-Bom A., Mota P.A., Alves V., Vale P.S., Santos R.M. Apoptosis and Asthma in the Elderly. *J. Investig Allergol. Clin. Immunol.* 2007; 17 (2): 107–112.
38. Deponte M. Programmed cell death in protists. *Biochem Biophys Acta.* 2008; 1783 (7): 1396–1405. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.01.018.
39. Potapinska O., Demkow U. T-lymphocyte apoptosis in asthma. *Eur. J. Med. Res.* 2009; 14 (4): 192–195. DOI: 10.1186/2047-783X-14-S4-192.
40. Rottem M., Shoenfeld Y. Asthma as a paradigm for autoimmune disease. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 2003; 132 (3): 210–214. DOI: 10.1159/000074301.
41. Яровая Г.А., Нешкова Е.А., Мартынова Е.А., Блохина Т.Б. Роль протеолитических ферментов в контроле различных стадий апоптоза. *Лабораторная медицина.* 2011; (11): 39–53.
42. Огородова Л.М., Деев И.А., Иванчук И.И. Клиническая и патогенетическая эффективность различных фармакотерапевтических режимов при тяжелой бронхиальной астме у детей. *Педиатрическая фармакология.* 2006; 3 (3): 26–31.
43. Murray P.J. The JAK-STAT signaling pathway: input and output integration. *J. Immunol.* 2007; 178 (5): 2623–2629. DOI: 10.4049/jimmunol.178.5.2623.
44. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Нёма М.А., Иванов В.А., Липкин Г.И. Роль транскрипционного фактора PAX-5 в патогенезе бронхиальной астмы. *Медицинская иммунология.* 2012; 14 (4–5): 347–352.
45. Bittner S. Ehrenschrwender M. Multifaceted death receptor 3 signaling-promoting survival and triggering death. *FEBS Letters.* 2017; 591 (17): 2543–2555. DOI: 10.1002/1873-3468.12747.
46. Chen G.G., Liang N.C., Lee J.F., Chan U.P., Wang S.H., Leung B.C., Leung K.L. Over-expression of Bcl-2 against Pteris semipinnata L-induced apoptosis of human colon cancer cells via a NF-kappa B-related pathway. *Apoptosis.* 2004; 9 (5): 619–627. DOI: 10.1023/b:appt.0000038041.57782.84.
47. Viatour P., Bentires-Alj M., Chariot A., Derogowski V., de Leval L., Merville M.P., Bours V. NF-kappa B2/p100 induces Bcl-2 expression. *Leukemia.* 2003; 17 (7): 1349–1358. DOI: 10.1038/sj.leu.2402982.
48. Abdulamir A.S., Kadhim H.S., Hafir R.R., Ali M.A., Faik I., Abubakar F., Abbas K.A. Severity of asthma: the role of CD25+, CD30+, NF-kappaB, and apoptotic markers. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2009; 19 (3): 218–224.
49. Ying S., Khan L.N., Meng Q., Barnes N.C., Kay A.B. Cyclosporin A, apoptosis of BAL T-cells and expression of Bcl-2 in asthmatics. *Eur. Respir. J.* 2003; 22 (2): 207–212. DOI: 10.1183/09031936.03.00098902.
50. Akha A.S., Miller R.A. Signal transduction in the aging immune system. *Curr. Opin. Immunol.* 2005; 17 (5): 486–491. DOI: 10.1016/j.coi.2005.07.004.
51. Melis M., Siena L., Pace E., Gjomarkaj M., Profita M., Pirazzoli A., Todaro M., Stassi G., Bonsignore G., Vignola A.M. Fluticasone induces apoptosis in peripheral T-lymphocytes: a comparison between asthmatic and normal subjects. *Eur. Respir. J.* 2002; 19 (2): 257–266. DOI: 10.1183/09031936.02.00239202.
52. Buc M., Dzurilla M., Bucova M. Immunopathogenesis of bronchial asthma. *Arch. Immunol. Ther. Ex.* 2009; 57 (5): 331–434. DOI: 10.1007/s00005-009-0039-4.
53. Чубарова С.В., Чернова И.А., Крапошина А.Ю., Соловьева И.А., Демко И.В., Салмина А.Б., Малиновская Н.А. Апоптоз лимфоцитов периферической крови при бронхиальной астме различной степени тяжести. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2013; (48): 28–33.
54. Vodounon C.A., Chabi C.B., Skibo Y.V., Ezin V., Aikou N., Kotchoni S.O., Akpona S.A., Baba-Moussa L., Abramova Z.I. Influence of the programmed cell death of lymphocytes on the immunity of patients with atopic bronchial asthma. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology.* 2014; 10 (1): 1–11. DOI: 10.1186/1710-1492-10-14.
55. Peter C., Wesselborg S., Herrman M., Lauber K. Dangerous attraction: phagocyte recruitment and danger signals of apoptotic and necrotic cells. *Apoptosis.* 2010; 15 (9): 1007–1028. DOI: 10.1007/s10495-010-0472-1.
56. Потапнев М.П. Аутофагия, апоптоз, некроз клеток и иммунное распознавание своего и чужого. *Иммунология.* 2014; 35 (2): 95–102.

57. Парахонский А.П., Егорова С.В., Цыганок С.С. Механизмы программируемой гибели клеток периферической крови у больных бронхиальной астмой. *Успехи современного естествознания*. 2008; (8): 107–108.
58. Нсангу М.М.Д., Водунон А.С., Абрамова З.И., Лунцов А.В., Цибулькина В.Н. Особенности морфологических показателей и количественной оценки лимфоцитов периферической крови больных атопической бронхиальной астмой. *Казанский медицинский журнал*. 2007; 88 (2): 168–171.
59. Carmen M.M., Angela T., Fatina Z. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005; 288 (3): 1004–1009. DOI: 10.1152/ajpheart.00842.2004.
60. Инжутова А.И., Салмина А.Б., Петрова М.М. Регистрация блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови как экспресс-метод оценки тяжести состояния больных осложненными формами гипертонической болезни. *Бюллетень СО РАМН*. 2007; (1): 6–10.
61. Akers J.C., Gonda D., Kim R., Carter B.S., Chen C.C. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *J. Neurooncol.* 2013; 113 (1): 1–11. DOI: 10.1007/s11060-013-1084-8.
62. Buzas E.I., György B., Nagy G. Emerging role of extracellular vesicles in inflammatory diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014; 10 (6): 356–364. DOI: 10.1038/nrrheum.2014.19.
63. Hwang I. Cell-cell communication via extracellular membrane vesicles and its role in the immune response. *Molecules and Cells*. 2013; 36 (2): 105–111. DOI: 10.1007/s10059-013-0154-2.
64. Пантелеева М.А., Абаева А.А., Баландина А.Н., Беляева А.В., Нечипуренкова Д.Ю., Обыденный С.И., Свешникова А.Н., Шибекова А.М., Атауллаханова Ф.И. Внеклеточные везикулы плазмы крови: состав, происхождение, свойства. *Биологические мембраны*. 2017; 34 (3): 155–161. DOI: 10.7868/S0233475517030069.
65. Hargett L.A., Bauer N.N. On the origin of microparticles: From “platelet dust” to mediators of intercellular communication. *Pulm. Circ.* 2013; 3 (2): 329–340. DOI: 10.4103/2045-8932.114760.
66. Redzic J.S., Balaj L., van der Vos K.E., Breakefield X.O. Extracellular RNA mediates and marks cancer progression. *Semin Cancer Biol.* 2014; 28: 14–23. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.04.010.
67. Mostefai H.A., Agouni A., Carusio N., Mastronardi M.L., Heymes C., Henrion D., Andriantsitohaina R., Martinez M.C. Phosphatidylinositol 3-kinase and xanthine oxidase regulate nitric oxide and reactive oxygen species productions by apoptotic lymphocyte microparticles in endothelial cells. *J. Immunol.* 2008; 180 (7): 5028–5035. DOI: 10.4049/jimmunol.180.7.5028.
68. Franceschi C., Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2014; 69 (1): 4–9. DOI: 10.1093/gerona/glu057.
69. Locksley R.M., Killeen N., Lenardo M.J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001; 104 (4): 487–501. DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00237-9.
70. Чернышева Е.Н., Панова Т.Н. Взаимосвязь апоптоза и процессов преждевременного старения у больных с метаболическим синдромом. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2012; 8 (2): 251–255.

## Сведения об авторах

**Соловьева Ирина Анатольевна**, д-р мед. наук, доцент, доцент кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом постдипломного образования, проректор по учебной работе, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-пульмонолог, Краевая клиническая больница, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-1999-9534.

**Демко Ирина Владимировна**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой внутренних болезней и иммунологии с курсом постдипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; зав. легочно-аллергологическим центром, Краевая клиническая больница, г. Красноярск. ORCID 0000-0001-8982-5292.

**Собко Елена Альбертовна**, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом постдипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; зав. отделением аллергологии, Краевая клиническая больница, г. Красноярск.

**Крапошина Ангелина Юрьевна**, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом постдипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-пульмонолог, Краевая клиническая больница, г. Красноярск. ORCID 0000-0001-6896-877X.

**Гордеева Наталья Владимировна**, канд. мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом постдипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-пульмонолог, Краевая клиническая больница, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-0586-8349.

**Аникин Дмитрий Александрович**, клинический ординатор, кафедра внутренних болезней № 2 с курсом постдипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-1598-436X.

**Аникина Диана Андреевна**, клинический ординатор, кафедра внутренних болезней № 2 с курсом постдипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

(✉) Соловьева Ирина Анатольевна, e-mail: solovieva.irina@inbox.ru

Поступила в редакцию 28.04.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Современные методы исследования атеросклероза и ишемической болезни сердца: проточная цитометрия

Стахнёва Е.М., Рагино Ю.И.

*Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ФИЦ ИЦиГ СО РАН)  
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1*

### РЕЗЮМЕ

Проблема атеросклероза, формирующего патологическую основу ишемической болезни сердца, является одной из наиболее обсуждаемых в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Это хроническое воспалительное заболевание включает комплекс сложных взаимодействий между различными клетками, а атеросклеротическая бляшка представляет собой сложную иммунологическую среду. Современные количественные методы повышают понимание патофизиологических процессов, ответственных за прогрессирование атеросклеротической бляшки. Проточная цитометрия представляет собой мощный современный метод, позволяющий проводить комплексный анализ клеток одновременно. Данный обзор посвящен научным исследованиям атеросклероза и ишемической болезни сердца, выполненным с помощью метода проточной цитометрии.

**Ключевые слова:** проточная цитометрия, атеросклероз, воспаление, Т-лимфоциты, моноциты.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках бюджетной темы по государственному заданию № АААА-А17-117112850280-2 и в рамках гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 19-015-00055.

**Для цитирования:** Стахнёва Е.М., Рагино Ю.И. Современные методы исследования атеросклероза и ишемической болезни сердца: проточная цитометрия. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 184–190. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-184-190>.

---

## Modern methods for studying atherosclerosis and coronary artery disease: flow cytometry

Stakhneva E.M., Ragino Yu.I.

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine (RIIPM) – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Branch of ICG SB RAS)  
175/1, Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation*

### ABSTRACT

The problem of atherosclerosis, which forms the pathological basis of coronary artery disease (CAD), is one of the most discussed ones in development of cardiovascular diseases. This chronic inflammatory disease involves interactions between different cells, and an atherosclerotic plaque is a complex immunological environment. Modern

quantitative methods increase the understanding of the pathophysiological processes responsible for progression of atherosclerotic plaques. Flow cytometry is a powerful modern method that allows for a complex and simultaneous cell analysis. This review is devoted to studies on atherosclerosis and CAD performed using flow cytometry.

**Key words:** flow cytometry, atherosclerosis, inflammation, T-lymphocytes, monocytes.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** This study was conducted within the budgetary theme on the state assignment No. AAAA-A17-117112850280-2 and within the grant from the Russian Foundation for Basic Research No. 19-015-00055.

**For citation:** Stakhneva E.M., Ragino Yu.I. Modern methods for studying atherosclerosis and coronary artery disease: flow cytometry. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 184–190. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-184-190>.

## ВВЕДЕНИЕ

Более 50 лет назад был разработан новый метод диагностики – импульсная цитофотометрия, который с 1978 г. стал называться «проточная цитометрия». Сегодня проточная цитофлуориметрия – методика исследования дисперсионных субстанций в режиме поштучного анализа частиц, входящих в состав дисперсионной фазы по сигналам, получаемым в ходе флуоресценции и рассеивания света. Проточная цитофлуориметрия базируется на совокупности современных цитохимических флуоресцентных методов анализа структурных компонентов клеток и их антигенов. Это современный и очень функциональный метод, который позволяет разносторонне анализировать различные популяции клеток [1].

## ПРИНЦИПЫ МЕТОДА ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Физические принципы проточной цитометрии просты: суспензию клеток, предварительно инкубированную с флуорохромами, помещают в поток жидкости, пропускаемый через проточную ячейку. Это порождает эффект гидродинамического фокусирования: исследуемые клетки выстраиваются в цепочку и в таком порядке пересекают пучок лазерных лучей. Таким образом происходит анализ каждой отдельно взятой клетки.

Свет, исходящий от флуорохромов, фокусируют при помощи оптической системы, состоящей из нескольких зеркал и линз, а затем раскладывают на определенные компоненты. Полученные световые сигналы преобразуют в электрические импульсы и анализируют при помощи специального программного обеспечения. Всего за несколько секунд сквозь проточную кювету проходят тысячи клеток, позволяя исследователю сделать вывод о составе и характеристиках клеточной суспензии.

Проточная цитометрия является мощным методом с массой достоинств: быстрый анализ, анализ большого количества клеток (до  $10^7$  клеток в секунду), объективное измерение интенсивности флуоресценции, получение данных для отдельной клеточной популяции, одновременный анализ разных процессов, способность охарактеризовать редкие события [1].

## МЕТОД ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И АТЕРОСКЛЕРОЗА

Проблема атеросклероза и вызываемых им осложнений является одной из наиболее обсуждаемых в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Атеросклероз развивается длительно и формирует патологическую основу ишемической болезни сердца (ИБС). Это сложное хроническое воспалительное заболевание включает взаимодействие между различными клетками. Новые технологии, в частности проточная цитометрия, позволяют проводить комплексный анализ разных клеток одновременно.

Одним из основных патофизиологических механизмов развития атеросклероза является нарушение структурной целостности и функциональной активности сосудистого эндотелия. Циркулирующие эндотелиальные клетки, отделяющиеся от стенки эндотелия в процессе его повреждения, могут выступать прямым клеточным маркером дисфункции эндотелия [2, 3].

С помощью метода проточной цитометрии выявили, что наличие более трех циркулирующих эндотелиальных клеток на  $3 \times 10^5$  лейкоцитов в периферической крови увеличивает относительный риск развития ИБС у женщин молодого и среднего возраста в 4 раза, а у женщин с ИБС повышает риск развития острого инфаркта миокарда в 8 раз [2].

Эндотелиальные прогениторные клетки, обладающие способностью к самообновлению и дифференцировке, участвуют в процессах восстановления эндотелия и формирования новых кровеносных сосудов. Процесс привлечения и миграции эндотелиальных прогениторных клеток в организме управляется клетками, находящимися непосредственно в зоне повреждения [4]. Большинство клеток-предшественников созревают из гематопозитических стволовых клеток, в основном находящихся в костном мозге, периферической крови и пупочном канатике, но также присутствующих в селезенке, кишечнике, печени, жировой ткани и адвентиции. Независимо от своего источника все гематопозитические стволовые клетки являются носителями маркеров CD34+ и CD133+ [4].

Эндотелиальные прогениторные клетки характеризуются экспрессией поверхностных маркеров: рецептора 2-го типа сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR-2), CD31, эндотелиальной синтазы оксида азота (NO) и сосудистого эндотелиального кадгерина. Поэтому для идентификации эндотелиальных прогениторных клеток используют поверхностные маркеры гематопозитических и эндотелиальных клеточных линий, такие как CD34, CD133, VEGFR-2 либо рецептор домена киназы (KDR) [4, 5]. У больных с артериальной гипертензией при высоком уровне липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) количество и миграционная способность циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток снижены [6, 7]. Количество и функциональная активность циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток в крови являются независимым предиктором заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [8].

Участие в атерогенезе эндотелиальных прогениторных клеток не вызывает сомнений. В исследовании S. Ai и соавт. при оценке экспрессии рецептора витамина D (VDR) обнаружено, что у пациентов с ИБС значительно экспрессия VDR на циркулирующих эндотелиальных прогениторных клетках была снижена и отрицательно коррелировала с уровнем гликированного гемоглобина. Стойкое высокое содержание глюкозы в сыворотке крови снижало экспрессию VDR на эндотелиальных прогениторных клетках, что потенциально может ускорять патологический процесс атеросклероза. Таким образом, низкий уровень экспрессии VDR на циркулирующих эндотелиальных прогениторных клетках может служить потенциальным фактором риска развития ИБС [9].

Клетки иммунной системы моноциты участвуют в формировании врожденного и приобретенного им-

мунитета. В атерогенезе моноциты играют ключевую роль, так как после привлечения в обогащенные липидами и липопротеинами области интимы артерий они под влиянием макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), продуцируемого активированным эндотелием, дифференцируются в макрофаги [10, 11]. В периферической крови больных атеросклерозом моноциты преактивированы и обладают некоторыми чертами макрофагов [10]. Их адгезия к эндотелию в 1,5 раза выше, чем моноцитов здоровых субъектов, и они экспрессируют ряд рецепторов (Fcγ-рецептор типа I и II, ICAM) [12]. Моноциты неоднородны по составу. При атеросклерозе отмечают повышение относительного содержания моноцитов промежуточной (CD14<sup>++</sup>/CD16<sup>+</sup>) и неклассической (CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>++</sup>) субпопуляций в 2,3 и 1,8 раза соответственно [10, 13].

К.А. Arnold и соавт. определяли корреляцию подтипов моноцитов и культивированных из них макрофагов с прогрессированием ИБС. Группы участников исследования были сформированы после коронарной ангиограммы в соответствии с тяжестью ИБС: группа без ИБС (незначительные нарушения в просвете сосудов); ИБС с однососудистым поражением; ИБС с многососудистым поражением. У пациентов с ИБС (с однососудистым и многососудистым поражением) было повышено содержание в крови и промежуточной, и неклассической субпопуляций моноцитов по сравнению с пациентами без ИБС ( $p < 0,05$ ). Содержание регуляторных макрофагов (CD206<sup>+</sup>) также было снижено у пациентов с однососудистым и многососудистым поражением ( $p < 0,001$ ) [14].

Показана связь между атерогенным фенотипом липопротеинов и врожденным иммунитетом при атеросклерозе у пациентов с ИБС. Атерогенная фракция липопротеинов низкой плотности ассоциируется с увеличением содержания неклассической субпопуляции моноцитов (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>) и уменьшением содержания классической субпопуляции (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>) [15].

Лимфоциты играют ключевую роль в развитии воспалительных реакций при сердечно-сосудистых заболеваниях. При изучении содержания и фенотипа лимфоцитов в периферической крови, подкожной жировой клетчатке и эпикардиальной жировой клетчатке у пациентов с ИБС и без ИБС, перенесших плановую операцию на сердце, выяснилось, что эпикардиальная жировая ткань у пациентов с ИБС характеризуется повышенным количеством Т- и В-лимфоцитов, более высоким общим количеством лимфоцитов и сниженным количеством NK-клеток по сравнению с пациентами без ИБС [16].

Каскадная система комплемента участвует в патогенезе ССЗ, индуцируя воспаление и взаимодействуя с системой коагуляции крови [17]. Баланс между активацией и ингибированием системы комплемента имеет решающее значение в контроле уровня воспаления. Молекулы, участвующие в регуляции активации системы комплемента, включают: рецептор комплемента типа 1 (CR1, CD35), мембранный кофакторный белок (MCP, CD46), фактор ускорения распада (DAF, CD55) и мембранный ингибитор реактивного лизиса (MIRL, CD59), причем каждый белок отличается по механизму действия для регуляции каскада комплемента [18]. У пациентов с ИБС наблюдалась более низкая экспрессия CD46 и CD55 на поверхности лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов и более высокая поверхностная экспрессия CD35 и CD59 на гранулоцитах ( $p < 0,0001$ ) по сравнению со здоровыми донорами. Высокая экспрессия CD59 на гранулоцитах положительно коррелирует с тяжестью заболевания и может служить потенциальным маркером прогрессирования заболевания [18].

### **ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ В ИССЛЕДОВАНИЯХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК**

Одним из ключевых направлений изучения патогенеза атеросклероза является изучение структуры атеросклеротических бляшек. Существует большое количество экспериментальных исследований, посвященных изучению образования, созревания и разрыва атеросклеротических бляшек, однако механизмы этих явлений остаются во многом неясными. Традиционно материалом для научных исследований атеросклероза служит кровь, поскольку забор ткани связан с определенными трудностями. Но для изучения патофизиологических механизмов атеросклеротического процесса наибольший интерес представляет конкретно атеросклеротический очаг.

Современные количественные методы могут повысить понимание патологических процессов, ответственных за прогрессирование бляшки. Именно метод проточной цитометрии и разработка оригинальных протоколов ферментативного выделения клеток из атеросклеротических бляшек позволили наиболее полно проанализировать лимфоциты и их роль в иммунологических механизмах созревания, разрыва и их распределение в атеросклеротических бляшках [19, 20].

Ранее проводились попытки изучения роли лимфоцитов в атеросклеротическом очаге. Но при этом использовали выделение лимфоцитов из ткани в культивационную среду с различными активаторами миграции лимфоцитов, т.е. изучали отдельные лим-

фоциты, мигрировавшие из ткани атеросклеротической бляшки в культивационную среду. Это дало возможность не отрабатывать методику выделения живых клеток, но лишило возможности изучения клеточного состава самой ткани атеросклеротической бляшки [21].

При этом предпринимались попытки точного определения клеточного состава ткани атеросклеротических бляшек человека с помощью проточной цитометрии, где материал, полученный при проведении операции эндартеректомии сонных артерий, подвергали ферментативной обработке коллагеназой I (250 ед/мл) при 37 °C. Это исследование показало, что около 50% клеток в атеросклеротических бляшках являются воспалительными мононуклеарными клетками (Т-лимфоцитами и моноцитами (макрофагами)) [22].

В дальнейших исследованиях ученые шли по пути разработки оригинальных протоколов выделения клеток из ткани атеросклеротической бляшки и изучения целых комплексов антител, меченных флуорохромами. Кроме того, применение нескольких флуорохромов одновременно позволили исследовать различные процессы в клетке. В исследовании Ж.-Ш. Гривель и соавт. показано, что фенотипический состав Т-лимфоцитов в бляшке отличается от такового в крови. При сравнении уровней экспрессии клеточных маркеров CD3, CD4, CD16, CD45, CD45RA, CCR7 CD28, CD27, HLA-DR и CD38 выявили высокий уровень CD4 и CD8 Т-клеток в бляшках [19].

Доминирующей воспалительной клеткой при атеросклерозе является макрофаг, однако взаимодействие с другими воспалительными клетками может иметь значение в атерогенезе. Наличие тучных клеток в атеросклеротическом очаге, составляющих гетерогенную популяцию, было установлено с помощью иммуногистохимии. В 3-летнем исследовании на 270 пациентах со стенозом сонных артерий отмечено, что уровень тучных клеток в плазме крови ассоциируется с будущими острыми сердечно-сосудистыми событиями. Несмотря на то, что тучные клетки присутствуют в бляшке в небольшом количестве, они могут активно способствовать дестабилизации атеросклеротической бляшки [23].

Тучные клетки являются участниками воспалительных реакций в различных тканях, в том числе в интима атеросклеротических артерий. Тучные клетки активируются для дегрануляции, высвобождая большое количество медиаторов воспаления (гистамин, гепарин, протеазы и цитокины), хранящихся в их цитоплазме. Активированные тучные клетки в атеросклеротических очагах могут способствовать

хемотаксису лейкоцитов, адгезии к активированному эндотелию и последующей трансэндотелиальной миграции [24].

Для того чтобы более подробно охарактеризовать популяцию тучных клеток при атеросклеротических поражениях человека и определения ее активности, в исследовании Е. Kritikou и соавт. использовали несколько маркеров одновременно (CD45, CD117, CD63, IgE, Tryptase/TPSAB1) [25]. Авторы подтвердили, что основной, но не единственный путь активации тучных клеток внутри бляшки – IgE-опосредованный, но при этом существует группа тучных клеток, которые активируются без связывания IgE [25].

Проточная цитометрия является мощным инструментом для выявления разнообразия лейкоцитарных подмножеств в атеросклеротической бляшке [26]. Атеросклеротическая бляшка представляет собой сложную иммунологическую среду. С момента открытия Т-клеток в атеросклеротической бляшке установлено, что Т-клетки играют важную роль в развитии атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний. Т-хелперы могут дифференцироваться в несколько фенотипов (Th1, Th2, Th9, Th17, Treg и т.д.), продуцировать различные интерлейкины и обладают как про-, так и противовоспалительными механизмами. С. Grönberg и соавт. предположили, что терапевтическое ингибирование активности дифференцировки Т-клеток в Th1-клетки представляет собой перспективную стратегию снижения прогрессии атеросклероза [27].

В атерогенезе Т-лимфоциты играют важную роль, но атерогенная или атеропротекторная роль CD8<sup>+</sup> Т-клеток на поздних стадиях развития атеросклероза остается дискуссионной. В исследовании J. van Duijn с соавт. показана локальная, защитная роль CD8<sup>+</sup> Т-клеток при прогрессирующем атеросклерозе, сравнивая фенотипы CD8<sup>+</sup> Т-клеток, полученных из бляшек аорты, селезенки и крови мышей. При прогрессирующем атеросклерозе на мышинной модели аортальные CD8<sup>+</sup> Т-клетки продуцировали меньшее количество IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  по сравнению с их системными аналогами, с одновременным повышением экспрессии эктонуклеотидазы CD39. При этом фармакологическое ингибирование CD39 у apoE<sup>-/-</sup> мышей частично восстановило продукцию цитокинов CD8<sup>+</sup> Т-клетками. Исследования на образцах атеросклеротических бляшек сонной и бедренной артерии человека подтвердили данные результаты [28, 29].

Гибель клеток ткани является характерным признаком прогрессирующих атеросклеротических бляшек, включая нестабильные поражения, которые в значительной степени ответственны за осложнения

сердечно-сосудистых заболеваний. Данные о накоплении цитотоксических лимфоцитов в очагах поражения человека убедительно свидетельствуют о том, что эти лимфоциты способствуют гибели клеток в атеросклеротических очагах и приводят к потенциальному разрыву бляшек [30].

Клетки-киллеры могут индуцировать гибель клеток различными путями, используя естественные рецепторы активации NK killer (KARs) или цитолитические компоненты перфорин и гранзим В с образованием иммунологического синапса, через который высвобождение цитолитических гранул в конечном итоге приводит к лизису клеток-мишеней [31, 32]. Т-клетки (CD8 и CD4,  $\gamma\delta$ -клетки), NK-клетки вовлечены в атерогенез. Эти клетки в большом количестве присутствуют в нестабильных бляшках. Данный факт свидетельствует о том, что их киллерная функция важна при прогрессировании атеросклеротического процесса [30].

Воспалительные клетки в атеросклеротической бляшке происходят из гемопоэтических стволовых клеток (HSPCs). При анализе мононуклеарных клеток крови методом проточной цитометрии с использованием антител CD38+CD45RA+CD34+HSPCs авторы выяснили, что у пациентов с ИБС (коронарный стеноз 50% и более) уровень циркулирующих HSPCs в периферической крови выше в 1,8 раза, чем у лиц без ИБС. Уровень HSPCs в крови связан со степенью коронарного стеноза. Кроме того, по данным многовариантного логистического анализа, уровень циркулирующих в крови HSPCs был единственным маркером, который связан с наличием легкого и тяжелого (70% и более) коронарного стеноза (ОШ 2,08 (95%-й ДИ 1,35–3,21),  $p = 0,0009$ ), что позволило авторам предложить, что HSPCs – важный маркер для оценки атеросклеротического коронарного стеноза [33].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проточная цитометрия получила бурное развитие как современный метод диагностики и исследований нарушений иммунной системы. Атеросклероз – мультифакторное хроническое воспалительное заболевание, включающее комплекс сложных взаимодействий между сосудистой стенкой и клетками крови, а атеросклеротическая бляшка представляет собой сложную иммунологическую среду.

Научные знания о составе атеросклеротической бляшки и о вкладе клеток, обнаруживаемых в очаге повреждения, постоянно пополняются, благодаря фундаментальным научным исследованиям. Но простая и доступная диагностика раннего атеросклероза остается проблемой, поскольку измерение и определение изменений в клеточных популяциях в области

атеросклеротического очага неосуществимы в клинической практике.

Возможно, именно проточная цитометрия станет приоритетным методом в определении новых прогностических маркеров периферической крови, отражающих тяжесть атеросклеротического процесса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Черешнев В.А. Цитометрический анализ в клинической иммунологии. Екатеринбург: УрО РАН, 2011: 220.
2. Феоктистова В.С., Вавилова Т.В., Сироткина О.В., Болдуева С.А., Гайковая Л.Б., Леонова И.А., Ласковец А.Б., Ермаков А.И. Новый подход к оценке дисфункции эндотелия: определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток методом проточной цитометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60 (4): 23–39.
3. Boos C.J., Balakrishnan B., Blann A.D., Lip G.Y.H. The relationship of circulating endothelial cells to plasma indices of endothelial damage/dysfunction and apoptosis in acute coronary syndromes: implications for prognosis. *J. Thromb. Haemost.* 2008; 6 (11): 1841–1850. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2008.03148.x.
4. Семёнова А.Е., Сергиенко И.В., Домбровский А.Л., Рвачева А.В. Роль эндотелиальных прогениторных клеток при атеросклерозе. *Атеросклероз и дислипидемии*. 2012, 3 (8): 14–24.
5. Fadini G.P., de Kreutzenberg S.V., Coracina A., Baesso I., Agostini C., Tiengo A., Avogaro A. Circulating CD34<sup>+</sup> cells, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 2006; 27 (18): 2247–2255. DOI: 10.1093/eurheartj/ehl198.
6. Zhou B., Ma F.X., Liu P.X., Fang Z.H., Wang S.L., Han Z.B., Poon M.C., Han Z.C. Impaired therapeutic vasculogenesis by transplantation of OxLDL-treated endothelial progenitor cells. *J. Lipid. Res.* 2007; 48 (3): 518–527. DOI: 10.1194/jlr.M600251-JLR200.
7. Vasa M., Fichtlscherer S., Aicher A., Adler K., Urbich C., Martin H., Zeiher A.M., Dimmeler S. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ. Res.* 2001; 89 (1): e1–7. DOI: 10.1161/hh1301.093953.
8. Sen S., McDonald S.P., Coates P.T., Bonder C.S. Endothelial progenitor cells: novel biomarker and promising cell therapy for cardiovascular disease. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2011; 120 (7): 263–283. DOI: 10.1042/CS20100429.
9. Ai S., He Z., Ding R., Wu F., Huang Z., Wang J., Huang S., Dai X., Zhang J., Chen J., Liu L., Wu Z., Liang C. Reduced vitamin D receptor on circulating endothelial progenitor cells: A new risk factor of coronary artery diseases. *J. Atheroscler. Thromb.* 2018; 25 (5): 410–421. DOI: 10.5551/jat.40808.
10. Челомбитко М.А., Шишкина В.С., Ильинская О.П., Каминный А.И., Павлунина Т.О., Самовилова Н.Н., Грачева Е.В., Тарарак Э.М., Проказова Н.В. Цитофлуориметрическое изучение мембранных рафтов на субпопуляциях моноцитов человека при атеросклерозе. *Acta Naturae*. 2014, 6 (4): 86–94.
11. Thomas G.D., Hamers A.A.J., Nakao C., Marcovecchio P., Taylor A.M., McSkimming C., Nguyen A.T., McNamara C.A., Hedrick C.C. Human blood monocyte subsets: A new gating strategy defined using cell surface markers identified by mass cytometry. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2017; 37 (8): 1548–1558. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309145.
12. Luu N.T., Madden J., Calder P.C., Grimbble R.F., Shearman C.P., Chan T., Tull S.P., Dastur N., Rainger G.E., Nash G.B. Comparison of the pro-inflammatory potential of monocytes from healthy adults and those with peripheral arterial disease using an in vitro culture model. *Atherosclerosis*. 2007. 193 (2): 259–268. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2006.08.050.
13. Kapellos T.S., Bonaguro L., Gemünd I., Reusch N., Saglam A., Hinkley E.R., Schultze J.L. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases. *Front. Immunol.* 2019; 10: 2035. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02035.
14. Arnold K.A., Blair J.E., Paul J.D., Shah A.P., Nathan S., Alenghat F.J. Monocyte and macrophage subtypes as paired cell biomarkers for coronary artery disease. *Exp. Physiol.* 2019; 104 (9): 1343–1352. DOI: 10.1113/EP087827.
15. Krychtiuk K.A., Kastl S.P., Pfaffenberger S., Lenz M., Hofbauer S.L., Wannerth A., Koller L., Katsaros K.M., Pongratz T., Goliasch G., Niessner A., Gaspar L., Huber K., Maurer G., Dostal E., Wojta J., Oravec S., Speidl W.S. Association of small dense LDL serum levels and circulating monocyte subsets in stable coronary artery disease. *PLoS One*. 2015; 10 (4): e0123367. DOI: 10.1371/journal.pone.0123367.
16. Mráz M., Cinkajzlová A., Kloučková J., Lacinová Z., Kratochvílová H., Lipš M., Pořízka M., Kopecký P., Pierzynová A., Kučera T., Melenovský V., Stříž I., Lindner J., Haluzik M. Coronary artery disease is associated with an increased amount of T lymphocytes in human epicardial adipose tissue. *Mediators Inflamm.* 2019; 2019: 4075086. DOI: 10.1155/2019/4075086.
17. Oikonomopoulou K., Ricklin D., Ward P.A., Lambris J.D. Interactions between coagulation and complement – their role in inflammation. *Semin. Immunopathol.* 2012; 34 (1): 151–165. DOI: 10.1007/s00281-011-0280-x.
18. Mishra N., Mohata M., Narang R., Lakshmy R., Hazarika A., Pandey R.M., Das N., Luthra K. Altered expression of complement regulatory proteins CD35, CD46, CD55, and CD59 on leukocyte subsets in individuals suffering from coronary artery disease. *Front. Immunol.* 2019; 10: 2072. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02072.
19. Гривель Ж.-Ш., Иванова О.И., Пинегина Н.В., Бланк П.С., Шпектор А.В., Марголис Л.Б., Васильева Е.Ю. Новый метод анализа клеточного состава атеросклеротических бляшек. *Креативная кардиология*. 2012; 1: 26–40.
20. Lebedeva A., Vorobyeva D., Vagida M., Ivanova O., Felker E., Fitzgerald W., Danilova N., Gontarenko V., Shpektor A., Vasilieva E., Margolis L. Ex vivo culture of human atherosclerotic plaques: A model to study immune cells in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 2017; 267: 90–98. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.10.003.
21. Curry M.P., Norris S., Golden-Mason L., Doherty D.G., Deignan T., Collins C., Traynor O., McEntee G.P., Hegarty J.E., O'Farrelly C. Isolation of lymphocytes from normal adult human liver suitable for phenotypic and functional characterization. *J. Immunol. Methods*. 2000; 242 (1-2): 21–31. DOI: 10.1016/S0022-1759(00)00204-0.

22. Bonanno E., Mauriello A., Partenzi A., Anemona L., Spagnoli L.G. Flow cytometry analysis of atherosclerotic plaque cells from human carotids: a validation study. *Cytometry*. 2000; 39 (2): 158–165. DOI: 10.1002/(sici)1097-0320(20000201)39:2<158::aid-cyto9>3.0.co;2-8.
23. Willems S., Vink A., Bot I., Quax P.H., de Borst G.J., de Vries J.P., van de Weg S.M., Moll F.L., Kuiper J., Kovanen P.T., de Kleijn D.P., Hoefer I.E., Pasterkamp G. Mast cells in human carotid atherosclerotic plaques are associated with intraplaque microvessel density and the occurrence of future cardiovascular events. *Eur. Heart J.* 2013; 34 (48): 3699–3706. DOI: 10.1093/eurheartj/ehd186.
24. Kovanen P.T., Bot I. Mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease – Activators and actions. *Eur. J. Pharmacol.* 2017; 816: 37–46. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.10.013.
25. Kritikou E., Depuydt M., de Vries M., Mulder K., Govaert A., Smit M., van Duijn J., Foks A., Wezel A., Smeets H., Slütter B., Quax P., Kuiper J., Bot I. Flow cytometry-based characterization of mast cells in human atherosclerosis. *Cells*. 2019; 8 (4): 334. DOI: 10.3390/cells8040334.
26. Winkels H., Ehinger E., Ghosheh Y., Wolf D., Ley K. Atherosclerosis in the single-cell era. *Curr. Opin. Lipidol.* 2018; 29 (5): 389–396. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000537.
27. Grönberg C., Nilsson J., Wigren M. Recent advances on CD4+ T cells in atherosclerosis and its implications for therapy. *Eur. J. Pharmacol.* 2017; 816: 58–66. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.04.029.
28. Van Duijn J., van Elsas M., Benne N., Depuydt M., Wezel A., Smeets H., Bot I., Jiskoot W., Kuiper J., Slütter B. CD39 identifies a microenvironment-specific anti-inflammatory CD8+ T-cell population in atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*. 2019; 285: 71–78. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.04.217.
29. Van Duijn J., Kritikou E., Benne N., van der Heijden T., van Puijvelde G.H., Kröner M.J., Schaftenaar F.H., Foks A.C., Wezel A., Smeets H., Yagita H., Bot I., Jiskoot W., Kuiper J., Slütter B. CD8+ T-cells contribute to lesion stabilization in advanced atherosclerosis by limiting macrophage content and CD4+ T-cell responses. *Cardiovasc. Res.* 2019; 115 (4): 729–738. DOI: 10.1093/cvr/cvy261.
30. Kyaw T., Tipping P., Toh B.-H., Bobik A. Killer cells in atherosclerosis. *Eur. J. Pharmacol.* 2017; 816: 67–75. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.05.009.
31. Pegram H.J., Andrews D.M., Smyth M.J., Darcy P.K., Kershaw M.H. Activating and inhibitory receptors of natural killer cells. *Immunol. Cell Biol.* 2011; 89 (2): 216–224. DOI: 10.1038/icb.2010.78.
32. Griffiths G.M., Tsun A., Stinchcombe J.C. The immunological synapse: A focal point for endocytosis and exocytosis. *J. Cell Biol.* 2010; 189 (3): 399–406. DOI: 10.1083/jcb.201002027.
33. Zhu F.L., Zhang N., Ma X.J., Yang J., Sun W.P., Shen Y.Q., Wen Y.M., Yuan S.S., Zhao D., Zhang H.B., Feng Y.M. Circulating hematopoietic stem/progenitor cells are associated with coronary stenoses in patients with coronary heart disease. *Sci. Rep.* 2019; 9 (1): 1680. DOI: 10.1038/s41598-018-38298-5.

## Сведения об авторах

**Стахнёва Екатерина Михайловна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0003-0484-6540

**Рагино Юлия Игоревна**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-4936-8362.

(✉) Стахнёва Екатерина Михайловна, e-mail: stahneva@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.01.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Диффузионные данные магнитно-резонансной томографии: разработка методологии и инструментов использования в диагностике и лечении заболеваний головного мозга

Уразова К.А.<sup>1,3</sup>, Горлачев Г.Е.<sup>2</sup>, Черняев А.П.<sup>3</sup>, Голанов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко  
Россия, 125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

<sup>2</sup> Научный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии имени Н.Н. Блохина  
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24

<sup>3</sup> Московский государственный университет (МГУ) имени М.В. Ломоносова  
Россия, 119991, г. Москва, Ленинские горы, 1/2

### РЕЗЮМЕ

Использование различных карт количественных характеристик диффузии несет в себе большой потенциал для медицинской диагностики и терапии патологии головного мозга, так как позволяет классифицировать опухоли, определять степень их злокачественности, дифференцировать различные морфологические структуры опухолевых и неопухолевых патологических процессов (таких как строма опухоли, зоны некроза, кисты, различные виды отека и т.д.), прогнозировать течение и исход заболеваний, в частности клинический ответ на проведенное лечение. На основе диффузионно-взвешенной томографии возможна реализация трехмерной реконструкции волокон белого вещества головного мозга, называемая трактографией. Помимо уникальной возможности визуализировать расположение трактов относительно интракраниальных патологических изменений, данная технология позволяет строить и анализировать комплексные карты сложных сетей связей в головном мозге (коннектомика).

Обзор посвящен обсуждению физико-технической концепции диффузионно-взвешенной томографии, ключевых направлений применения в случае опухолевых и неопухолевых процессов, а также проблем, затрудняющих процесс корректной интерпретации результатов. Так как в настоящий момент остается актуальной задача применения программного обеспечения для работы с диффузионными показателями магнитно-резонансной томографии, то в представленном обзоре показан собственный опыт разработки приложения в рамках проекта по созданию эффективных методик интерпретации диффузионных данных и построению трактов белого вещества головного мозга.

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография, диффузионно-взвешенная томография, трактография, головной мозг, нейронауки.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-32-90198).

**Для цитирования:** Уразова К.А., Горлачев Г.Е., Черняев А.П., Голанов А.В. Диффузионные данные магнитно-резонансной томографии: разработка методологии и инструментов использования в диагностике и лечении заболеваний головного мозга. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 191–201. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-191-201>.

## Diffusion magnetic resonance imaging data: development of methods and tools for diagnosis and treatment of brain diseases

Urazova K.A.<sup>1,3</sup>, Gorlachev G.E.<sup>2</sup>, Chernyaev A.P.<sup>3</sup>, Golanov A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N.N. Burdenko National Scientific and Practical Center for Neurosurgery  
16, 4<sup>th</sup> Tverskaya-Yamskaya Str., Moscow, 125047, Russian Federation

<sup>2</sup> N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology  
24, Kashirskoye Highway, Moscow, 115478, Russian Federation

<sup>3</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University  
1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

### ABSTRACT

The use of quantitative mapping of diffusion characteristics carries great potential for diagnosis and therapy of brain diseases, since it potentially allows to classify tumors, determine the degree of their malignancy, differentiate various morphological structures of tumor and non-tumor pathologies (such as tumor stroma, necrotic zones, cysts, various types of edema, etc.), and predict the course and outcome of diseases, in particular, a clinical response to treatment. Based on diffusion weighted magnetic resonance imaging (MRI), it is possible to perform 3D modeling of the white matter pathways of the brain, which is called tractography. In addition to a unique ability to visualize the location of tracts in relation to intracranial pathologies, this technology allows to build and analyze complex maps of communication networks in the brain (connectomics).

The review is devoted to the discussion of the physical and technical concept of diffusion weighted MRI, the key ways of its application in tumor and non-tumor processes, and problems that complicate correct interpretation of results. Since the problem of developing software for diffusion MRI data remains relevant, this review presents our own experience in developing an application as part of a project on creating effective methods for processing diffusion MRI data and modeling white matter tracts.

**Key words:** magnetic resonance imaging, diffusion weighted magnetic resonance imaging, tractography, brain, neuroscience.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 19-32-90198).

**For citation:** Urazova K.A., Gorlachev G.E., Chernyaev A.P., Golanov A.V. Diffusion magnetic resonance imaging data: development of methods and tools for diagnosis and treatment of brain diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 191–201. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-191-201>.

## ВВЕДЕНИЕ

Интрoскопия является ключевой дисциплиной в медицинской диагностике. Технические достижения как в конструкции томографов, так и в программном обеспечении для них позволили решить существующие проблемы и открыть новые научные направления, которые ранее не могли быть инвазивно изучены на живых людях. В этом контексте диффузионно-взвешенная томография (ДВТ) стала широко используемой методикой исследования структуры и функций мозга, поскольку она позволяет проводить измерения ориентации волокон белого вещества в режиме *in vivo*. Это особенно актуально в областях стереотаксической радиохирургии и нейрохирургии,

где важно оценивать степень вовлечения функционально значимых зон в патологический процесс, при этом в определенных случаях стандартного набора изображений (T1w, T1w с контрастом, T2w, FLAIR и т.д.) может быть недостаточно для того, чтобы дифференцировать различные морфологические структуры при опухолевых и неопухолевых патологических процессах.

## ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИФФУЗИОННЫХ ДАННЫХ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

ДВТ представляет собой технику магнитно-резонансной томографии (МРТ), дающую информацию

о микроскопических смещениях молекул воды, которые происходят в биологических тканях за счет физической диффузии.

Пусть вектор  $\mathbf{r}_0$  – начальное положение частицы в момент времени  $t = 0$ , а вектор  $\mathbf{r}$  – ее последующее положение в момент времени  $t = \tau$ . Обобщая уравнение Эйнштейна [1] на случай анизотропной среды, получаем

$$D = \frac{1}{6\tau} \langle \mathbf{R}^T \cdot \mathbf{R} \rangle = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix}, \quad (1)$$

где  $D$  – тензор диффузии, вектор показывает перемещение частицы. Можно показать, что этот тензор второго ранга является симметричным и положительно определенным, а также то, что его собственные значения вещественны.

Для вычисления тензора диффузии  $D(\mathbf{r})$  необходимо получить несколько ДВТ в различных неколлинеарных направлениях градиента  $\mathbf{g}_k$  ( $k = 1, \dots, N$ ) [2]. В общем виде тензор диффузии может быть рассчитан путем решения следующей системы уравнений:

$$\underbrace{\begin{bmatrix} (\hat{g}_{1x})^2 & 2\hat{g}_{1x}\hat{g}_{1y} & 2\hat{g}_{1x}\hat{g}_{1z} & (\hat{g}_{1y})^2 & 2\hat{g}_{1y}\hat{g}_{1z} & (\hat{g}_{1z})^2 \\ (\hat{g}_{2x})^2 & 2\hat{g}_{2x}\hat{g}_{2y} & 2\hat{g}_{2x}\hat{g}_{2z} & (\hat{g}_{2y})^2 & 2\hat{g}_{2y}\hat{g}_{2z} & (\hat{g}_{2z})^2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ (\hat{g}_{Nx})^2 & 2\hat{g}_{Nx}\hat{g}_{Nz} & 2\hat{g}_{Nx}\hat{g}_{2N} & (\hat{g}_{Ny})^2 & 2\hat{g}_{Ny}\hat{g}_{Nz} & (\hat{g}_{Nz})^2 \end{bmatrix}}_G \underbrace{\begin{bmatrix} D_{xx}(\mathbf{r}) \\ D_{xy}(\mathbf{r}) \\ D_{xz}(\mathbf{r}) \\ D_{yy}(\mathbf{r}) \\ D_{yz}(\mathbf{r}) \\ D_{zz}(\mathbf{r}) \end{bmatrix}}_{\widetilde{D}(\mathbf{r})} = \underbrace{\begin{bmatrix} \frac{1}{b} \ln \frac{S_0(\mathbf{r})}{S_1(\mathbf{r})} \\ \frac{1}{b} \ln \frac{S_0(\mathbf{r})}{S_2(\mathbf{r})} \\ \vdots \\ \frac{1}{b} \ln \frac{S_0(\mathbf{r})}{S_N(\mathbf{r})} \end{bmatrix}}_{B(\mathbf{r})} \quad (6)$$

Если получено больше шести направлений, то систему уравнений (6) можно решить, используя приближение наименьших квадратов. К примеру, если использовать линейное невзвешенное приближение наименьших квадратов, то

$$\widetilde{D}(\mathbf{r}) = (G^T \cdot G)^{-1} \cdot G^T \cdot B(\mathbf{r}). \quad (7)$$

В диффузионно-тензорной томографии (ДТТ) предполагается [4], что распределение молекул, подверженных диффузии, характеризуется Гауссовой условной плотностью вероятности  $p(\mathbf{r}|\mathbf{r}_0, \tau)$ , даваемой выражением (4). Таким образом,  $D$  может быть связан с эллипсоидом, который является изоповерхностью плотности вероятности диффузии молекулы. Ввиду того, что  $D$  – симметричный положительно определенный тензор второго ранга, он может быть разложен на собственные векторы (которые образуют ортогональный базис) и на вещественные собственные значения [5]

$$D = E \cdot \Lambda \cdot E^{-1}, \quad (8)$$

$$S_k(\mathbf{r}) = S_0(\mathbf{r}) e^{-b \hat{g}_k^T \cdot D(\mathbf{r}) \cdot \hat{g}_k}, \text{ где } \hat{g}_k = \frac{\mathbf{g}_k}{\|\mathbf{g}_k\|}, \quad (2)$$

где  $S_0(\mathbf{r})$  – сигнал в отсутствие диффузионных градиентов (т.е.  $\|\mathbf{g}\| = 0$ ).

Коэффициент  $b$  – это так называемый  $b$ -фактор, введенный в работе [3] и определенный как

$$b_k = \gamma^2 \delta^2 \left( \Delta - \frac{\delta}{3} \right) \|\mathbf{g}\|^2, \quad (3)$$

где  $\gamma$  – гиромагнитное отношение водорода (42,58 МГц/Тл),  $\delta$  – длительность сигнала,  $\Delta$  – время между приложением этих импульсов.

Плотность распределения  $p(\mathbf{r}|\mathbf{r}_0, \tau)$  для анизотропной среды

$$p(\mathbf{r}|\mathbf{r}_0, \tau) = \frac{1}{\sqrt{(4\pi\tau)^3 |D|}} e^{-\frac{(\mathbf{r}-\mathbf{r}_0)^T \cdot D^{-1} \cdot (\mathbf{r}-\mathbf{r}_0)}{4\tau}}. \quad (4)$$

Также, поскольку  $\|\mathbf{g}_k\|$  различны, то  $b$ -фактор можно выразить следующим образом:

$$b_k = \gamma^2 \delta^2 \left( \Delta - \frac{\delta}{3} \right) \|\mathbf{g}_k\|^2, \quad (5)$$

Систему уравнений (2) удобнее переписать в виде

$$E = [e_1 \ e_2 \ e_3] \text{ и } \Lambda = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{bmatrix}. \quad (9)$$

## РАБОТА С ДИФфуЗИОННЫМИ ДАННЫМИ

Разработка методологии и инструментов работы с диффузионными данными МРТ предполагает всестороннее рассмотрение нескольких аспектов.

В данном разделе ключевыми вопросами являются следующие: Для чего использовать диффузионные изображения? Какими возможностями они обладают? Какую информацию можно получить с их помощью наряду с другими модальностями МРТ?

## ДВТ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССОВ

Благодаря обработке диффузионных исследований и анализу их параметров (измеряемого коэффициента диффузии (ИКД), фракционной анизотропии (ФА), среднего коэффициента диффузии и т.д.) со-

вместно с другими доступными для конкретного пациента модальностями МРТ, имеется возможность неинвазивно:

1. Классифицировать новообразование или процесс.

Лимфома центральной нервной системы (ЦНС) часто демонстрирует более низкий ИКД [6–9], чем другие, потенциально похожие по сигналу на анатомических МРТ образования, такие как глиальные опухоли, метастазы или инфекционные поражения.

Некоторые из наиболее распространенных опухолей головного мозга у детей существенно различаются по своим диффузионным свойствам, что может быть полезно при дифференциальной диагностике. В частности, медуллобластомы, как правило, имеют значительно более низкий ИКД [10], чем эпендимомы или пилоидные астроцитомы.

В большинстве случаев ДВТ позволяет отличить абсцесс от некроза опухоли (на анатомических МРТ сигналы от них часто имитируют друг друга), поскольку ИКД для гнойного экссудата обычно намного ниже, чем для некроза [11].

2. Определять степень злокачественности опухоли.

В исследовании [12] была доказана статистически значимая корреляция между клеточностью опухоли и минимальным значением измеряемого коэффициента диффузии (ИКД), которая не была выявлена по отношению к T2w изображениям. Отмечается, что значение ИКД для глиальных опухолей высокой степени злокачественности  $((0,82-2,46) \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с})$ , среднее значение ИКД  $= (1,26 \pm 0,40) \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с})$  значительно превышало значение для низкой степени злокачественности  $((1,94-3,31) \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с})$ , среднее значение ИКД  $= (2,7 \pm 0,7) \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с})$ .

3. Прогнозировать течение, исход заболеваний и клинический ответ на проведенное лечение.

Поскольку не все опухоли головного мозга одинаково реагируют на определенный терапевтический режим, то своевременное обнаружение неудач лечения позволит быстрее реализовывать альтернативные схемы. Было показано, что ДВТ обладает чувствительностью к клеточности тканей и, следовательно, потенциально может быть использована как терапевтический биомаркер [13]. Так, например, в работе [14] был предложен метод функциональных диффузионных карт, рассчитываемых путем вычитания одной из другой карт ИКД, выполненных на момент поступления пациента на лечение (базовая) и в текущий момент. Каждый воксел картируется одним из трех цветов: синие воксели – уменьшение ИКД, указывающее на увеличение плотности клеток в опухоли; красные – увеличение ИКД, указывающее на

снижение плотности клеток; зеленые воксели – без значительных изменений в ИКД. Таким образом, данный метод позволяет количественно оценивать ответ опухоли на лечение в динамике при условии, что анатомические МРТ не всегда могут достоверно продемонстрировать рентгенологический ответ.

4. Реализовывать трактографию.

В самом простом виде трактографию можно интерпретировать следующим образом [15–17]: каждый воксел визуализации характеризуется одной преобладающей ориентацией волокна и объединяет эти локальные ориентации, чтобы вывести глобальные траектории. Математически множество локальных ориентаций волокон можно рассматривать как трехмерное (3D) векторное поле, а глобальные траектории – как его линии тока [18–20]. Линия тока – это любая кривая, которая касается векторного поля вдоль траектории и может быть представлена в виде трехмерной пространственной кривой  $\mathbf{r}(s)$ , параметризованной длиной ее дуги  $s$ . Для выравнивания линии тока с векторным полем тангенс на длине дуги  $s$  должен быть равен вектору в соответствующем отношении:

$$\frac{d\mathbf{r}(s)}{ds} = \mathbf{v}[\mathbf{r}(s)], \quad (10)$$

где  $\mathbf{r}(s)$  обозначает положение вдоль линии тока, а  $\mathbf{v}$  – трехмерное векторное поле.

Приведенное выше уравнение является дифференциальным и может быть решено следующим образом:

$$\mathbf{r}(s) = \int_{s_0} \mathbf{v}[\mathbf{r}(s)] ds, \quad (11)$$

где  $\mathbf{r}(s_0) = \mathbf{r}_0$  представляет начальную точку линии тока.

Вышеуказанный процесс ориентации на линии тока обычно называется реконструкцией линий тока или трактографией, а получающиеся траектории – трактами или путями. Трактограмма представляет собой множество трактов, восстановленных с использованием ресурсов трактографии.

В трактографии имеются два разных подхода – детерминированный и вероятностный (существует также глобальный [21–23], но его подробное рассмотрение остается вне данной статьи). С их помощью можно визуализировать различную информацию – тракты головного мозга и карты связей соответственно [24, 25]. Отсутствие информации об ошибке в процедуре отслеживания волокон является существенным ограничением методов детерминированной трактографии. С целью оценки этой неопределенности алгоритмы вероятностной трактографии создают большой набор трактов (или распределение возможных траекторий путей из каждой начальной

точки). Результаты вероятностной трактографии часто представляют в виде количественных карт числа прохода трактов через воксел, так как предполагается, что области мозга, которые отображаются более высокими плотностями результирующих траекторий, имеют более высокую вероятность «связи» с начальной точкой [26, 27].

## ДВТ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ НЕОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССОВ

Параметры диффузионных исследований могут быть предикторами патологии задолго до того, как она проявится морфологически. Например, ДТТ позволяет выявить специфичные изменения в количественных значениях параметров ДВТ у пациентов с функциональными изменениями при таких видах патологии, как эпилепсия, рассеянный склероз (РС), болезнь Паркинсона, обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) и т.д.

Согласно данным патологоанатомических исследований, наблюдается широкое вовлечение серого вещества в демиелинизирующий процесс при РС. При этом некоторые кортикальные очаги остаются невидимыми на анатомических МРТ (даже при использовании 3.0 Тл сканеров) [28]. В исследовании [29] с использованием ДТТ было показано, что значения ФА для внутрикортикальных очагов РС выше, чем для очагов в сером веществе. Это «парадоксальное» открытие фактически может отражать потерю дендритов внутри очага поражения и активацию микроглиальных клеток.

В другой работе [30] была исследована связь меж-

ду временем T2-релаксации и количественными данными ДТТ: очаги РС, характеризующиеся более длинными сроками, демонстрировали наиболее выраженные аномалии диффузии, которые сильно коррелировали с пониженным содержанием миелиновой воды. При совместном рассмотрении эти результаты подтверждают представление о том, что ДТТ способна выявлять на ранних стадиях и оценивать тяжесть функционально значимого повреждения ткани при РС.

Показано, что в предполагаемых эпилептогенных областях [31] наблюдается уменьшение ФА и увеличение среднего коэффициента диффузии. При этом трактография фиксирует изменения в нервных волокнах мозга, отвечающих за память и речь у пациентов с височной эпилепсией.

Цингулярный пучок (ЦП) волокон, как уже давно доказано, участвует в патогенезе ОКР, однако результаты его исследования неоднозначны. При изучении левого ЦП обнаружены как более высокие [32], так и более низкие значения ФА по сравнению с контролем [33]. Другие работы [33, 34] продемонстрировали более низкие величины ФА в правой части ЦП у пациентов с ОКР. В дополнение к данным по ЦП, отмечается высокий уровень ФА во внутренней капсуле, мозолистом теле [34, 35] и полуовальном центре [36], а также низкий уровень ФА в теменной доли, надкраевой извилине и левой язычной извилине в затылочной доле [33]. Описываемые выше данные успешно используются для проведения функциональной стереотаксической радиохирургии [37] (рис. 1).

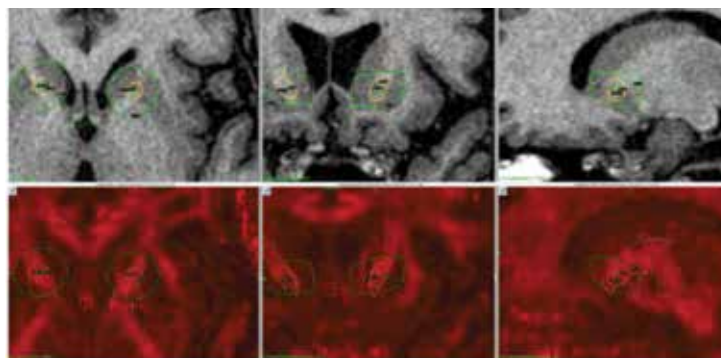


Рис. 1. План облучения пациента с обсессивно-компульсивным расстройством на Гамма-Ноже. В качестве мишени выбирается внутренняя капсула (оранжевый контур), к которой подводится доза 80 Гр по 50%-й изодозе: внутренняя зеленая линия – 140 Гр, желтая – 80 Гр, внешняя зеленая линия – 15 Гр

## РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТРАКТОВ БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА

Другой путь использования диффузионных изображений относится к визуализации критических структур и оптимизации дозы, получаемой ими при

проведении стереотаксической лучевой терапии. В современной клинической практике нам доступны ограниченные рекомендации по дозам толерантности критических структур. Если поднимать вопрос о нагрузках на мозг, то не существует дифференциации ограничений по дозе для белого вещества,

коры головного мозга и различных структур серого вещества. А нужна ли она на самом деле? Нужно ли визуализировать и выделять тракты, прилежащие к опухолям или вовлеченные в нее, и эффективно снижать дозу облучения на них?

В работе [38] было показано, что с увеличением дозы, приходящейся на область интереса, и времени после проведения курса лучевой терапии, значения коэффициентов средней, осевой ( $\lambda_{||}$ ) и радиальной ( $\lambda_{\perp}$ ) диффузии значительно увеличились с соответствующим уменьшением ФА, что свидетельствует о явных изменениях в волокнах и их радиочувствительности к терапевтическим дозам облучения. Изменения были значимыми через 4–6 мес и более ( $p < 0,001$ ). Отсюда можно сделать вывод, что при планировании облучения мишеней, располагающихся в окрестности функциональных зон, неприятие во внимание близлежащих трактов белого вещества, вероятно, может привести к нейрокогнитивным нарушениям.

## ИНСТРУМЕНТЫ РАБОТЫ С ДИФфуЗИОННЫМИ ДАННЫМИ МРТ

Ключевые вопросы: «Как разрабатывать сами инструменты для работы с диффузионными данными МРТ, а именно с какими проблемами и ограничениями придется столкнуться и как их решить? Какое программное обеспечение существует в данный момент?»

При работе с диффузионными данными МРТ возникают проблемы, касающиеся:

1. Обработки неоднозначных локальных геометрий.

При использовании тензорной модели для работы с диффузионными данными невозможно различить на уровне вокселей такие конфигурации волокон, как пересечение, соприкосновение (kissing), изгиб и «веер» [39]. В таком случае может потребоваться использование моделей диффузии «высокого порядка» [40–47].

2. Реконструкции вблизи коры.

Отслеживание волокон вблизи коры и извилинах является сложной задачей [48, 49], так как обусловлено большими ошибками моделирования в локальной оценке ориентации волокон при приближении к серому веществу. Алгоритмы «высокого порядка» обеспечивают высококачественную оценку ориентации волокон в вокселях белого вещества. Но наряду с этим могут давать ненадежные результаты в вокселях, частично содержащих серое вещество. Для решения этой проблемы необходимо использовать локальные модели, учитывающие присутствие других типов тканей или микроструктурных компартментов.

3. Пространственного разрешения.

В настоящее время получение ДВТ всего головного мозга для рутинного использования в течение разумного времени сканирования ограничено до 2 мм<sup>3</sup>. При этом очевидно следующее: чтобы охарактеризовать тонкие структуры белого вещества и, в частности, замысловатые структуры извилин коры головного мозга или небольшие структуры вблизи серого вещества (ядра, ствол мозга), требуется более высокое пространственное разрешение. Его увеличение является нетривиальной задачей, поскольку обычно оно сопровождается либо значительным снижением отношения сигнал – шум, либо значительным увеличением времени сбора данных.

4. Углового разрешения.

Модели локальных ориентаций не в состоянии различить две популяции волокон, когда угол между ними падает ниже определенного порога. Такие эффекты могут потенциально сгенерировать полностью искусственные волокна. Несмотря на существование такого термина, как «диффузионная визуализация с высоким угловым разрешением», угловое разрешение ДВТ довольно ограничено. Как следствие, даже при использовании самых современных методов диффузионной визуализации с высоким угловым разрешением и передовых методов оценки ориентации волокон углы ниже 30° между волокнами редко разрешаются.

5. Ложных срабатываний.

Как показано в работах [50–52], ввиду того, что разные конфигурации волокон могут привести к одному и тому же сигналу МРТ в вокселе, генерируется большое количество ложноположительных трактов и связей. Для 96 трактограмм, показанных на ISMRM 2015 Tractography Challenge 21-й международной группой, в среднем на одно действительное волокно приходилось четыре ложноположительных.

6. Артефактов.

ДВТ, как и любая эхо-планарная последовательность, подвержена ряду артефактов: аппаратно-физическим (магнитной восприимчивости, вихревых токов, артефакт градиентов и т.д.) и артефактам, связанным с объектом исследования (артефакты движения, пульсации крови, химического сдвига, жирового давления и т.д.).

## КОРРЕКЦИЯ ИСКАЖЕНИЙ ИЗОБРАЖЕНИЙ

Перед работой с ДВТ в первую очередь необходимо обработать изображение, а именно скорректировать искажения, вызванные вышеперечисленными артефактами. При этом уже есть и постоянно разрабатываются новые методы борьбы с ними как аппаратного, так и программного характера.

Наиболее интересен метод коррекции, реализованный в FSL (FMRIB, Англия). Он основан на выборе ковариационной функции, которая позволяет прогнозировать сигнал от вокселей даже со сложной конфигурацией волокон.

Данные диффузии (в каждом вокселе) получают путем измерения сигнала после применения диффузионного взвешивания (характеризуемого  $b$ -фактором и вектором  $g$  единичной длины, задающим направление). Полный протокол диффузии состоит из нескольких измерений в разных направлениях градиента. Следовательно, данные могут рассматриваться как переменная отклика (сигнала), полученная на поверхности сферы.

Из этого следует два важных аспекта: 1) сигнал изменяется плавно при изменении угла направления взвешивания диффузии; 2) сигнал является аксиально симметричным, т. е. сигнал вдоль  $g$  идентичен сигналу вдоль  $-g$ .

Поскольку диффузионный сигнал распределен по сфере, то для работы с ним могут быть использованы методы, применяемые в геостатистике, где особым случаем Гауссова процесса, наблюдаемого на сфере, является так называемый кригинг. Для этих методов ковариация часто определяется как функция угла  $\theta$  между двумя векторами от центра сферы до  $x$  (наблюдаемые точки) и  $x'$  (прогнозируемые в отсутствие искажений точки). Эти векторы легко представляются как  $g$ -векторы, описанные выше. Двумя популярными ковариационными функциями, определяющими взаимосвязь между наблюдаемыми точками и прогнозируемыми (искомыми), в геостатистике являются:

1) «экспоненциальная модель»:

$$C(\theta) = e^{-\theta/a} \text{ для } 0 \leq \theta \leq \pi, \quad (12)$$

где  $a$  – положительный параметр шкалы;

2) «сферическая модель»:

$$C(\theta) = \begin{cases} 1 - \frac{3\theta}{2a} + \frac{\theta^3}{2a^3} & \text{для } \theta \leq a \\ 0 & \text{для } \theta \geq a, \end{cases} \quad (13)$$

где  $a$  – снова положительный параметр шкалы, который здесь определяет «расстояние», на котором ковариация  $\theta$  стремится к нулю.

## ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ РАБОТЫ С ДВТ

Процесс работы с диффузионными изображениями разбивается на следующие этапы: пре-процессинг, включающий коррекцию артефактов и вычленение маски головного мозга, непосредственная работа с изображением и визуализация, а именно извлече-

ние тензоров диффузии, построение карт параметров диффузии, трактов, кластеризация и затем количественный анализ. Если рассматривать все многообразие программного обеспечения (ПО), работающего с ДВТ, и опираясь на этапы работы с ним, то можно выделить несколько программ – AFNI (NIMH, США), FSL (FMRIB, Англия), MRTrix (коллаборация большого числа институтов из разных стран мира), 3D Slicer (NIH, США), Camino (University College London, Англия), TrackVis (MGH GCRC и NIMH, США) и т.д. Однако ни одна из них не охватывает весь спектр задач. Помимо этого, многие программные продукты, разработанные для обработки диффузионных изображений, подразумевают написание и (или) понимание скриптов, что предполагает большой объем ручной работы, малопрозрачной для непрограммистов. На данный момент в планировании лучевой терапии функционал по обработке диффузионных данных недоступен в рамках коммерческого специализированного программного обеспечения.

С учетом всего ранее сказанного, остается актуальной задача разработки ПО, наиболее полноценно охватывающего задачи работы с диффузией.

## РАЗРАБОТКА СОБСТВЕННОГО ПО

Нами разрабатывается приложение MRDiffusion на стандартном языке C++. Предметная часть вынесена в отдельные библиотеки классов и может использоваться на различных платформах. В настоящее время в качестве пользовательского интерфейса выбрана платформа Windows 10. Формы создаются на языке XAML. Графика формируется с помощью среды DirecX. Для ряда вычислительных задач используются математические библиотеки с открытыми кодами.

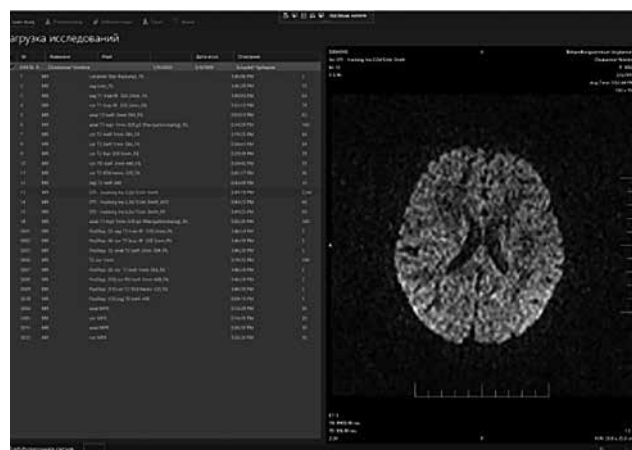


Рис. 2. Загрузка изображений в MRDiffusion

При помощи интерфейса можно подгрузить (рис. 2) полученные в ходе МРТ-обследования файлы в формате DICOM с обязательной серией ДТТ,

которые будут отображены с возможностью выбора конкретной серии, что, безусловно, удобно с точки зрения навигации по изображениям и эффективно в рабочих условиях.

Для дальнейшей обработки изображений необходимо извлечь маску головного мозга, что выполняется по изображениям с нулевым градиентом, то есть по T2w (рис. 3, *a*).

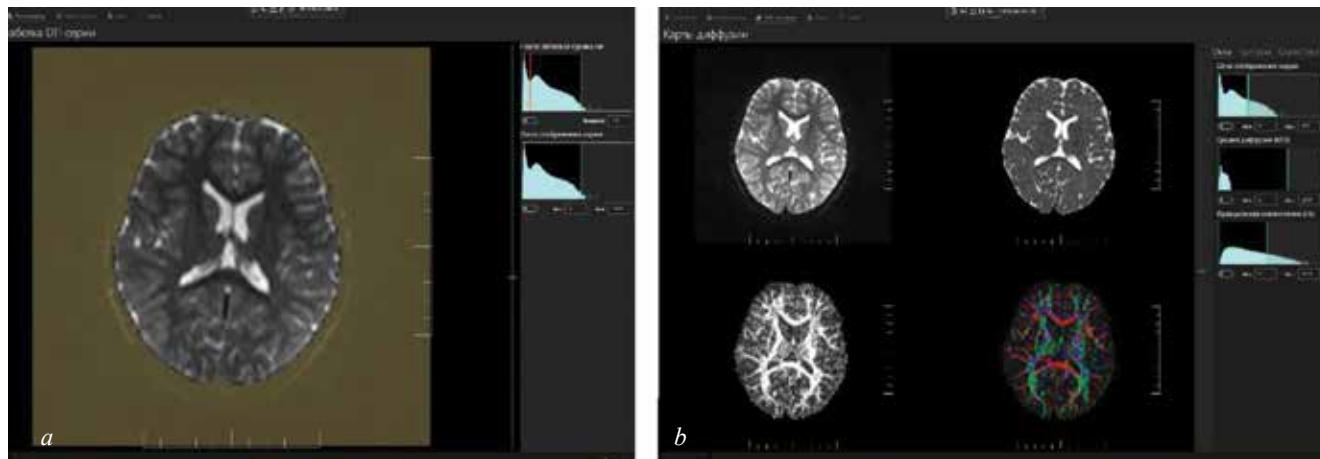


Рис. 3. Выделение маски головного мозга (*a*); количественные карты диффузии (*b*)

В рамках приложения возможен расчет таких количественных параметров, как средней диффузии и ФА, представленной в двух вариантах – обычной и с кодированием направлений цветом (рис. 3, *b*).

На данный момент трактография реализована простым детерминированным методом – Fiber Assignment by Continuous Tracking (FACT, выделение трактов непрерывным отслеживанием). Суть его заключается в следующем.

Выделение тракта начинается в центре каждого вокселя со значением ФА выше заранее заданного порога и продолжается параллельно главному направлению диффузии. Черными стрелками (рис. 4, *a*) обозначены собственные вектора тензора диффузии с наибольшим собственным значением. В точке,

где тракт пересекает воксель, направление меняется согласно новому главному направлению. Итеративно продолжая подобные действия, восстановление тракта будет прерываться при наступлении условий остановки алгоритма: если ФА в вокселе меньше пороговой или в случае, если угол между новым и старым главным направлением диффузии окажется выше заранее заданного порога по углу. Восстановление тракта происходит в обоих направлениях из начальной точки – по направлению главного вектора и против него. При этом каждый кусочек тракта имеет цвет, получаемый смешением красного, зеленого и синего, которые, в свою очередь, обозначают главное направление диффузии в том или ином направлении (рис. 4, *b*).

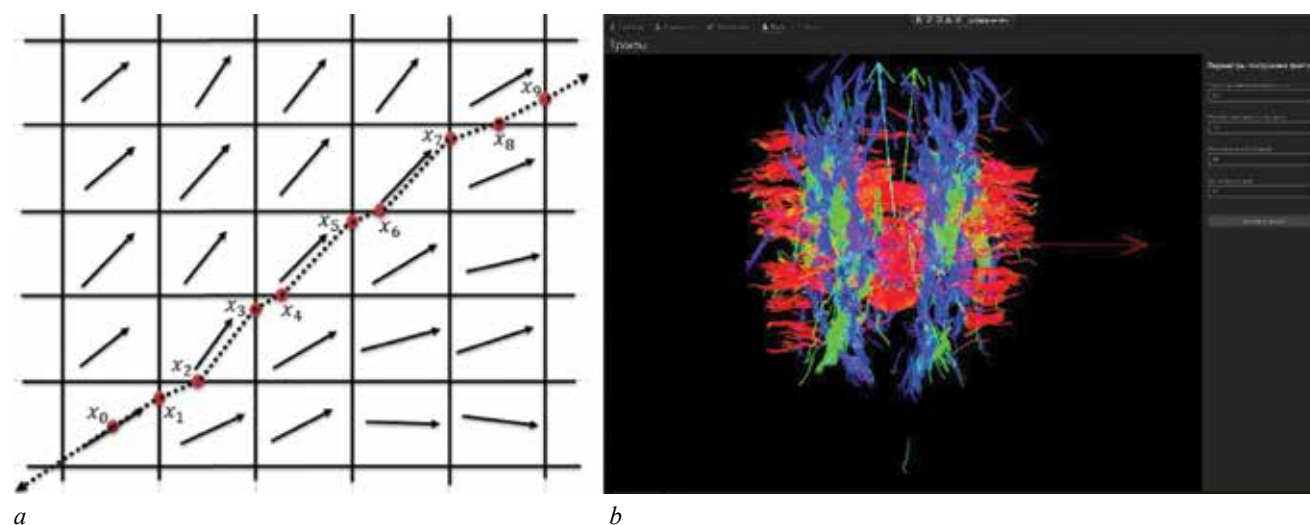


Рис. 4. Схема работы алгоритма FACT (*a*); пример трактографии на основе метода FACT (*b*)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С момента своего появления в середине 1990-х гг. диффузионно-взвешенная томография стала широко использоваться в области медицинской визуализации с точки зрения обработки и анализа данных, и особенно в исследованиях головного мозга. Это обусловлено уникальными возможностями по сравнению с другими модальностями, а именно способностью количественно и качественно исследовать структуру ткани и функцию на клеточном уровне без использования контрастных веществ или ионизирующего излучения. Наиболее перспективным направлением данной методики, помимо рутинных медицинских исследований, является использование в планировании лучевой терапии и нейрохирургических операций, изучении эпилепсии, болезней Альцгеймера и Паркинсона, рассеянного склероза и других расстройств. Применение данной технологии в других областях сильно ограничивается умением правильно интерпретировать полученные результаты.

Диффузионно-взвешенная томография головного мозга, безусловно, является многообещающей неинвазивной технологией, однако работа с ней сопряжена с рядом проблем: 1) высокая вероятность появления ложноположительных волокон; 2) невозможность нахождения различия и, как следствие, достоверного отображения пересекающихся, соприкасающихся и сливающихся волокон; 3) отсутствие воспроизводимости результата, зависимость от пользователя; 4) невозможность отображения трактов небольшой длины; 5) неустойчивость алгоритмов при работе с патологией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Einstein A. Über die von der molecularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *An-nalen der Physik*. 1905; 322 (8): 549–560.
2. Leemans A. Modeling and processing of diffusion tensor magnetic resonance images for improved analysis of brain connectivity. PhD thesis. University of Antwerp, Antwerpen, 2006.
3. Hashemi R., Bradley W., Lisanti C. MRI. The Basics. Lippincott Williams & Wilkins. Ph., 2004: 353.
4. Laun F., Fritzsche K., Kuder T., Stieltjes B. Introduction to the basic principles and techniques of diffusion-weighted imaging. *Radiology*. 2011; 51 (3): 170–179. DOI: 10.1007/s00117-010-2057-y.
5. Basser P., Mattiello J., Le Bihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical Journal*. 1994; 66 (1): 259–267. DOI: 10.1016/S0006-3495(94)80775-1.
6. Kitis O., Altay H., Calli C., Yuntun N., Akalin T., Yurtseven T. Minimum apparent diffusion coefficients in the evaluation of brain tumors. *Eur. J. Radiol*. 2005; 55 (3): 393–400. DOI: 10.1016/j.ejrad.2005.02.004.
7. Yamasaki F., Kurisu K., Satoh K., Arita K., Sugiyama K., Ohtaki M. et al. Apparent diffusion coefficient of human brain tumors at MR imaging. *Radiology*. 2005; 235 (3): 985–991. DOI: 10.1148/RADIOL.2353031338.
8. Al-Okaili R., Krejza J., Woo J.H., Wolf R., O'Rourke D., Judy K. et al. Intraaxial brain masses: MR imaging-based diagnostic strategy – initial experience. *Radiology*. 2007; 243 (2): 539–550. DOI: 10.1148/radiol.2432060493.
9. Toh C., Castillo M., Wong A., Wei K., Wong H., Ng S. et al. Primary cerebral lymphoma and glioblastoma multiforme: differences in diffusion characteristics evaluated with diffusion tensor imaging. *AJNR Am. J. Neuroradiol*. 2008; 29 (3): 471–475. DOI: 10.3174/ajnr.A0872.
10. Wilke M., Eidschink A., Muller-Wehrich S., Auer D. MR diffusion imaging and 1H spectroscopy in a child with medulloblastoma. A case report. *Acta Radiol*. 2001; 42 (1): 39–42.
11. Guzman R., Barth A., Lovblad K., El-Koussy M., Weis J., Schroth G. Use of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in Diffusion Imaging in Brain Tumors differentiating purulent brain processes from cystic brain tumors. *J. Neurosurg*. 2002; 97 (5): 1101–1107. DOI: 10.3171/jns.2002.97.5.1101.
12. Sugahara T., Korogi Y., Kochi M., Ikushima I., Shigematu Y., Hirai T., Okuda T., Liang L., Ge Y., Komohara Y. et al. Usefulness of diffusion-weighted MRI with echo-planar technique in the evaluation of cellularity in gliomas. *J. Magn. Reson. Imaging*. 1999; 9 (1): 53–60. DOI: 10.1002/(SICI)1522-2586(199901)9:1<53::AID-JMRI7>3.0.CO;2-2.
13. Schmainda K. Diffusion-weighted MRI as a biomarker for treatment response in glioma. *CNS Oncology*. 2012; 1 (2): 169–180. DOI: 10.2217/cns.12.25.
14. Ellingson B., Malkin M., Rand S. et al. Validation of functional diffusion maps (fDMs) as a biomarker for human glioma cellularity. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2010; 31 (3): 538–548. DOI: 10.1002/jmri.22068.
15. Mori S., Zijl P. Fiber tracking: Principles and strategies – A technical review. *NMR in Biomedicine*. 2002; 15 (7-8): 468–480. DOI: 10.1002/nbm.781.
16. Lazar M. Mapping brain anatomical connectivity using white matter tractography. *NMR Biomed*. 2010; 23 (7): 821–835. DOI: 10.1002/nbm.1579.
17. Wasserthal J., Neher P., Maier-Hein K. Tract orientation mapping for bundle-specific tractography. Springer, 2018. DOI: 10.1007/978-3-030-00931-1\_5.
18. Conturo T., Lori N., Cull T. et al. Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1999; 96 (18): 10422–10427. DOI: 10.1073/pnas.96.18.10422.
19. Mori S., Crain B.J., Chacko V.P., van Zijl P.C. Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging. *Ann. Neurol*. 1999; 45 (2): 265–269. DOI: 10.1002/1531-8249(199902)45:2<265::aid-ana21>3.0.co;2-3.
20. Basser P., Pajevic S., Pierpaoli C. et al. In vivo fiber tractography using DT-MRI data. *Magn. Reson. Med*. 2000; 44 (4): 625–632. DOI: 10.1002/1522-2594(200010)44:4<625::aid-mrm17>3.0.co;2-o.
21. Reisert M., Mader I., Anastasopoulos C. et al. Global fiber reconstruction becomes practical. *Neuroimage*. 2011; 54 (2): 955–962. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2010.09.016.

22. Mangin J.-F., Fillard P., Cointepas Y. et al. Toward global tractography. *Neuroimage*. 2013; 80: 290–296. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2013.04.009.
23. Christiaens D., Reisert M., Dhollander T. et al. Global tractography of multi-shell diffusion-weighted imaging data using a multi-issue model. *Neuroimage*. 2015; 123: 89–101. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2015.08.008.
24. Behrens T., Woolrich M., Jenkinson M. et al. Characterization and propagation of uncertainty in diffusion-weighted MR imaging. *Magn. Reson. Med*. 2003; 50 (5): 1077–1088. DOI: 10.1002/MRM.10609.
25. Behrens T., Berg H., Jbabdi S., Rushworth M., Woolrich M. Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: what can we gain? *Neuroimage*. 2007; 34 (1): 144–155. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.09.018.
26. Parker G., Alexander D. Probabilistic anatomical connectivity derived from the microscopic persistent angular structure of cerebral tissue. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2005; 360 (1457): 893–902. DOI: 10.1098/rstb.2005.1639.
27. Parker G., Haroon H., Wheeler-Kingshott C. A Framework for a streamline-based probabilistic index of connectivity (PICO) using a structural interpretation of MRI diffusion measurements. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2003; 18 (2): 242–254. DOI: 10.1002/jmri.10350.
28. Polman C., Reingold S., Banwell B. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology*. 2011; 69 (2): 292–302. DOI: 10.1002/ana.22366.
29. Poonawalla A., Hasan K., Gupta R., Ahn C., Nelson F., Wolinsky J., Narayana P. Diffusion-tensor MR imaging of cortical lesions in multiple sclerosis: initial findings. *Radiology*. 2008; 246 (3): 880–886. DOI: 10.1148/radiol.2463070486.
30. Kolind S., Laule C., Vavasour I., Li D.K., Traboulsee A., Mädler B., Moore G., Mackay A. Complementary information from multi-exponential T2 relaxation and diffusion tensor imaging reveals differences between multiple sclerosis lesions. *Neuroimage*. 2008; 40 (1): 77–85. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2007.11.033.
31. Hugg J., Butterworth E., Kuzniecky R. Diffusion mapping applied to mesial temporal lobe epilepsy: preliminary observations. *Neurology*. 1999; 53 (1): 173–176. DOI: 10.1212/wnl.53.1.173.
32. Cannistraro P., Makris N., Howard J., Wedig M., Hodge S., Wilhelm S., Kennedy D., Rauch S. A diffusion tensor imaging study of white matter in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety*. 2007; 24 (6): 440–446. DOI: 10.1002/da.20246.
33. Szeszko P., Ardekani B., Ashtari M., Malhotra A., Robinson D., Bilder R., Lim K. White matter abnormalities in obsessive-compulsive disorder: a diffusion tensor imaging study. *Arch. Gen Psychiatry*. 2005; 62 (7): 782–790. DOI: 10.1001/archpsyc.62.7.782.
34. Cannistraro P., Makris N., Howard J., Wedig M., Hodge S., Wilhelm S. et al. A diffusion tensor imaging study of white matter in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety*. 2006; 24: 440–446. DOI: 10.1007/978-1-59745-495-7\_3.
35. Yoo S., Jang J., Shin Y., Kim D., Park H., Moon W., Chung E., Lee J., Kim I., Kim S., Kwon J. White matter abnormalities in drug-naïve patients with obsessive-compulsive disorder: a diffusion tensor study before and after citalopram treatment. *Acta Psychiatr. Scand*. 2007; 116 (3): 211–219. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2007.01046.x.
36. Nakamae T., Narumoto J., Shibata K., Matsumoto R., Kitabayashi Y., Yoshida T., Yamada K., Nishimura T., Fukui K. Alteration of fractional anisotropy and apparent diffusion coefficient in obsessive-compulsive disorder: a diffusion tensor imaging study. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2008; 32 (5): 1221–1226. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2008.03.010.
37. Gavin C., Ian Sabin H. Stereotactic diffusion tensor imaging tractography for Gamma Knife radiosurgery. *J. Neurosurgery*. 2016; 125 (1): 139–146. DOI: 10.3171/2016.8.GKS161032.
38. Connor M., Karunamuni R., McDonald C., White N., Pettersson N., Moiseenko V., Seibert T., Marshall D., Cervino L., Bartsch H., Kuperman J., Murzin V., Krishnan A. et al. Dose-dependent white matter damage after brain radiotherapy. *Radiation Oncol*. 2016; 121 (2): 209–216. DOI: 10.1016/j.radonc.2016.10.003.
39. Tournier J.-D., Calamante F., Connelly A. MRtrix: diffusion tractography in crossing fiber regions. *Int. J. Imaging Syst. Technol*. 2012; 22: 53–66. DOI: 10.1002/IMA.22005.
40. Wedeen V., Hagmann P., Tseng W. Mapping Complex Tissue Architecture with Diffusion Spectrum Magnetic Resonance Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2005; 54 (6): 1377–1386. DOI: 10.1002/MRM.20642.
41. Campbell J., Siddiqi K., Rymar V. Flow-Based Fiber Tracking with diffusion tensor and q-ball data: validation and comparison to principal diffusion direction techniques. *Neuroimage*. 2005; 27 (4): 725–736. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.05.014.
42. Tuch, D. Q-ball imaging. *Magn. Reson. Med*. 2004; 52 (6): 1358–1372. DOI: 10.1002/mrm.20279.
43. Assaf Y., Basser P. Composite hindered and restricted model of diffusion (CHARMED) MR imaging of the human brain. *Neuroimage*. 2005; 27 (1): 48–58. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.03.042.
44. Özarslan E., Shepherd T., Vemuri B. et al. Resolution of complex tissue microarchitecture using the diffusion orientation transform (DOT). *Neuroimage*. 2006; 31 (3): 1086–1103. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.01.024.
45. Liu C., Bammer R., Acar B. et al. Characterizing non-Gaussian diffusion by using generalized diffusion tensors. *Magn. Reson. Med*. 2004; 51 (5): 924–937. DOI: 10.1002/mrm.20071.
46. Tournier J.-D., Calamante F., Gadian D. et al. Direct estimation of the fiber orientation density function from diffusion-weighted MRI data using spherical deconvolution. *Neuroimage*. 2004; 23 (3): 1176–1185. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2004.07.037.
47. Tournier J.-D., Calamante F., Connelly A. Robust determination of the fibre orientation distribution in diffusion MRI: non-negativity constrained super resolved spherical deconvolution. *Neuroimage*. 2007; 35 (4): 1459–1472. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2007.02.016.
48. Jbabdi S., Johansen-Berg H. Tractography: where do we go from here? *Brain Connect*. 2011; 1 (3): 169–183. DOI: 10.1089/brain.2011.0033.
49. Thomas C., Ye F., Irfanoglu M. et al. Anatomical accuracy of brain connections derived from diffusion MRI tractography is

- inherently limited. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014; 111 (46): 16574–16579. DOI: 10.1073/pnas.1405672111.
50. Maier-Hein K., Neher P., Houde J.-C. et al. Tractography-based connectomes are dominated by false-positive connections. *BioRxiv*. 2016; 1: 84137. DOI: 10.1101/084137.
51. Fillard P., Descoteaux M., Goh A., Gouttard S., Jeurissen B., Malcolm J., Ramirez-Manzanares A., Reisert M., Sakaie K., Tensaouti F. et al. Quantitative evaluation of 10 tractography algorithms on a realistic diffusion MR phantom. *Neuroimage*. 2011; 56 (1): 220–234. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.01.032.
52. Maier-Hein K., Neher P., Houde J., Côté M., Garyfallidis E., Zhong J., Chamberland M., Yeh F., Lin Y., Descoteaux M. et al. The challenge of mapping the human connectome based on diffusion tractography. *Nature Communications*. 2017; 8 (1): 1349. DOI: 10.1038/s41467-017-01285-x.

## Сведения об авторах

**Уразова Ксения Александровна**, инженер-физик, отделение радиохирургии и радиотерапии, НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко; аспирант, кафедра физики ускорителей и радиационной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва. ORCID 0000-0002-7725-5090.

**Горлачёв Геннадий Ефимович**, канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник, группа клинической дозиметрии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва. ORCID 0000-0003-4386-4223.

**Черняев Александр Петрович**, д-р физ.-мат. наук, профессор, зав. кафедрой физики ускорителей и радиационной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва. ORCID 0000-0001-5250-046X.

**Голанов Андрей Владимирович**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. отделением радиохирургии и радиотерапии, НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, г. Москва. ORCID 0000-0002-0976-4547.

(✉) **Уразова Ксения Александровна**, e-mail: kurazova@nsi.ru

Поступила в редакцию 25.08.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Методы диагностики эндотелиальной дисфункции

Шабров А.В.<sup>1</sup>, Галенко А.С.<sup>2</sup>, Успенский Ю.П.<sup>2</sup>, Лосева К.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины (ИЭМ)  
Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ)  
Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

### РЕЗЮМЕ

Проблема эндотелиальной дисфункции как важного звена в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы предполагает внедрение эффективных и точных диагностических методов. В обзоре освещаются наиболее актуальные из применяемых в научной и клинической практике методов, которые условно подразделены на морфологические, инструментальные и лабораторные. Отдельно упомянута предложенная еще в 1936 г. профессором В.А. Вальдманом эндотелиальная баночная проба, которая может служить прообразом современных методов исследования эндотелия.

Данные диагностические методики могут способствовать выявлению функциональных нарушений эндотелия на самом раннем донозологическом уровне, что позволит существенно расширить возможности первичной профилактики сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний путем немедикаментозной и фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

**Ключевые слова:** эндотелий, эндотелиальная дисфункция, методы оценки эндотелиальной функции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Шабров А.В., Галенко А.С., Успенский Ю.П., Лосева К.А. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 202–209. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-202-209>.

## Methods for diagnosing endothelial dysfunction

Shabrov A.V.<sup>1</sup>, Galenko A.S.<sup>2</sup>, Uspensky Yu.P.<sup>2</sup>, Loseva K.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine (IEM)  
12, Akademika Pavlova Str., Saint Petersburg, 197376, Russian Federation

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University (SPSPMU)  
2, Litovskaya Str., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation

### ABSTRACT

Endothelial dysfunction as a crucial factor in the pathogenesis of cardiovascular diseases requires precise and effective diagnostic methods. The review highlights the currently used methods which can be divided into morphological, instrumental, and laboratory ones. Special attention is paid to the so called jar test, which was

introduced by Professor V.A. Valdman in 1936. The jar test may serve as a prototype of modern methods for endothelial function assessment.

These diagnostic methods can help to identify functional endothelial disorders at the earliest stage. It will significantly expand the possibilities of primary prevention of cardiovascular and a number of other diseases through non-pharmacological and pharmacological correction of endothelial dysfunction.

**Key words:** endothelium, endothelial dysfunction, methods of endothelial function assessment.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Shabrov A.V., Galenko A.S., Uspensky Yu.P., Loseva K.A. Methods for diagnosing endothelial dysfunction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 202–209. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-202-209>.

## ВВЕДЕНИЕ

Эндотелий – клеточная выстилка поверхности кровеносных, лимфатических сосудов и эндокарда, осуществляющая координацию и оптимальное протекание различных метаболических и физиологических процессов [1]. Являясь важнейшим регуляторным и эндокринным органом, эндотелий выполняет такие ключевые функции, как контроль адгезии лейкоцитов, сосудистого тонуса, ангиогенеза, регуляция адгезии и агрегации тромбоцитов, участие в фибринолизе и воспалительных процессах [2].

Нарушения функций эндотелия являются одним из основных звеньев в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы. Важность данной проблемы предполагает внедрение эффективных и точных методов диагностики, которые могут способствовать выявлению функциональных нарушений эндотелия на самом раннем донозологическом уровне, что позволит существенно расширить возможности первичной профилактики сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний путем немедикаментозной и фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

Применяемые в настоящее время методы оценки функционального состояния эндотелия условно можно разделить на морфологические, инструментальные и лабораторные.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Прообразом морфологического исследования состояния эндотелия может служить предложенная еще в 1930-х гг. эндотелиальная баночная проба. Виктор Александрович Вальдман, основатель и первый заведующий кафедрой факультетской терапии Ленинградского педиатрического медицинского института, одним из первых назвал эндотелий сосудов «ареной, где происходит первое столкновение макроорганизма с микробами». Изучая патологию

сосудов, в 1936 г. он предложил данную пробу как метод выявления гиперэргического набухания эндотелия сосудов (эндотелиоза) [3]. Фактически эндотелиальная баночная проба по праву может считаться одной из первых попыток оценить функциональное состояние сосудистого эндотелия.

В 1978 г. J. Hladovec внедрил способ оценки эндотелиальной дисфункции путем исследования уровня циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов (ДЭ), представляющих собой клетки, отделяющиеся от стенки сосуда в процессе его повреждения [4]. В настоящее время проводится компьютерный анализ изображения ДЭ (метод компьютерной цитометрии). В среднем количество ДЭ у взрослого человека в норме варьирует от 2 до 4 кл/100 мкл плазмы [5]. У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями предложено выделять степени эндотелиальной дисфункции по концентрации ДЭ. Умеренная степень нарушения функции эндотелия расценивается при количестве ДЭ 6–10 клеток, средняя степень 11–25, выраженная степень – 26 и выше [6].

В последнее время повышенное внимание уделяется эндотелиальным апоптотическим микрочастицам (ЭАМ, endothelial microparticles – EMPs) как новым маркерам эндотелиальной дисфункции. ЭАМ представляют собой мембранные везикулы, высвобождающиеся во внеклеточное пространство при активации или апоптозе эндотелиальных клеток [7]. Известно, что эндотелиальные микрочастицы экспрессируют маркеры клеточного повреждения: межклеточной молекулы адгезии-1 (ICAM-1), сосудистой клеточной молекулы адгезии (VCAM-1), Е-селектина, фактора фон Виллебранда (vWF) [8]. Концентрацию EMPs определяют с помощью проточной цитофлуориметрии, а морфологию и размер – путем криотрансмиссионной электронной микроскопии с использованием рецептор-специфической метки [9].

## ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ

В качестве одной из первых инструментальных методик для оценки вазорегулирующей функции эндотелия было предложено проведение коронарографии с введением ацетилхолина для оценки эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) и нитропруссид натрия для оценки эндотелий-независимой вазодилатации (ЭНВД) (S.W. Werns и соавт., 1989) [10]. Как правило в качестве фармпрепарата для интракоронарного введения во время коронарографии используют ацетилхолин, который, взаимодействуя с неповрежденным эндотелием, оказывает стимулирующее действие на выработку оксида азота (NO) и других релаксирующих факторов.

В дисфункциональном или поврежденном эндотелии ацетилхолин вызывает либо слабую вазодилатацию, либо даже вазоконстрикцию [11]. Для оценки эндотелий-независимой вазодилатации интракоронарно вводят экзогенные источники NO (нитроглицерин, нитропруссид натрия), которые непосредственно действуют на гладкие мышцы сосудов. Изменение диаметра артерий регистрируется с помощью систем цифровой количественной обработки изображений, а также с помощью внутрисосудистых ультразвуковых катетеров [12]. Данная методика, несмотря на непосредственную оценку сосудистой реактивности коронарных артерий, имеет ограничения в силу инвазивности процедуры и высокой стоимости, хотя и является наиболее точным методом оценки вазорегуляторной функции эндотелия.

D.S. Celermajer и соавт. (1992) разработали неинвазивный метод диагностики функционального состояния эндотелия путем оценки постокклюзионного изменения диаметра плечевых артерий с помощью ультразвука высокого разрешения [13]. Данный способ оценки функции эндотелия носит название «кровоток – опосредованное расширение» (Flow Mediated Dilatation – FMD). Во время проведения пробы происходит эндотелий-опосредованное выделение NO, что вызывает расширение сосудов, которое можно количественно определить как показатель вазомоторной функции [14]. Суть метода заключается в возрастании напряжения сдвига в результате увеличения кровотока по периферической артерии. Это достигается путем создания реактивной гиперемии, подразумевающей 5-минутную окклюзию плечевой артерии с помощью раздувания манжеты до давления, на 50 мм рт. ст. превышающего систолическое. Затем через 5 мин производят декомпрессию манжеты, что вызывает усиление кровотока и увеличение напряжения сдвига. С помощью ультразвукового датчика с высоким разрешением

измеряют скоростные показатели кровотока в течение 15–20 с, а диаметр артерии оценивают через 45–60 с после декомпрессии, когда отмечается его максимальный прирост [13]. Показатель ЭЗВД плечевой артерии рассчитывается по формуле

$$\text{ЭЗВД} = (D_2 - D_1) / D_1 \times 100\%,$$

где  $D_1$  – исходный диаметр плечевой артерии,  $D_2$  – диаметр плечевой артерии, измеренный после пробы с реактивной гиперемией [15]. Преимуществом данного метода является его неинвазивный характер, что позволяет проводить повторные измерения для оценки эффективности различных вмешательств, которые могут оказывать влияние на состояние сосудистого эндотелия [16].

T. Anderson и соавт. (1995) в своей работе продемонстрировали тесную связь показателей между ЭЗВД, полученной при коронарографическом исследовании с ацетилхолином и при ультразвуковом исследовании плечевой артерии, что позволило использовать плечевую артерию как универсальную модель для дальнейших оценок влияния различных факторов на функциональное состояние эндотелия [17].

T. Gori и соавт. (2008) описали новый неинвазивный метод – вазоконстрикция, вызываемая низкоскоростным потоком (low-flow-mediated constriction – L-FMC), позволяющий оценивать артериальный тонус в состоянии покоя. L-FMC заключается в сужении плечевой артерии, обусловленным снижением кровотока после окклюзии артерии с помощью дистально расположенной манжеты. L-FMC является простым и быстрым методом, дополняющим FMD и расширяющим диагностические возможности [18].

Наиболее простым и быстрым способом инструментальной диагностики эндотелиальной дисфункции является анализ формы объемной пульсовой волны, которую регистрируют с помощью фотоплетизмографического датчика, расположенного на ногтевой фаланге пальца руки обследуемого, с последующей обработкой полученного сигнала на компьютере. В процессе исследования регистрируется контур объемной пульсовой волны путем слияния двух волн: систолической (прямой) и отраженной. Рассчитывают индекс отражения как соотношение амплитуд прямой и отраженной волны, времени отражения (T), на которое отраженная волна отстает от систолической, и индекс жесткости (ИЖ) как соотношение роста пациента L (в метрах) на время отражения (в секундах). При различных патологиях сердечно-сосудистой системы наблюдается снижение эластичности сосудов, на что указывает повышение индекса отражения и индекса жесткости [19].

## ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ

Лабораторные методы оценки эндотелиальной функции заключаются в определении концентрации определенных факторов, синтезируемых эндотелием и выполняющих различные функции.

Для оценки вазомоторной функции в первую очередь используют определение уровня NO и его метаболитов [20]. Известно, что NO синтезируется в результате окисления атомом кислорода L-аргинина при участии фермента NO-синтазы:

$2\text{L-аргинин} + 3\text{НАДФН} + 4\text{O}_2 + 3\text{H}^+ \rightarrow 2\text{L-цитруллин} + 2\text{NO} + 3\text{НАДФ} + 4\text{H}_2\text{O}$ .

По структуре изоформы NO-синтаз (NOS) разделяются на эндотелиальные (eNOS), нейрональные (nNOS) и индуцибельные (iNOS), по механизму действия – на конституциональные (cNOS) и индуцибельные (iNOS) [21, 22]. cNOS участвуют в синтезе NO при гипоксических состояниях с вазоконстрикцией сосудов, iNOS – после индукции их бактериальными эндотоксинами, некоторыми медиаторами воспаления, активными формами кислорода [21]. Свое действие NO-синтазы могут оказывать только при наличии кофакторов: флавинов, НАДФН-оксидазы (NADPH-оксидаза, NOX), тетрагидробиоптерина [23].

Поскольку NO имеет период полураспада всего 0,1 с [24], обычно определяют уровень конечных продуктов окисления NO – нитритов и нитратов ( $\text{NO}_x$ ). Материалом для исследования может служить плазма, сыворотка крови, культуральные жидкости [25]. Наиболее распространенным способом определения уровня  $\text{NO}_x$  является спектрофотометрический метод с применением реактива Грисса.

На первом этапе данного исследования определяют нитрит-ион с помощью реакции нитритов с реактивом Грисса, который содержит водный раствор 0,05%-го N-нафтилэтилендиамина и 1%-й раствор сульфаниламида в уксусной кислоте [26]. В ходе реакции образуется окрашенный диазопроduct с максимумом поглощения при длине волны 548 нм. Так как реактив Грисса выявляет только нитриты, проводят реакции восстановления нитратов в нитриты с помощью либо нитратредуктазы, либо металла ванадия (III) [27, 28].

При различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы наблюдается снижение концентрации  $\text{NO}_x$ , что может быть следствием снижения экспрессии и активности eNOS, уменьшением уровня L-аргинина, кофакторов NO-синтазы, повышением эндогенных ингибиторов NO. У некоторых пациентов наблюдается повышение уровня  $\text{NO}_x$  при функциональных признаках снижения эндотелий-зависимой

вазодилатации, что свидетельствует о тяжелой дисфункции эндотелия. При этом увеличение концентрации конечных продуктов окисления NO может быть связано с активацией iNOS медиаторами воспаления (фактором некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкином (ИЛ) 6, ИЛ-1 $\beta$ ), липополисахаридами, активными формами кислорода. При избытке NO образуется токсический пероксинитрит, оказывающий цитостатическое и цитотоксическое действие [25].

Для оценки эндотелиальной дисфункции также определяют концентрацию асимметричного диметиларгинина (ADMA) – эндогенного ингибитора синтазы NO. ADMA представляет собой аминокислоту, синтезирующуюся из аргинина под действием белка аргинин-метилтрансферазы (PRMT). Существует две изоформы PRMT, одна из которых, PRMT-1, активирует образование ADMA, а вторая, PRMT-2, – образование симметричного диметиларгинина (SDMA). Именно ADMA оказывает ингибирующее воздействие на три изоформы NO-синтаз [29]. Концентрацию ADMA определяют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с высокочувствительным лазерным флуоресцентным детектированием [30].

Для оценки вазоконстрикторной функции определяют уровень эндотелина-1 (ЕТ-1), который в высоких концентрациях способствует развитию эндотелиальной дисфункции. ЕТ-1 увеличивает выработку эндотелиального супероксида, что приводит к нарушению эндотелий-зависимой вазодилатации и запуску провоспалительных процессов [31]. Высокие концентрации ЕТ-1 в сыворотке крови обнаруживают у больных ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией, поражениями почек, акушерско-гинекологической патологией [32].

Оценка функции эндотелия также подразумевает определение концентрации и функциональной активности vWF, который опосредует агрегацию тромбоцитов и их адгезию к эндотелию сосудов. vWF – это мультимерный гликопротеин плазмы крови, который синтезируется в избыточном количестве эндотелиоцитами и мегакариоцитами в форме предшественника-пропептида vWFpp, подвергающегося затем посттрансляционным модификациям. Пропептид vWF (vWFpp) вместе с vWF хранится внутри эндотелиальных клеток в тельцах Вейбла – Палада и в  $\alpha$ -гранулах мегакариоцитов [33–35]. Воспалительные цитокины способны стимулировать выработку из телец Вейбла – Палада и  $\alpha$ -гранул vWF и vWFpp в высоких концентрациях (ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ ) и ингибировать расщепление vWF (ИЛ-6), вследствие чего в крови и на поверхности эндотелиоцитов накапливается гиперреактивный фактор, что приводит

к усиленной активации агрегации и адгезии тромбоцитов к эндотелию сосудов [36]. Проведенные исследования указывают на значимость повышения концентрации vWF в качестве предиктора риска развития повторного инфаркта миокарда [37].

Существует несколько лабораторных тестов, оценивающих уровень и активность vWF. Количественное определение антигена vWF осуществляют методом иммуноферментного анализа (vWF:Ag) [34]. Также предложено оценивать уровень vWFpp в плазме крови как маркера эндотелиальной дисфункции, поскольку vWFpp не используется в процессе агрегации тромбоцитов в отличие от антигена vWF (vWF:Ag) [38]. Анализ соотношения vWFpp/vWF:Ag используют для оценки степени клиренса vWF. В нормальной плазме человека соотношение vWFpp/vWF:Ag составляет 1,0. У пациентов с болезнью Виллебранда типа 1С наблюдают снижение концентрации vWF из-за его быстрого выведения, что вызывает увеличение данного соотношения [33, 39].

Оценка активности (ристоцетин-кофакторная активность – RCoF) основывается на способности vWF активировать агрегацию и адгезию тромбоцитов путем взаимодействия домена A1 фактора с рецептором мембраны тромбоцитов – гликопротеином Ib (GPIb). Этот процесс имитируют путем добавления к суспензии отмытых эритроцитов в присутствии плазмы пациента ристоцетина, который способствует связыванию vWF с GPIb [40]. Скорость агрегации измеряют с помощью устройства – агрегатора. Нормальные значения метода варьируют от 50 до 200 МЕ/дл [41]. Проведение данного теста не исключает получения ложных результатов из-за возможного наличия дефектов в способности vWF связывать ристоцетин [42]. Разработан новый анализ, не подразумевающий использование ристоцетина. Он основан на применении рекомбинантного GPIb с усиленной функцией, который спонтанно связывает vWF *in vitro* [43].

vWF способен образовывать связи с коллагеном через домен A3 при повреждении эндотелиальной выстилки. Этот факт лежит в основе еще одного диагностического теста – количественного определения коллаген-связывающей активности vWF методом иммуноферментного анализа (vWF:CB) [44].

Через домены D и D3 vWF связывается с коагуляционным фактором VIII (FVIII) и переносит его по кровотоку в неактивном состоянии. В случае нарушения эндотелиальной выстилки, vWF доставляет FVIII к месту повреждения, где последний образует комплекс с коагуляционным фактором IX [34, 40, 41]. Оценивать сродство vWF к FVIII позволяет vWF/фактор VIII-связывающий тест (vWF:FVIIIb),

использующийся в основном для диагностики болезни Виллебранда типа 2N [45].

Для анализа антикоагулянтной функции эндотелия исследуют уровень тромбомодулина (TM), который представляет собой трансмембранный гликопротеин, экспрессируемый на поверхности эндотелиальных клеток кровеносных сосудов. В месте повреждения эндотелия тромбин связывается с TM, образуя комплекс тромбин-TM, способствующий активации протеина C, который осуществляет расщепление факторов Va и VIIIa, тем самым предотвращает чрезмерное образование фибринового сгустка. Концентрация TM в плазме здоровых людей относительно низкая. При повреждении эндотелия, сопровождающимся протеолизом, концентрация TM в плазме крови увеличивается в 1,5–2 раза. Уровень тромбомодулина в крови определяют методом иммуноферментного анализа [46].

Для оценки фибринолитической функции исследуют уровень тканевого активатора плазминогена (tPA), образующегося в эндотелиальных клетках. tPA обеспечивает внешний путь активации плазминогена путем образования тройного комплекса (фибрин + плазминоген + tPA), за счет чего образующийся плазмин обеспечивает протеолитическую деградацию фибрина [47]. Концентрация tPA также определяют с помощью иммуноферментного анализа [32].

Известно, что эндотелий играет важную роль в адгезии и миграции лейкоцитов посредством секреции адгезивных молекул: ICAM-1, VCAM-1, P-селектина, E-селектина и ve-кадгерина. Изменение концентрации данных веществ свидетельствует о повреждении эндотелия, указывает на тяжесть воспаления и может использоваться для определения прогноза течения заболевания [48].

Эндотелий принимает непосредственное участие в активации роста сосудов в условиях гипоксии и при повреждении тканей. Одним из важнейших регуляторов ангиогенеза является сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), который используют в качестве маркера эндотелиальной дисфункции. Наиболее значимо определение концентрации VEGF для диагностики онкологических процессов, поскольку рост кровеносных сосудов в опухоли способствует ее активизации, быстрому росту и метастазированию. VEGF, который взаимодействует с рецепторами эндотелия сосудов, является самым мощным медиатором этого процесса [49].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня в распоряжении врача-исследователя имеется широкий спектр методов оценки функционального состояния эндотелия – лабораторных,

инструментальных и морфологических. Дальнейшее изучение функций эндотелия в норме и при патологии сможет прояснить остающиеся до сих пор непонятными элементы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, предложить меры первичной и вторичной профилактики. Показатели, характеризующие функции эндотелия, безусловно, являются лишь суррогатными промежуточными точками оценки эффективности тех или иных воздействий. Но оценка функций эндотелия может иметь огромное прогностическое значение, так как эндотелиальная дисфункция является одним из самых ранних доклинических маркеров повреждения сосудов. И, наоборот, – восстановление нарушенных показателей, вероятно, является одним из первых свидетельств эффективности проводимого профилактического или терапевтического вмешательства. Поэтому представляется необходимым и целесообразным продолжение изучения свойств и функций эндотелия, а также разработки и оптимизации диагностических методов оценки его состояния.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Куприянов В.В. Эндотелий. Большая мед. энциклопедия. 3-е изд. М.: Сов. энцикл., 1986. Т. 28: 192–193.
2. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Физиология и патофизиология эндотелия. В кн.: Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2003: 4–38.
3. Вальдман В.А. Эндотелиит и «баночная проба». *Клиническая медицина*. 1938; 16 (3): 313–318.
4. Hladovec J., Prerovský I., Staněk V., Fabián J. Circulating endothelial cells in acute myocardial infarction and angina pectoris. *Klin. Wochenschr.* 1978; 56 (20): 1033–1036. DOI: 10.1007/bf01476669.
5. Миронов А.В., Торчинов А.М., Умаханова М.М., Галачев О.В., Османова С.Р., Филиппов А.В., Лебедев В.А. Оценка степени тяжести эндотелиальной дисфункции при осложнениях беременности. *Трудный пациент*. 2018; 16 (8–9): 30–36. DOI: 10.24411/2074-1995-2018-10006.
6. Асташев П.Е., Гудымович В.Г. Маркеры эндотелиальной дисфункции как прогностический признак течения внутрисердечного инфекционного процесса. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2011; 6 (3): 3–8.
7. Chironi G.N., Boulanger C.M., Simon A., Dignat-George F., Freyssinet J.M., Tedgui A. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res.* 2009; 335 (1): 143–151. DOI: 10.1007/s00441-008-0710-9.
8. Leroyer A.S., Tedgui A., Boulanger C.M. Role of microparticles in atherothrombosis. *J. Intern. Med.* 2008; 263 (5): 528–537. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2008.01957.x.
9. Lacroix R., Judicone C., Mooberry M., Boucekine M., Key N.S., Dignat-George F. Standardization of pre-analytical variables in plasma microparticle determination: results of the International Society on Thrombosis and Haemostasis SSC Collaborative workshop. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 10:12207. DOI: 10.1111/jth.12207.
10. Werns S.W., Walton J.A., Hsia H.H., Nabel E.G., Sanz M.L., Pitt B. Evidence of endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries of patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1989; 79 (2): 287–291. DOI: 10.1161/01.cir.79.2.287.
11. Ludmer P.L., Selwyn A.P., Shook T.L., Wayne R.R., Mudge G.H., Alexander R.W., Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315 (17): 1046–1051. DOI: 10.1056/NEJM198610233151702.
12. Полонецкий О.Л., Полонецкий Л.З. Дисфункция эндотелия и атеросклероз. *Медицинские новости*. 2012; (6): 6–11.
13. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992; 340 (8828): 1111–1115. DOI: 10.1016/0140-6736(92)93147-f.
14. Joannides R., Haefeli W.E., Linder L., Richard V., Thuillez C., Lüscher T.F. Role of nitric oxide in flow-dependent vasodilation of human peripheral arteries in vivo. *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* 1994; 87 (8): 983–985.
15. Ковалева И.Б., Мясоедова С.Е., Богатова И.К., Букина Е.А. Функция эндотелия у женщин с артериальной гипертензией в постменопаузе. *Кардиоваскуляр. терапия и профилактика*. 2004; 3 (6): 4–8.
16. Corretti M.C., Anderson T.J., Benjamin E.J., Celermajer D., Charbonneau F., Creager M.A., Deanfield J., Drexler H., Gerhard-Herman M., Herrington D., Vallance P., Vita J., Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 39 (2): 257–265. DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01746-6.
17. Anderson T.J., Uehata A., Gerhard M.D., Meredith I.T., Knab S., Delagrang D., Lieberman E.H., Ganz P., Creager M.A., Yeung A.C. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995; 26 (5): 1235–1241. DOI: 10.1016/0735-1097(95)00327-4.
18. Gori T., Dragoni S., Lisi M., Di Stolfo G., Sonnat S., Fineschi M., Parker J.D. Conduit artery constriction mediated by low flow a novel noninvasive method for the assessment of vascular function. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51 (20): 1953–1958. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.01.049.
19. Калакутский Л.И., Лебедев П.А., Комарова М.В. Методика анализа контура пульсовой волны в диагностике функции сосудистого эндотелия. *Известия ЮФУ. Технические науки*. 2008; 82 (5): 43–47.
20. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free Radic. Res.* 2005; 39 (8): 797–815. DOI: 10.1080/10715760500053651.
21. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; (4): 462.
22. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических

- болезней. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96 (4): 659–665.
23. Аверкин Н.С., Латынова И.В., Федорова М.Г., Чудаева Д.Г., Вишнякова Ж.С., Пивоваров Е.В., Самарцев А.Д. Значение окислительного стресса в механизмах старения артериальной стенки. *Современные проблемы науки и образования*. 2018; 6: 42.
24. Kelm M., Schrader J. Control of coronary vascular tone by nitric oxide. *Circ. Res.* 1990; 66 (6): 1561–1575. DOI: 10.1161/01.res.66.6.1561.
25. Лапшина Л.А., Кравчун П.Г., Титова А.Ю., Глебова О.В. Значение определения нитритов-нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии. *Украинский медицинский журнал*. 2009; (6): 49–53.
26. Мажитова М.В. Спектрофотометрическое определение уровня метаболитов монооксида азота в плазме крови и ткани мозга белых крыс. *Современные проблемы науки и образования*. 2011; 3. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=4655>
27. Ramesh S.S., Prasanthi A., Bhat D.I., Devi B.I., Cristopher R., Philip M. Correlation between plasma total nitric oxide levels and cerebral vasospasm and clinical outcome in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage in Indian population. *J. Neurosci. Rural. Pract.* 2014; 5 (1): 22–27. DOI: 10.4103/0976-3147.145196.
28. Miranda K.M., Espey M.G., Wink D.A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric. Oxide*. 2001; 5 (1): 62–71. DOI: 10.1006/niox.2000.0319.
29. Landim M.B., Casella Filho A., Chagas A.C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009; 64 (5): 471–478. DOI: 10.1590/s1807-59322009000500015.
30. Bassareo P.P., Puddu M., Flore G., Deidda M., Manconi E., Melis A., Fanos V., Mercurio G. Could ADMA levels in young adults born preterm predict an early endothelial dysfunction? *Int. J. Cardiol.* 2012; 159 (3): 217–219. DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.02.069.
31. Cerrato R., Cunningham C., Crabtree M.J., Antoniadis C., Pernow J., Channon K.M., Böhm F. Endothelin-1 increases superoxide production in human coronary artery bypass grafts. *Life Sci.* 2012; 91 (13-14): 723–728. DOI: 10.1016/j.lfs.2012.03.024.
32. Иванов А.Н., Гречихин А.А., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции. *Региональное кровообращение и микроциркуляция*. 2014; 13 (4): 4–11.
33. Stufano F., Boscarino M., Bucciarelli P., Baronciani L., Maino A., Cozzi G., Peyvandi F. Evaluation of the utility of von Willebrand factor propeptide in the differential diagnosis of von Willebrand disease and acquired von Willebrand Syndrome. *Semin. Thromb. Hemost.* 2019; 45 (1): 36–42. DOI: 10.1055/s-0038-1660481.
34. Лихачева Е.А., Полянская Т.Ю., Зоренко В.Ю. Международный опыт диагностики и лечения болезни Виллебранда. *Гематология и трансфузиология*. 2013; 58 (4): 45–49.
35. Исаев Д.П., Касумова Р.Д. Определение концентрации фактора Виллебранда в сыворотке крови больных острым гепатитом В, осложненным узелковым полиартериитом. *Биомедицина*. 2019; 17 (2): 18–21. DOI: 10.24411/1815-3917-2019-10012.
36. Bernardo A., Ball C., Nolasco L., Moake J.F., Dong J.F. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood*. 2004; 104 (1): 100–106. DOI: 10.1182/blood-2004-01-0107.
37. Springer T.A. Von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream. *Blood*. 2014; 124 (9): 1412–1425. DOI: 10.1182/blood-2014-05-378638.
38. Marianor M., Zaidah A.W., Maraina Ch.C. von Willebrand Factor Propeptide: A potential disease biomarker not affected by ABO blood groups. *Biomark. Insights*. 2015; 10: 75–79. DOI: 10.4137/BMI.S24353.
39. Jacobi P.M., Kanaji S., Jakab D., Gehrand A.L., Johnsen J.M., Habichter S.L. Von Willebrand factor propeptide to antigen ratio identifies platelet activation and reduced von Willebrand factor survival phenotype in mice. *J. Thromb. Haemost.* 2018; 16 (3): 546–554. DOI: 10.1111/jth.13934.
40. Чернова Е.В. Фактор Виллебранда. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2018; 10 (4): 73–80. DOI: 10.17816/mechnikov201810473-80.
41. Костерина А.В. Вопросы диагностики и лечения болезни Виллебранда. *Практическая медицина*. 2018; 16 (7-2): 51–54.
42. Sharma R., Flood V.H. Advances in the diagnosis and treatment of Von Willebrand disease. *Blood*. 2017; 130 (22): 2386–2391. DOI: 10.1182/blood-2017-05-782029.
43. Patzke J., Budde U., Huber A., Méndez A., Muth H., Obser T., Peerschke E., Wilkens M., Schneppenheim R. Performance evaluation and multicentre study of a von Willebrand factor activity assay based on GPIb binding in the absence of ristocetin. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2014; 25 (8): 860–870. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000169.
44. Ni Y., Nesrallah J., Agnew M., Geske F.J., Favaloro E.J. Establishment and characterization of a new and stable collagen-binding assay for the assessment of von Willebrand factor activity. *Int. J. Lab. Hematol.* 2013; 35 (2): 170–176. DOI: 10.1111/ijlh.12019.
45. Federici A.B. Current and emerging approaches for assessing von Willebrand disease in 2016. *Int. J. Lab. Hematol.* 2016; 38 (Suppl. 1): 41–49. DOI: 10.1111/ijlh.12540.
46. Demeulenaere M., Devreese K., Vanbelleghem H., De Zaeytjdt J., Walle J.V., Biesen W.V., Laecke S.V. Thrombomodulin and endothelial dysfunction: A disease-modifier shared between malignant hypertension and atypical hemolytic uremic syndrome. *Nephron*. 2018; 140 (1): 63–73. DOI: 10.1159/000490201.
47. Тульцева, С.Н. Использование рекомбинантного тканевого активатора плазминогена в лечении окклюзий вен сетчатки. *Офтальмологические ведомости*. 2010; 3 (1): 42–50.
48. Reinhart K., Bayer O., Brunkhorst F., Meisner M. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (5): 302–312. DOI: 10.1097/00003246-200205001-00021.

49. Глыбочко П.В., Захарова Н.Б., Понукалин А.Н., Дурнов Д.А., Шахпазян Н.К. Диагностическое значение пока-

зателей ангиогенеза при раке почки. *Онкоурология*. 2011; (3): 25–31.

---

### Сведения об авторах

**Шабров Александр Владимирович**, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, гл. науч. сотрудник, отдел экологической физиологии, ИЭМ, г. Санкт-Петербург.

**Галенко Андрей Сергеевич**, канд. мед. наук, доцент, кафедра факультетской терапии им. проф. В.А. Вальдмана, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-2931-8413.

**Успенский Юрий Павлович**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии им. проф. В.А. Вальдмана, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург.

**Лосева Кристина Александровна**, ординатор, кафедра факультетской терапии им. проф. В.А. Вальдмана, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург.

(✉) **Галенко Андрей Сергеевич**, e-mail: asgalenko@mail.ru

Поступила в редакцию 25.04.2020

Подписана в печать 29.09.2020

## Проблема гипердиагностики синдрома экстравазальной компрессии позвоночных артерий

Шведов А.Н.<sup>1</sup>, Ивченко А.О.<sup>1</sup>, Федорова Е.П.<sup>2</sup>, Ивченко О.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Медицинское объединение «Здоровье»  
Россия, 634034, г. Томск, Котовского, 19

### РЕЗЮМЕ

Синдромом экстравазальной компрессии позвоночных артерий называют симптомокомплекс, возникающий в результате гемодинамически значимой частичной или полной обструкции позвоночных артерий экстравазальными структурами. В клинической практике данное состояние чаще всего называют синдромом позвоночной артерии. Компрессии может быть подвержен любой сегмент, но наиболее часто поражение определяют на уровне C1–C2. Отечественные авторы считают компрессию позвоночных артерий распространенной причиной широкого спектра жалоб пациента, включая головокружение, головные боли и субъективный шум в голове. В отдельных работах сообщают, что синдром позвоночной артерии развивается у 50% пациентов с дегенеративными изменениями шейного отдела позвоночника.

В мировой литературе синдром компрессии позвоночных артерий, который чаще именуется «синдром лучника» (bow hunter's syndrome), называют редкой патологией. Чем обусловлена столь выраженная разница частоты выявления компрессии позвоночных артерий в отечественной и мировой литературе? К возможным причинам указанного феномена могут быть отнесены: отсутствие единых диагностических критериев, низкая осведомленность об альтернативных диагнозах и неверная интерпретация жалоб пациента. Очевидным является необходимость коррекции указанных факторов с целью снижения вероятности гипердиагностики синдрома позвоночной артерии и повышения качества оказания медицинской помощи.

**Ключевые слова:** синдром позвоночной артерии, компрессия, ультразвуковая диагностика, критерии, гипердиагностика.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Шведов А.Н., Ивченко А.О., Федорова Е.П., Ивченко О.А. Проблема гипердиагностики синдрома экстравазальной компрессии позвоночных артерий. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 210–215. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-210-215>.

## The problem of overdiagnosis of vertebral artery compression syndrome

Shvedov A.N.<sup>1</sup>, Ivchenko A.O.<sup>1</sup>, Fedorova E.P.<sup>2</sup>, Ivchenko O.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University (SSMU)  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Medical Association “Zdorovie”  
19, Kotovskogo Str., Tomsk, 634034, Russian Federation

✉ Шведов Андрей Николаевич, e-mail: doc.shvedov@gmail.com

**ABSTRACT**

Vertebral artery compression is a syndrome that occurs as a result of hemodynamically significant partial or complete obstruction of vertebral arteries by extravascular structures. In clinical practice, this condition is most often called vertebral artery syndrome. Any vertebral segments can be compressed, but most often the lesion is determined at the level of C1–C2. Russian authors consider vertebral artery compression to be a common cause of a wide range of patient complaints, including dizziness, headaches, and subjective tinnitus. In some studies, it is reported that vertebral artery syndrome develops in 50% of patients with degenerative changes in the cervical spine.

In the world literature, vertebral artery compression syndrome which is often referred to as “bow hunter’s syndrome” is called a rare pathology. Such a pronounced difference in the frequency of detection of vertebral artery compression in Russian and world literature may be associated with a lack of common diagnostic criteria, low awareness of alternative diagnoses, and incorrect interpretation of patient complaints. It is obvious that these factors need to be corrected in order to reduce the likelihood of overdiagnosis of vertebral artery compression syndrome and improve the quality of medical care.

**Key words:** vertebral artery syndrome, compression, ultrasound imaging, criteria, overdiagnosis.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Shvedov A.N., Ivchenko A.O., Fedorova E.P., Ivchenko O.A. The problem of overdiagnosis of vertebral artery compression syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 210–215. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-210-215>.

**ВВЕДЕНИЕ**

Синдромом экстравазальной компрессии позвоночных артерий (ПА) называют симптомокомплекс, возникающий в результате гемодинамически значимой частичной или полной обструкции ПА экстравазальными структурами. В клинической практике данное состояние чаще всего называют синдромом позвоночной артерии (СПА). Компрессии может быть подвержен любой сегмент (рис. 1), но наиболее часто поражение определяют на уровне C1–C2 [1].

Отечественные авторы считают компрессию ПА распространенной причиной широкого спектра жалоб пациента, включая головокружение, головные боли и субъективный шум в голове [2]. Имеются публикации, в которых компрессия ПА выявлена у 45% пациентов с жалобами на головокружение [3]. Также в отдельных работах сообщают, что СПА развивается у 50% пациентов с дегенеративными изменениями шейного отдела позвоночника [4].

При этом в мировой литературе синдром компрессии ПА, который чаще именуется «синдром лучника» (bow hunter’s syndrome), называют редкой патологией [5, 6]. Это прекрасно продемонстрировано в систематическом обзоре, в котором V. Rastogi и соавт. (2015) за промежуток между 1966 и 2013 г. обнаружили только 153 описанных в литературе случая компрессии ПА [7]. Чем обусловлена столь выраженная разница частоты выявления компрессии ПА в отечественной и мировой литературе?

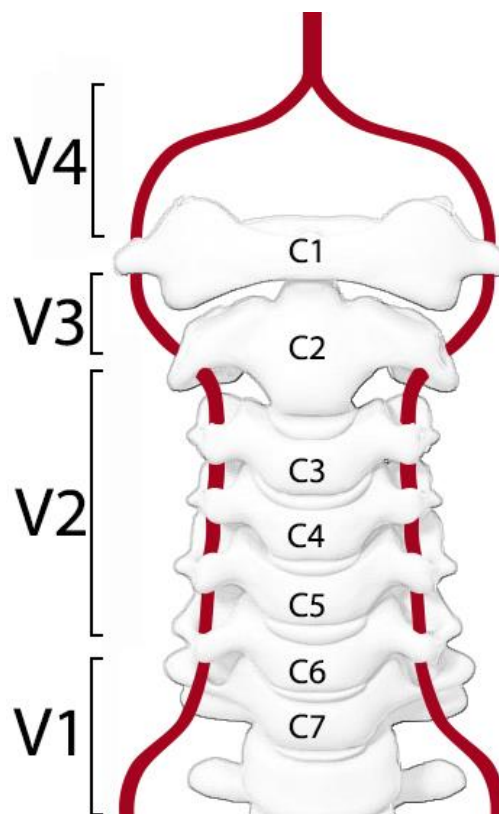


Рис. 1. Сегменты позвоночной артерии: V1 – от устья ПА до вхождения в канал поперечных отростков; V2 – ПА проходит в канале поперечных отростков; V3 – ПА от C2 до входа в полость черепа; V4 – интракраниальный сегмент ПА

К возможным причинам указанного феномена могут быть отнесены отсутствие единых диагностических критериев, низкая осведомленность об альтернативных диагнозах и неверная интерпретация жалоб пациента.

## ОТСУТСТВИЕ ЕДИНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ СПА

На сегодняшний день отсутствуют единые рекомендации по диагностике компрессии ПА [8, 9], в результате чего большинство авторов используют различные критерии и методы обследования пациентов. Компьютерная томография и магнитно-резонансная томография имеют место в диагностике СПА, однако необходимость выполнения ротации головы (с задержкой в данной позиции как минимум 2 мин) для демонстрации компрессии несет потенциальный риск неврологических осложнений [10], в связи с чем исследователи для верификации диагноза применяют контрастную ангиографию [5, 11]. Чаще всего диагностическими критериями СПА считают дефект заполнения ПА при ротации головы с возникновением клинических проявлений. Учитывая инвазивность и относительно высокую стоимость процедуры, как правило, ангиографию выполняют после выявления признаков компрессии ПА во время ультразвукового исследования [12].

Следует отметить, что ультразвуковые критерии СПА варьируют от автора к автору. Так, например, Т.В. Захматова и соавт. (2014) при дуплексном исследовании оценивали влияние экстравазальных воздействий на ПА путем расчета отношений показателей кровотока (объемная скорость кровотока в

V3 сегменте к V1, усредненная по времени максимальная скорость кровотока в V3 сегменте к V1). При значении V3 : V1 более 1,0 кровоток расценивали как компенсированный, менее 0,7 – как декомпенсированный [13]. М.Л. Дическул и В.П. Куликов (2011) продемонстрировали, что при ротации головы у пациентов с патологией шейного отдела позвоночника пиковая систолическая скорость (ПСС) в V4 сегменте ПА значительно снижалась по сравнению со здоровыми добровольцами [14].

В качестве диагностического порога авторы выбрали снижение ПСС  $\geq 30\%$  [14]. В последующем тот же коллектив авторов изучал показатели кровотока в ПА при поворотных пробах у пациентов с вертебро-базилярной недостаточностью (ВБН). Для этого выполняли дуплексное сканирование субокципитального и интракраниального сегментов ПА у 70 пациентов с I–II стадиями вертебро-базилярной недостаточности (ВБН) по классификации А.Б. Сителя [15] и 28 здоровых волонтеров. По результатам исследования авторы заключили, что снижение ПСС кровотока  $\geq 30\%$  в V4 сегменте ПА при поворотных пробах головы является высокоспецифичным показателем экстравазального воздействия – 98 (ДИ 94,8–99,8)% с прогностической ценностью 94,6 (ДИ 81,8–99,2)%, степень снижения ПСС была значительно больше у пациентов с ВБН ( $p < 0,05$ ). Также отмечено, что отсутствие изменений ПСС при выполнении поворотных проб не является гарантией отсутствия экстравазального воздействия на ПА [16]. Основным методологическим дефектом вышеуказанной работы является использование классификации ВБН А.Б. Сителя (таб. 1).

Таблица 1

| Классификации вертебро-базилярной недостаточности (по А.Б. Сителю, 2008) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Стадия                                                                   | Клинические характеристики                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| I                                                                        | Характеризуется преобладанием субъективной симптоматики над объективно выявляемыми нарушениями движения и чувствительности, имеется фоновая вегетативная дисфункция, легкие кратковременные головокружения, периоды нечеткости зрения. Функциональные блокады выявляются в краниоцервикальном сочленении, области шейно-грудного перехода и пояснице, являющейся сопряженным сегментом для шейного отдела позвоночника, так как имеет с ним соименную кривизну – лордоз. Для этой стадии характерен также синдром нижней косой мышцы головы, рефлекторная контрактура мышц шеи, синдром передней грудной стенки, межлопаточный болевой синдром            |
| II                                                                       | Характеризуется более интенсивными и более длительными приступами головокружения, приступами головных болей, часто – в половине головы, начинающихся, как правило, болью в шее или заушной области. Отмечаются периоды нарушения слуха в виде его снижения, появления шумов и гула в ухе, нарушение равновесия; зрительных расстройств в виде «мушек», тумана перед глазами; болей в области сердца, не связанных с нагрузкой, экстрасистолией. Функциональные блокады, в отличие от первой стадии, выявляются и в среднем, и верхнем шейных отделах, поясничный лордоз выпрямлен. Выражены ограничения при ротации головы в стороны, ротация болезненная |
| III                                                                      | Характеризуется более выраженной клинической картиной: тяжелыми приступами головной боли, при которой анальгетики и нестероидные противовоспалительные препараты не приносят облегчения, головокружениями с тошнотой и рвотой, приступами drop-атак. Приступы провоцируются запрокидыванием головы кзади и резким поворотом в сторону, перемещением на эскалаторе или в транспорте. Функциональные блокады выявляются во всех позвоночных двигательных сегментах шейного и поясничного отдела позвоночника                                                                                                                                                |
| IV                                                                       | Клинически совпадает с дисциркуляторной энцефалопатией III стадии, так как у больных имеются признаки перенесенных инсультов в каротидном бассейне и стволе мозга, стойкий неврологический дефицит                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

Из табл. 1 видно, что клинические признаки I и II стадии ВБН по А.Б. Сителю носят неспецифический характер и могут быть проявлениями огромного спектра различных патологических, либо физиологических состояний. К сожалению, данное обстоятельство заставляет с осторожностью относиться к выводам М.Л. Дическул и В.П. Куликова, поскольку исследование проводилось на гетерогенной группе больных, жалобы которых, вероятнее всего, были обусловлены различными заболеваниями (первичные головные боли [17], доброкачественное пароксизмальное позиционное головокружение (ДППГ) [18] и прочие [19]).

Отсутствие единых ультразвуковых критериев диагностики СПА характерно не только для Российской Федерации, но и прослеживается в Японии. Так, коллектив под руководством М. Kamouchi (2003) при выполнении дуплексного исследования у пациентов с подозрением на компрессию ПА ориентируется на качественные показатели кровотока в ПА (снижение ПСС в V2 сегменте и исчезновение диастолического компонента при поворотных пробах) [20], в то время как Y. Iguchi и соавт. (2006) оценивали качественные характеристики кровотока задней мозговой артерии

(ЗМА) и базилярной артерии при транскраниальной доплерографии [11].

Следует отметить, что исчезновение диастолического компонента в ПА при поворотных пробах в качестве признака компрессии ПА используют и J. Yeh и соавт. (2005) [21]. Дополнительным критерием являлось снижение ПСС более чем на 50% в экстракраниальных сегментах ПА при выполнении функциональных проб во время дуплексного исследования. Оценку скоростных показателей кровотока в ЗМА при транскраниальной доплерографии активно используют и за пределами Японии. В частности, снижение ПСС в ЗМА  $\geq 50\%$  от базовой при ротации головы является критерием компрессии ПА в диагностических отделениях США и Европы [5, 12, 22].

Обобщенные критерии представлены в табл. 2. В своей практике при подозрении у пациента СПА мы оцениваем изменения кровотока в V2 сегменте ПА во время ротационных проб. При снижении ПСС  $\geq 50\%$ , исчезновении диастолического компонента и появлении характерных жалоб, что встречается довольно редко, пациенту рекомендуется выполнение ангиографии для верификации диагноза.

Таблица 2

| Ультразвуковые критерии экстравазального воздействия на позвоночные артерии   |                                |                                                                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Автор                                                                         | Метод исследования             | Критерий                                                                                                                                                                     |
| М.Л. Дическул, 2012 [16]                                                      | Дуплексное исследование        | Снижение ПСС кровотока $\geq 30\%$ в V4 сегменте ПА при поворотных пробах головы                                                                                             |
| Т.В. Захматова, 2014 [13]                                                     | Дуплексное исследование        | Отношение объемной или усредненной по времени максимальной скорости кровотока в V3 к V1 более 1,0 – кровоток компенсированный; менее 0,7 – декомпенсированный                |
| М. Kamouchi, 2003 [20]                                                        | Дуплексное исследование        | Качественные изменения кровотока в ПА (снижение ПСС в V2 сегменте и исчезновение диастолического компонента при поворотных пробах)                                           |
| J. Yeh, 2005 [21]                                                             | Дуплексное исследование        | Снижение ПСС $\geq 50\%$ в экстракраниальных сегментах ПА и исчезновение диастолического компонента при поворотных пробах                                                    |
| Y. Iguchi, 2006 [11]                                                          | Транскраниальная доплерография | Качественные изменения кровотока в ЗМА и базилярной артерии (постепенное снижение кровотока с его итоговым прекращением при максимальной ротации головы)                     |
| M. Sturzenegger, 1994 [22],<br>M.D. Vilela, 2005 [12],<br>G.F. Jost, 2015 [5] | Транскраниальная доплерография | Снижение ПСС в ЗМА $\geq 50\%$ при ротации головы с последующей реактивной гиперемией при возврате головы в нейтральную позицию с повышением ПСС $>10\%$ от базовой скорости |

Из представленных данных отчетливо наблюдается отсутствие единых ультразвуковых критериев СПА, что естественным образом сказывается на различии частоты выявления компрессии ПА в отдельных диагностических центрах. Однако ультразвуковому исследованию пациента предшествует анализ жалоб и анамнеза, неверная интерпретация которых также может приводить к гипердиагностике СПА.

## ОЦЕНКА ЖАЛОБ И АНАМНЕЗА ПАЦИЕНТА С ПОДОЗРЕНИЕМ СПА

Интерпретация жалоб и анамнеза пациента имеет большое значение, поскольку с этого начинается

формулирование диагностической гипотезы [23] и дифференциальный диагноз в целом [24]. К классическим жалобам при СПА относят головокружение, головную боль, тошноту, рвоту и зрительные нарушения при ротации головы с купированием приступа при возврате в нейтральную позицию [10]. В зарубежной литературе указанные жалобы рассматривают в рамках ВБН, которая включает только транзиторную ишемическую атаку и ишемический инсульт в вертебро-базилярном бассейне. То есть ВБН характеризуется исключительно как острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК).

В российских источниках под ВБН помимо ОНМК понимают вариант хронической ишемии головного мозга [25], диагноза, под маской которого часто протекают другие заболевания (головная боль напряжения, депрессивные расстройства и т.д.) [26]. Возможно, разница восприятия ВБН (как острого состояния в зарубежной литературе и как хронического процесса в отечественной) внесет вклад в гипердиагностику СПА в российских источниках. В то же время клинические проявления компрессии ПА являются неспецифичными и могут встречаться при различной патологии. Так, например, самой частой причиной головокружения у взрослых является ДППГ [27], а частой причиной головных болей – мигрень [28]. Оба состояния нередко сопровождаются тошнотой, рвотой и зрительными нарушениями. Учитывая, что при ДППГ приступ головокружения может быть спровоцирован поворотом головы [29], при обследовании пациента с головокружением сле-

дует в первую очередь заподозрить именно эту патологию, а не редко встречающуюся компрессию ПА [7]. Однако низкая осведомленность врачей лечебно-диагностического звена о ДППГ [30] и хронической мигрени [31] также может приводить к неверной интерпретации жалоб пациента с последующей гипердиагностикой СПА.

Конечно, причины гипердиагностики СПА не ограничиваются отсутствием единых критериев и неверной интерпретацией жалоб пациента. Не стоит забывать и о когнитивных искажениях в процессе диагностического поиска, к которым относятся предвзятость доступности (availability bias), предвзятость подтверждения (confirmation bias) и эффект якорения (anchoring bias). В табл. 3 представлены описания и примеры перечисленных психологических феноменов. Интересующийся читатель может найти более подробную информацию о них в работе E.D. O'Sullivan и S.J. Schofield [32].

Таблица 3

| Краткий перечень возможных когнитивных искажений |                                                                                           |                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Когнитивное искажение                            | Определение                                                                               | Пример                                                                                                                    |
| Предвзятость доступности                         | Переоценка вероятности диагноза, основанная на легкости, с которой он приходит на ум      | Постановка диагноза на основании предыдущего пациента с похожими симптомами                                               |
| Предвзятость подтверждения                       | Избирательное предпочтение данных, подтверждающих диагноз                                 | Использование научных публикаций, где описаны критерии, подтверждающие диагноз с игнорированием альтернативных публикаций |
| Эффект якорения                                  | Стремление придерживаться определенного диагноза, несмотря на доказательства опровержения | Отказ доктора сменить диагноз СПА, несмотря на подтвержденный коллегой диагноз ДППГ                                       |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Различные подходы к интерпретации диагностических критериев СПА находят отражение в разной частоте диагностики компрессии ПА. Очевидным являются необходимость разработки единых критериев диагностики СПА и повышение осведомленности врачей лечебно-диагностического звена об альтернативных диагнозах (ДППГ, мигрень и другие заболевания) с целью снижения вероятности гипердиагностики СПА и повышения качества оказания медицинской помощи.

## ЛИТЕРАТУРА

- Jadeja N., Nalleballe K. Pearls & Oy-sters: Bow hunter syndrome: A rare cause of posterior circulation stroke: Do not look the other way. *Neurology*. 2018; 91 (7): 329–331. DOI: 10.1212/WNL.0000000000006009.
- Молоков Д.Д., Ягунов П.В., Молоков В.Д. Восстановительное лечение синдрома позвоночной артерии. *Сибирский медицинский журнал*. 2010; 97 (6): 266–267.
- Алексеева Н.С. Головокружение, обусловленное патологией шейного отдела позвоночника. *Лечащий врач*. 2009; (7): 60–63.

- Зиновьева Г.А., Бабанина Л.П. Синдром позвоночной артерии при вертеброгенной патологии шейного отдела позвоночника. *Вестник ВолгГМУ*. 2006; 1 (17): 9–13.
- Jost G.F., Dailey A.T. Bow hunter's syndrome revisited: 2 new cases and literature review of 124 cases. *Neurosurgical Focus*. 2015; 38 (4): 1–15. DOI: 10.3171/2015.1.FOCUS.14791.
- Simpkin C.T., Davis K.E., Davis B.S., Vosko A.M., Jorgensen M.E. Bow hunter's syndrome in a patient with vertebral artery atresia, an arcuate foramen, and unilateral deafness: a case report. *Radiol. Case Rep*. 2017; 12 (3): 597–601. DOI: 10.1016/J.RADCR.2017.04.001.
- Rastogi V., Rawls A., Moore O. et al. Rare etiology of Bow Hunter's Syndrome and systematic review of literature. *J. Vasc. Interv. Neurol*. 2015; 8 (3): 7–16.
- Go G., Hwang S.H., Park I.S., Park H. Rotational vertebral artery compression: Bow Hunter's Syndrome. *J. Korean Neurosurg Soc*. 2013; 54 (3): 243–245. DOI: 10.3340/JKNS.2013.54.3.243.
- Mileva N.B., Vassilev D.I., Serbezova I., Rigatelli G., Gill R.J. Vertebral artery stenting in a patient with Bow Hunter's Syndrome. *JACC: Case Reports*. 2019; 1 (1): 73–74. DOI: 10.1016/J.JACCAS.2019.05.010.
- Duan G., Xu J., Shi J., Cao Y. Advances in the Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Bow Hunter's Syndrome.

- me: A comprehensive review of the literature. *Interv. Neurol.* 2016; 5 (1-2): 29–38. DOI:10.1159/000444306.
11. Iguchi Y., Kimura K., Shibasaki K., Iwanaga T., Ueno Y., Inoue T. Transcranial doppler and carotid duplex ultrasonography findings in Bow hunter's syndrome. *J. Neuroimaging.* 2006; 16 (3): 278–280. DOI: 10.1111/J.1552-6569.2006.00040.X.
  12. Vilela M.D., Goodkin R., Lundin D.A., Newell D.W. Rotational vertebrobasilar ischemia: hemodynamic assessment and surgical treatment. *Neurosurgery.* 2005; 56 (1): 36–45. DOI: 10.1227/01.NEU.0000146441.93026.CE.
  13. Захматова Т.В., Щедренок В.В., Могучая О.В., Себелев К.И., Красношлык П.В. Сравнительный анализ гемодинамики по позвоночным артериям при травме и дегенеративных заболеваниях шейного отдела позвоночника методом цветового дуплексного сканирования. *Российский биомедицинский журнал.* 2014; 15 (2): 352–365.
  14. Дическул М.Л., Куликов В.П. Влияние максимальной ротации головы на показатели кровотока в интракраниальном сегменте позвоночных артерий. *Мануальная терапия.* 2011; 41 (1): 27–32.
  15. Ситель А.Б., Нефедов А.Ю. Лечение спондилогенной вертебрально-базиллярной недостаточности методами мануальной терапии-активная профилактика мозгового ишемического инсульта. *Мануальная терапия.* 2008; 29 (1): 22–31.
  16. Дическул М.Л., Куликов В.П. Ультразвуковая оценка динамики кровотока в позвоночных артериях при поворотах головы. *Фундаментальные исследования.* 2012; (5-1): 22–25.
  17. Yeh W.Z., Blizzard L., Taylor B.V. What is the actual prevalence of migraine? *Brain Behav.* 2018; 8 (6): 1–6. DOI: 10.1002/BRB3.950.
  18. Ciorba A., Cogliandolo C., Bianchini C. et al. Clinical features of benign paroxysmal positional vertigo of the posterior semicircular canal. *SAGE Open Med.* 2019; 7: 2050312118822922. DOI: 10.1177/2050312118822922.
  19. Nicolas-Puel C., Faulconbridge R.L., Guitton M., Puel J.L., Mondain M., Uziel A. Characteristics of tinnitus and etiology of associated hearing loss: a study of 123 patients. *Int. Tinnitus J.* 2002; 8 (1): 37–44.
  20. Kamouchi M., Kishikawa K., Matsuo R. et al. Ultrasonographic detection of extracranial vertebral artery compression in bow hunter's brain ischemia caused by neck rotation. *Cerebrovasc. Dis.* 2003; 16 (3): 303–305. DOI: 10.1159/000071134.
  21. Yeh J.F., Lin Y.J., Po H.L. et al. A case of bow hunter's stroke caused by non-dominant vertebral artery. *Acta Neurol. Taiwan.* 2005; 14 (2): 69–73.
  22. Sturzenegger M., Newell D.W., Douville C., Byrd S., Schoonover K. Dynamic transcranial Doppler assessment of positional vertebrobasilar ischemia. *Stroke.* 1994; 25 (9): 1776–1783. DOI: 10.1161/01.STR.25.9.1776.
  23. Nierenberg R. The chief complaint driven medical history: implications for medical education. *Int. J. Med. Educ.* 2017; 8: 205–206. DOI: 10.5116/IJME.5907.74D8.
  24. Heneghan C., Glasziou P., Thompson M. et al. Diagnostic strategies used in primary care. *BMJ.* 2009; 338: b946. DOI: 10.1136/BMJ.B946.
  25. Барулин А.Е., Курушина О.В., Пучков А.Е. Вертебро-базиллярная недостаточность. *Вестник ВолгГМУ.* 2014; 3 (51): 3–8.
  26. Парфенов В.А. Современные аспекты диагностики и лечения хронической ишемии головного мозга применение нафтидрофурила. *Медицинский совет.* 2015; 18: 11–17. DOI: 10.21518/2079-701X-2015-18-11-17.
  27. Hornibrook J. Benign paroxysmal positional vertigo (BPPV): History, pathophysiology, office treatment and future directions. *Int. J. Otolaryngol.* 2011; 2011: 835671. DOI: 10.1155/2011/835671.
  28. Ahmed F. Headache disorders: differentiating and managing the common subtypes. *British Journal of Pain.* 2012; 6 (3): 124–132. DOI: 10.1177/2049463712459691.
  29. Jung H.K., Soo B.I., Je H.J., Dong S.S., Sang M.Y., Jong H.M. Bow Hunter Syndrome treated via an anterior approach and selective decompression only. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* 2018; 9 (5): 1–4. DOI: 10.26717/BJSTR.2018.09.001870.
  30. Лебедева Н.В., Замерград М.В., Парфенов В.А., Антоненко Л.М. Диагностика и лечение больных с доброкачественным пароксизмальным позиционным головокружением в повседневной клинической практике. *Терапевтический архив.* 2017; 89 (1): 57–61. DOI: 10.17116/terarkh201789157-61.
  31. Амелин А.В., Богданова Ю.Н., Корешкина М.И., Проценко Е.В., Скоромец А.А., Тарасова С.В. Диагностика первичных и симптоматических форм хронической ежедневной головной боли. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2011; 111 (4): 82–84.
  32. O'Sullivan E.D., Schofield S.J. Cognitive bias in clinical medicine. *J. R. Coll. Physicians Edinb.* 2018; 48 (3): 225–232. DOI: 10.4997/JRCPE.2018.306.

## Сведения об авторах

**Шведов Андрей Николаевич**, канд. мед. наук, ассистент, кафедра факультетской хирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-3967-725X.

**Ивченко Андрей Олегович**, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой факультетской хирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-3697-1816.

**Федорова Елена Петровна**, врач-невролог, отделение неврологии, Медицинское объединение «Здоровье», г. Томск.

**Ивченко Олег Алексеевич**, д-р мед. наук, профессор, кафедра факультетской хирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7686-3481.

(✉) **Шведов Андрей Николаевич**, e-mail: doc.shvedov@gmail.com

Поступила в редакцию 21.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Тромбоциты и регенерация

**Юшков Б.Г.**

*Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН)  
Россия, 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106*

### РЕЗЮМЕ

Представлен анализ данных, доказывающих участие тромбоцитов в механизмах регуляции репаративной регенерации тканей. Показано их влияние на повреждение, апоптоз, пролиферацию клеток, ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса, ангиогенез и нейрогенез. Дана оценка их взаимодействию с макрофагами в процессе восстановления структуры поврежденных тканей. Охарактеризованы некоторые тромбоцитарные регенеративные факторы.

**Ключевые слова:** тромбоциты, регенерация, ангиогенез, нейрогенез, макрофаги.

**Конфликт интересов.** Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания ИИФ УрО РАН (тема № АААА-А18-118020590108-7). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН.

**Для цитирования:** Юшков Б.Г. Тромбоциты и регенерация. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 216–227. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-216-227>.

---

## Platelets and regeneration

**Yushkov B.G.**

*Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIP UB RAS)  
106, Pervomayskaya Str., Yekaterinburg, 620049, Russian Federation*

### ABSTRACT

The review presents the analysis of data proving the role of platelets in the mechanisms of regulation of reparative tissue regeneration. The influence of platelets on damage, apoptosis, and proliferation of cells, as well as on extracellular matrix remodeling, angiogenesis, and neurogenesis is shown. Their interaction with macrophages in restoring the structure of damaged tissues is assessed. Several regenerative properties of platelets are characterized.

**Key words:** platelets, regeneration, angiogenesis, neurogenesis, macrophages.

**Conflict of interest.** The author declares the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article

**Source of financing.** The research was carried out as part of the state assignment of IIP UB RAS (No. АААА-А18-118020590108-7). The study was carried out using the equipment of the Center for Collective Use of IIP UB RAS.

**For citation:** Yushkov B.G. Platelets and regeneration. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 216–227. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-216-227>.

Долгое время считалось, что тромбоциты участвуют только в процессах гемостаза. Однако исследования последних двух десятилетий показали полифункциональность этих форменных элементов крови, что делает их важным звеном в процессах адаптации организма к действию на него различных экстремальных факторов: гипоксии, ионизирующей радиации, инфекции, стресса и др. [1].

Особое место они занимают в репаративных процессах. Первыми на повреждение реагируют тромбоциты, нейтрофилы и макрофаги. Однако экспериментальные исследования показали, что истощение пула нейтрофилов не влияет на процесс регенерации [2]. Тромбоциты же накапливаются на концах поврежденных кровеносных сосудов, превращают фибриноген в фибрин и формируют тромб, состоящий из сшитого фибрина, фибронектина, витронектина, тромбоспондина, эритроцитов и тромбоцитов [3, 4]. В этом сгустке тромбоциты отвечают за активацию и высвобождение из своих  $\alpha$ -гранул важных биомолекул, включая специфические для тромбоцитов белки, факторы роста, факторы свертывания, молекулы адгезии, цитокины, ангиогенные факторы, протеогликаны и цитокины (хемокины) [5]. Секреция цитокинов, хемокинов и факторов роста, в свою очередь, индуцирует пролиферацию и активацию клеток, участвующих в заживлении ран, таких как фибробласты, нейтрофилы, моноциты, гладкомышечные клетки и мезенхимальные стволовые клетки (МСК) [6].

Антитромбоцитарные препараты ингибируют регенерацию, тормозя выделение из тромбоцитов факторов роста, таких как сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF). Так, у крыс с язвенной болезнью желудка ингибитор АДФ-рецептора тромбоцитов – тиклопидин – не только заметно подавляет агрегацию тромбоцитов, но и нарушает заживление язвы желудка и ангиогенез. Более того, с помощью переливания тромбоцитов этот эффект можно обратить вспять [7]. В этом случае тромбоциты присутствуют в кровотоке, но не выделяют свои гранулы.

Можно предположить, что регенеративное действие тромбоцитов обусловлено одним из трех компонентов: факторами роста, хемокинами или белками, локализованными на мембране гранул и встраивающимися в мембрану тромбоцитов после активации.

При травме место повреждения заполняется трехмерным полимеризованным сгустком фибрина, содер-

жащим плазму, богатую ранозаживляющими факторами, тромбоцитами, мезенхимальными стволовыми клетками и фибробластами. В течение нескольких дней клетки внутри раны формируют сложный коктейль из ранозаживляющих, нейротрофических и других факторов. Эти наблюдения послужили основой для использования с целью стимуляции регенерации богатой тромбоцитами плазмы (БТП; синонимы: обогащенная тромбоцитами плазма, тромбоцитарный концентрат, тромбоцитарный гель).

Плазма крови с повышенным содержанием тромбоцитов представляет собой своеобразную смесь физиологически активных веществ, объединяемых под общим названием «тромбоцитарные факторы заживления ран» (platelet-derived wound-healing factor, PDWHF) [8–10]. Среди них несколько изотипов тромбоцитарных факторов роста: тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor, PDGF), аденозиндифосфат (АДФ), аденозинтрифосфат (АТФ), кальций, серотонин, фибронектин,  $\beta$ -тромбоглобулин, фактор фон Виллебранда (vWF), фибриноген, факторы свертывания крови V и XIII, трансформирующий фактор роста  $\beta$  (transforming growth factor beta, TGF $\beta$ ), VEGF, эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor, EGF), основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF и FGF $\beta$ ), фактор роста фибробластов 2 (fibroblast growth factor 2, FGF-2), тромбоцитарный фактор 4 (ТФ-4), цилиарный нейротрофический фактор (ciliary neurotrophic factor, CNTF), инсулиноподобный фактор роста-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) и тромбоцитарный фактор ангиогенеза (platelet-derived angiogenesis factor, PDAF) [9, 11]. Одни из этих факторов участвуют в привлечении (рекрутировании) в место повреждения клеток-предшественников, участвующих в заживлении ткани, мишенью для других выступают клетки поврежденной ткани.

Хотя обогащенная тромбоцитами плазма все чаще используется для закрытия раны и активизации ее заживления [12], конкретные механизмы тромбоцитарной регуляции репаративных процессов стали привлекать внимание исследователей лишь в последнее время. Накапливающиеся клинические и экспериментальные данные позволяют с новых позиций посмотреть на физиологию кровяных пластинок.

Тромбоциты – это безъядерные элементы крови, в цитоплазме которых может содержаться до 100 мембранных гранул. Гранулы действуют как бассейны для хранения активных веществ. Описано несколько

типов гранул тромбоцитов, из которых наибольший интерес представляют  $\alpha$ -гранулы, плотные гранулы и лизосомы [13, 14].

$\alpha$ -гранулы – наиболее многочисленные (40–80%) и самые крупные (200–400 нм). Они хранят более 300 различных белков: белки свертывания крови (фактор V, фактор IX, фактор XIII, антитромбин, плазминоген, ингибитор активатора плазминогена 1), адгезии (фибриноген, vWF, тромбоспондин), хемокины, VEGF, PDGF, FGF-2, EGF, фактор роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor, HGF), TGF $\beta$ . Выброс этих биологически активных веществ носит не случайный характер, а осуществляется под влиянием внешнего стимула. Содержимое гранул высвобождается после адгезии к коллагену, другим компонентам матрикса или в ответ на растворимые агонисты, такие как АДФ или тромбин [5].  $\alpha$ -гранулы считаются ключевыми органеллами в отношении функции тромбоцитов.

Плотные гранулы, меньшие по размеру и количеству, хранят высокие концентрации кальция, магния, нуклеотиды (АТФ, АДФ, циклический аденозин монофосфат, уридинтрифосфат) и пирогосфаты, серотонин и гистамин. Секретция плотных гранул тромбоцитов играет основную роль в усилении реакции тромбоцитов и тромбозе.

Лизосомные гранулы, как и в других клетках, содержат такие ферменты, как катепсин, эластаза, коллагеназа, карбоксипептидаза, глюкозидаза, глюкохонидаза и кислая фосфатаза, которые связаны с деградацией белков, углеводов и липидов [15–17].

Помимо синтеза белка тромбоциты выступают также в качестве источника активных метаболитов, таких как эйкозаноиды, синтезируемые из арахидоновой кислоты, которые высвобождаются из мембранных фосфолипидов. ТХА<sub>2</sub> обладает выраженной вазоконстрикторной способностью и ассоциируется также с пролиферативным ответом поврежденных сосудов [18]. Сфингозин-1-фосфат, обладающий митогенной активностью, секретируется активированными тромбоцитами в момент образования сгустка и стимулирует накопление фибронектинового матрикса и экспрессию тканевого фактора (ТФ) в эндотелиальных клетках [19]. Фактор, активирующий тромбоциты, – липид, образованный из тромбоцитов, подавляет миграцию лейкоцитов и инициирует эндотелиальные клетки [20].

Мембрана тромбоцитов содержит множество функциональных молекул клеточной адгезии: Р-селектин, GPIIb/IIIa, GPIb, интегрины, которые не только участвуют в образовании тромба, но и позволяют им взаимодействовать с эндотелиальными клетками, лейкоцитами, включая макрофаги, и клет-

ками-предшественниками [21, 22]. Р-селектин присутствует на активированной мембране тромбоцитов после высвобождения  $\alpha$ -гранул. Это гарантирует, что только активированные тромбоциты взаимодействуют с иммунными и эндотелиальными клетками. Основным лейкоцитарным лигандом для Р-селектина является PSGL-1. Параллельное высвобождение цитокинов и хемокинов влияет на взаимодействие тромбоцитов с лейкоцитами. Это приводит к усилению регуляции факторов транскрипции лейкоцитов и продуцированию большего количества цитокинов и хемокинов [5].

После повреждения вещества, которые обычно находятся внутри клеток, поступают во внеклеточную среду. Эти эндогенные молекулы, включающие белки и нуклеиновые кислоты, называются демпферами и являются ключевым сигналом для инициации иммунных реакций и регенерации. Демпферы способны активировать различные типы рецепторов, включая Toll-подобные рецепторы, NOD-подобные рецепторы, RIG-I (retinoic acid-inducible gene 1) подобные рецепторы, рецепторы лектинов типа С, рецепторы для конечных продуктов гликирования, связанные с G-белком рецепторы и ионные каналы [23], расположенные на эпителиальных клетках, эндотелиальных клетках, фибробластах, нейтрофилах, макрофагах, тромбоцитах, дендритных клетках и др.

Реакция тромбоцитов начинается с взаимодействия рецепторов P2Y<sub>1</sub> и P2Y<sub>12</sub>, расположенных на мембране тромбоцитов, с молекулами АДФ, выходящими из поврежденных клеток, а белки G<sub>2</sub> и G<sub>i</sub>, соответственно, являются вторичными мессенджерами в передаче этого сигнала. Эти рецепторы известны своей центральной ролью в активации и агрегации тромбоцитов [5, 23].

Активация тромбоцитов вызывает выделение веществ из плотных гранул через экзоцитоз с участием Rab-белков. Среди высвобождаемых компонентов – АДФ, активирующий соседние тромбоциты вышеуказанным способом, АТФ, неорганический полифосфат, пирогосфат, серотонин и кальций.

Активированные тромбоциты также высвобождают свои  $\alpha$ -гранулы, содержащие биологически активные вещества, такие как хемокиновый лиганд 5 (CCL5 или RANTES), тромбин, TGF $\beta$ , PDGF и VEGF, HTF-4, ТФ, инсулиноподобный фактор роста, FGF, хемокин подсемейства CXC или стромальный фактор роста (CXCL12 или stromal cell-derived factor-1 (SDF-1), лиганд CD40 и EGF [3, 5, 24, 25]. Секретируемые тромбоцитами факторы индуцируют и повышают активность фибробластов, оказывают хемотаксическое действие сначала на нейтрофилы, а затем на макрофаги, что, в конечном счете, приводит

к удалению погибших клеток и клеточного мусора [26]. Более того, тромбоциты синтезируют и секретируют факторы, индуцирующие и регулирующие пролиферацию и миграцию других типов клеток, таких как гладкомышечные клетки (SMCs) [27] и мезенхимальные стволовые клетки (MSCs) [28].

Пролиферация клеток и процесс ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса особенно важны на ранних стадиях регенерации. Модулятором этого ответа является сигнальный путь TGF $\beta$  во всех белках Smads. Ингибирование этого пути с помощью антагониста TGF $\beta$  SB-431542 приводит к снижению клеточной пролиферации и препятствует регенерации [29]. Так, у мышей с дефицитом TGF- $\beta$ 3 наблюдается ингибирование тканевого ингибитора металлопротеиназы 2 и матриксной металлопротеиназы 13 или коллагеназы-3 [30]. Этот фермент проявляет очень высокую деградирующую активность в отношении коллагенов I, II, III, IV и XIV типов в ходе эндохондрального и внутримембранного остеогенеза. В фибробластах человека показано, что добавление TGF- $\beta$ 1 приводит к увеличению уровней мРНК и матриксной металлопротеиназы 2 и снижению уровня мРНК коллагеназы [31]. TGF- $\beta$ 1 также регулирует синтез TIMPs, которые ингибируют матриксные металлопротеиназы через митоген-активированный путь [32].

Активированные тромбоциты запускают процессы рекрутирования, адгезии и пролиферации стволовых клеток взрослого организма, в том числе CD34-положительных клеток-предшественников [33], MSCs [28], SMSs [27, 34] и предшественников эндотелиоцитов [35]. В качестве своеобразных «маячков миграции» клеток-предшественников в месте повреждения выступают стромальный фактор роста (stromal cell-derived factor-1, SDF-1) [36] и инсулиноподобный фактор роста IGF-1 [37], выделяющиеся в том числе и тромбоцитами.

Активированные тромбоциты образуют экстраклеточные везикулы путем выделения плазматической мембраны – тромбоцитарные экстраклеточные везикулы (ТЭВ), через которые осуществляются межклеточные коммуникации с лейкоцитами. Хотя ТЭВ могут вырабатываться и у здоровых лиц, но повышенный их уровень выявляется при повреждениях. Была показана способность ТЭВ связываться с гранулоцитами, лимфоцитами и моноцитами с образованием лейкоцитарно-везикулярных комплексов [38–40].

Тромбоциты участвуют в регуляции апоптоза и взаимодействии регенерирующих клеток [41]. Они секретируют как проапоптотические, так и антиапоптотические клетки. Проапоптотические: Fas-L [42], CD40L [43], лиганд, вызывающий апоптоз [44],

TNF-подобный слабый индуктор апоптоза [45], фактор некроза опухоли надсемейства элемента 14 [46]. Антиапоптотические: HGF [47], SDF-1 [22], серотонин [27, 48], аденозиндифосфат [27] и сфингозин-1-фосфат [49]. Кроме того, микрочастицы, полученные из тромбоцитов, могут регулировать апоптоз в эндотелиальных клетках и SMCs, а также передают сигналы выживания моноцитам, эндотелиальным и нейрональным стволовым клеткам. В селезенке и легких в качестве медитатора тромбоцит-индуцированного апоптоза выступает гранзим В. Амфотерин, который экспортируется в клеточной поверхности тромбоцитов при их активации, также регулирует апоптоз, равно как и аутофагию (аутофагоцитоз) опухолевых клеток, зависящую от окислительно-восстановительных процессов (редокс статуса). Таким образом, тромбоциты регулируют сложный комплекс механизмов восстановления тканей [50].

Наряду с ремоделированием матрикса, пролиферацией и дифференцировкой специфических клеток в воспроизведении структуры поврежденной ткани существенную роль играет восстановление микроциркуляции и иннервации. Накапливается все больше данных о том, что тромбоциты являются необходимым условием для ангиогенеза при заживлении ран/регенерации тканей [51, 52]. В местах агрегации тромбоцитов начинается регенерация поврежденной интимы сосудов [53].

Инъекция в ишемизированную заднюю конечность крысы собственных тромбоцитов и лейкоцитов инициирует в ней ангиогенез [54]. Отмечается значительное снижение неоваскуляризации при уменьшении числа тромбоцитов *in vivo* [55, 56].

Тромбоциты секретируют разные промоторы ангиогенеза, такие как сосудистый эндотелиальный фактор роста, основной фактор роста фибробластов (bFGF), эпидермальный фактор роста и производные тромбоцитов – факторы роста или ангиопоэтин-1 [57].

VEGF – очень мощный ангиогенный фактор [58, 59]. Изменения пролиферативной активности эндотелия и апоптоз эндотелиоцитов обусловлены выделением тромбоцитами VEGF и эндостатина [7]. Разновидности VEGF-C и VEGF содержатся в  $\alpha$ -гранулах кровяных пластинок и освобождаются при активации тромбоцитов [60]. Тромбоциты не только синтезируют VEGF, но и выступают в качестве переносчика этого фактора из других источников его образования [60].

В тромбоцитах и мегакариocyтах обнаружен ангиопоэтин-1, который обеспечивает стабилизацию пролиферирующих эндотелиальных клеток и сосудов в васкуляризованных тканях (в тканях с выраженной сосудистой сетью), но отсутствует в дан-

ных клетках бессосудистых зон [61]. Ангиопоэтин-1 высвобождается из тромбоцитов после их активации, например тромбином [61].

Перераспределение эндогенных факторов роста из цитоплазмы у интактных тромбоцитов на периферию в филоподию и ламиноподию в активированных тромбоцитах может быть связано, по крайней мере частично, с регуляцией ангиогенеза [62, 63]. Помимо стимуляторов ангиогенеза тромбоциты выделяют ряд его ингибиторов, таких как ангиостатин, эндостатин, тромбоцитарный фактор (ТФ) 4 или тромбоспондин 1. В качестве примера образуемого тромбоцитами ингибитора ангиогенеза приводят ангиостатин, освобождающийся в процессе агрегации кровяных пластинок [64].

Эндостатин специфически ингибирует пролиферацию эндотелиальных клеток и мощно подавляет ангиогенез и рост опухоли [65]. ТФ-4 был первым гемостатическим белком, для которого показан ингибирующий ангиогенез эффект *in vivo* [66]. По крайней мере, частично антиангиогенная активность ТФ-4 обусловлена интерференцией с FGF-2, вызывающим торможение его димеризации в результате взаимодействия с FGF-рецептором и интернализации.

Тромбоспондин тромбоцитов также является ингибитором ангиогенеза; он дестабилизирует локальные контакты эндотелиальных клеток и тормозит пролиферацию последних [67]. Кроме того, тромбоспондины, мегакариоциты и тромбоциты выступают в качестве основных антиангиогенных переключателей и определяют степень реваскуляризации в естественных условиях [68].

Интересно, что при этом для тромбоцит-индуцируемого ангиогенеза требуется физическое присутствие тромбоцитов, потому что их секрет (супернатант) в одиночку заметного эффекта на формирование трубки *in vitro* не оказывает [69]. Таким образом, клеточно-клеточное взаимодействие между тромбоцитами и эндотелиальными клетками, по всей видимости, играет важную роль в неоваскуляризации. В другом исследовании добавление тромбоцитов в раствор метрогила для инфузий перед инъекцией животным индуцирует у них дозозависимый ангиогенез [70].

Для инициации процесса ангиогенеза требуется дестабилизация – ослабление межклеточных контактов между эндотелиальными клетками, разрушение базальной мембраны. Также необходим локальный протеолиз матриксных протеинов для того, чтобы эндотелиальные клетки или их предшественники из циркулирующей крови могли мигрировать и формировать новые сосуды [71, 72].

В качестве ключевого регулятора ремоделиро-

вания в стенке сосудов после механического повреждения чаще всего рассматривается урокиназа [73]. Активированные тромбоциты высвобождают нейротрансмиттеры, серотонин, дофамин, гистамин и глутамат, а также могут изменять активность нейрональных клеток [74]. Присутствие тромбоцитов в зоне повреждения нервной системы ускоряет восстановление функции, усиливает не только ангиогенез, но и регенерацию нейронов [75].

На мелких экспериментальных животных показано, что присоединение центрального и периферического отделов перерезанного нерва коллагеновой трубкой, заполненной БоТП, индуцирует регенерацию аксона. Таким образом, удается восполнить дефект седалищного нерва крысы длиной до 1 см [76–79]. При этом формируется более толстая миелиновая оболочка, возрастает скорость регенерации, и восстановление идет на большее расстояние [10]. Для того чтобы фибрин БоТП способствовал большему количеству нейронов регенерировать на большее расстояние, он должен связываться и взаимодействовать с нейротрофическими клетками. В этом взаимодействии важное место отводится таким факторам, как фактор роста нервов, нейротрофический фактор головного мозга, глиальный нейротрофический фактор, нейтрофин 3, PDGF [80–85]. Эти факторы, в свою очередь, связанные с тромбоцитами и мезенхимальными клетками, трансформируют фибрин матрикса к тому, что он активно способствует регенерации аксонов [86].

Отмеченный феномен был показан при перерезке лицевого нерва у морской свинки [87], лицевого нерва [76], седалищного нерва [77, 88–90], кавернозного нерва крысы [87, 91].

Общепризнано, что макрофаги являются важным звеном в процессе регенерации, играя роль координатора действий, направленных на восстановление исходной структуры ткани или рубцевание. В зоне повреждения макрофаги выступают в качестве источника провоспалительных цитокинов – интерлейкина (IL) 1, IL-6 и фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF). Они отвечают за контроль адгезии и миграции воспалительных клеток, а также пролиферации фибробластов и кератиноцитов [3].

Истощение макрофагов у аксолотля с помощью инъекции инкапсулированных клондронатом липосом приводит к нарушению регенерации ампутированной конечности [92]. Клондронат не способен проникать через клеточную мембрану. Однако, находясь в липосомах, он фагоцитируется макрофагами. Этот препарат метаболизируется макрофагами *in vitro* до аденозин-5-[В,γ-дихлорметил]трифосфата (AppCCl2p). AppCCl2p (аналог АТФ), ингибируя ми-

тохондриальную электрогенную транслоказу АДФ/АТФ, вызывает деполяризацию митохондриальной мембраны и последующие события, такие как высвобождение цитохрома с и активация каспазы, что приводит к специфическому апоптозу макрофагов [93]. Поэтому можно смело говорить о взаимосвязи между недостаточностью регенерации конечностей и истощением макрофагов в данном эксперименте.

Селективное истощение макрофагов с помощью клондроната при моделировании инфаркта миокарда приводит к серьезному нарушению архитектуры миокарда, увеличению отложения коллагена и увеличению смертности у мышей [94, 95].

Использование трансгенной мыши (линия мышей *lysM-Cre/DTR*), содержащей чувствительные к дифтерийному токсину (DTox) макрофаги, показало замедленное заживление ран с сильным нарушением морфологии [96]. Это связано со снижением экспрессии TGF- $\beta$ 1, дисрегулируемым паттерном VEGF и почти полной потерей сокращения раны при отсутствии дифференцировки миофибробластов. Истощение макрофагов было обнаружено снижением экспрессии мРНК *Emr-1* (EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1) и лизоцима макрофагов, которая представляет собой макрофаг-специфический маркер F4/80.

Все вышеперечисленные исследования говорят о том, что макрофаги играют значительную роль в процессе регенерации. Без этих клеток регенерация заканчивается неудачно, образуется гипертрофический рубец или незаживающая рана.

Популяцию макрофагов можно разделить на два функциональных фенотипа. Они названы классически активированными (M1) и альтернативно активированными (M2) макрофагами [3]. M1 активируются в ответ на повреждение липополисахаридов, TNF $\alpha$  и интерферона (INF)  $\gamma$  [97]. Эти лиганды действуют на макрофаги через LPS/INF- $\gamma$  или TLR-2, -3, -4 и -9, вызывают высвобождение IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , опосредованное сигнальными факторами NF- $\kappa$ B, STAT1, IRF5, AP-1 [98]. Эти цитокины усиливают воспалительные и антимикробные реакции [3, 99, 100].

IL-4 и IL-13 (M2a), запускающие рецепторы Fc $\gamma$  в присутствии стимула Toll-рецептора (M2b) или IL-10 (M2c), могут стимулировать макрофаги дифференцироваться в M2-макрофаги [97, 98]. Эти три фенотипа макрофагов не активируются, например M1, и проявляют свойства, отличные от них.

В месте повреждения макрофаги M1 и M2a присутствуют вместе. Макрофаги, мигрирующие в рану на 1-е сут после травмы, в основном (85%) демонстрируют фенотип M1 [101], но уже на 5-е сут фенотип M2 является доминирующей популяцией ма-

крофагов в ране [98]. По сравнению с аксолотлем у млекопитающего наблюдается увеличение провоспалительных цитокинов над противовоспалительными после травмы [92], что может быть ключевой причиной снижения регенеративных свойств тканей млекопитающих.

Активация как Toll-подобных, так и Fc $\gamma$ -рецепторов в макрофагах приводит их к фенотипу M2b. Фенотип M2b по сравнению с M2a продуцирует гораздо более высокие уровни IL-10 и продуцирует провоспалительные цитокины TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6 [97]. Во время более поздней пролиферативной фазы M2b-опосредованное высвобождение IL-10, вероятно, стимулирует активацию макрофагов M2c [98]. IL-10 ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов, таких как TNF $\alpha$ , IL-6, IL-12, и презентацию антигена макрофагами через пониженную регуляцию МНС II [97]. Активация сигнального пути STAT3 приводит к высвобождению TGF $\beta$ .

Поскольку тромбоциты и макрофаги занимают центральное место в регенерации, то особое значение приобретают механизмы взаимодействия этих клеток в динамике процесса восстановления поврежденной ткани. Тромбоциты и макрофаги при регенерации взаимодействуют друг с другом как непосредственно, так и опосредованно через другие клетки (например, эндотелиальные), оказывая реципрокный эффект. Тромбоциты и тромбоцитарные факторы (медиаторы) активируют и модулируют апоптоз моноцитов, а фагоцитоз тромбоцитов является ключевым в про- и противовоспалительных процессах [102].

При непосредственном взаимодействии активированных тромбоцитов с моноцитами крови образуются комплексы моноцитов с тромбоцитами. Агрегаты тромбоцитов с моноцитами формируются легче (т.е. при более низких концентрациях агонистов тромбоцитов), быстрее и более стабильны, нежели тромбоциты-нейтрофилы, тромбоциты-лимфоциты [103]. Сиалидазная обработка тромбоцитов приводит к повышению их связывания гомологичными перитонеальными макрофагами, но не влияет на скорость фагоцитоза. Взаимодействие тромбоцитов и макрофагов опосредуется галактозоспецифическим рецептором на поверхности макрофагов [104].

Инфекционно-индуцированный тромбоцитоз — клинически значимое осложнение туберкулеза, сопровождающееся нарушением иммунитета. Ингибирование тромбоцитов аспирином или лечение ингибиторами тромбоцитоспецифического рецептора — гликопротеина IIb/IIIa приводит к снижению тромбоцитарно-макрофагальных взаимодействий и восстановлению макрофагально-опосредованного иммунитета к микробактериальной инфекции [105].

При взаимодействии с активированными тромбоцитами через PSGL-1/P-селектин, а также при связывании продуктов активированных тромбоцитов [RANTES, IL-1 $\beta$  и PAF) в моноцитах индуцируются NF- $\kappa$ B-зависимые воспалительные гены [106]. Связывание PSGL-1 приводит к активации MAP-киназного пути и mTOR-пути [106]. Сигнал, запускаемый в моноцитах при контактном взаимодействии с тромбоцитами и связывании эндогенного IL-1, индуцирует экспрессию циклооксигеназы 2 и образование зависимого от нее простагландина E2 [106]. Последний, в свою очередь, снижает активность тромбоцитов [107, 108].

При контакте с тромбоцитами моноциты приобретают воспалительный фенотип и повышают аффинность адгезии к эндотелию [109, 110]. Тромбоциты же захватываются моноцитами и макрофагами, что вызывает увеличение выхода цитокинов из моноцитов [111]. Таким образом, активированные тромбоциты влияют на выживаемость и дифференцировку моноцитов, после чего комплексы моноцитов с активированными тромбоцитами распадаются [112].

Тромбоцитарно-макрофагальная коммуникация осуществляется и через ТЭВ, которые после связывания с моноцитом и образования моноцитарно-тромбоцитарного комплекса поглощаются последним в течение 30–60 мин [109]. Таким образом ТЭВ способны доставлять, в частности хемокин RANTES (CCL5), моноцитам и эндотелиальным клеткам, способствуя привлечению моноцитов в субэндотелий [113].

CCL5 является одним из наиболее важных хемотактантов моноцитов, высвобождаемых тромбоцитами после травмы. CCL5 взаимодействует с поверхностью эндотелия в присутствии цитокина IL-1 $\beta$  и действует как связанный с клетками сигнал для адгезии моноцитов и их миграции через сосудистый эндотелий. IL-1 $\beta$  также высвобождается из тромбоцитов [5].

RANTES также секретируется эндотелиальными клетками под влиянием INF $\gamma$  и фактора некроза опухоли TNF $\alpha$  [114]. TGF $\beta$  не только стимулирует активацию макрофагов M2c, но и сам подтип M2c является важным источником TGF $\beta$ , который способствует многим аспектам заживления ран: воспалению, хемотаксису, уменьшению раны, ангиогенезу и отложению ECM [3].

Воздействие активированных тромбоцитов с моноцитами вызывает усиление экспрессии ими тканевого фактора, связывание с фактором коагуляции X<sup>a</sup> и фибриногеном. Образующийся тромбин вызывает не только агрегацию и активацию тромбоцитов, но и активацию моноцитов, направляя их к усилению адгезии и продукции хемокинов CCL2, RANTES

[115, 116]. Связывание тромбоцитарного цитокина CXCL13 с рецептором CXCR5 на моноцитах приводит к ингибированию продукции TNF $\alpha$  и IL-6 [117].

Тромбоциты выбрасывают микрочастицы не только при активации, но и при старении в результате апоптозоподобного процесса (апоптоз-индуцированные микрочастицы тромбоцитов). При продолжительной инкубации с моноцитами они способствуют дифференцировке клеток, но подавляют их пролиферацию. Анализ мембранных рецепторов моноцитов демонстрирует повышенные уровни экспрессии CD11b (интегрин  $\alpha$ Mb2), CD14 и CD31 (молекула адгезии тромбоцитарных эндотелиальных клеток 1), а также хемокиновые рецепторы CCR5 и CXCR4, но не CCR2, а значит апоптоз-индуцированные микрочастицы тромбоцитов поляризуют клетки в направлении резидентных M2. Клетки, обработанные апоптоз-индуцированными микрочастицами тромбоцитов, активно потребляют окисленный липопротеин низкой плотности и высвобождают матриксные металлопротеиназы и перекись водорода. Еще одним подтверждением дифференцировки в направлении резидентных профессиональных фагоцитов служит то, что частицы стимулируют экспрессию рецепторов липопротеидов низкой плотности, CD36 и CD68, а также выработку моноцитами провоспалительных и иммуномодулирующих цитокинов [118].

Таким образом, не вызывает сомнения, что в процессах репаративной регенерации одно из ведущих мест занимают тромбоциты, принимающие участие в ее регуляции на всех этапах процесса восстановления структуры поврежденной ткани. Расшифровка же конкретных механизмов их репаративной функции позволит разработать новые эффективные методы целенаправленного влияния на заживление ран.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Черешнев В.А., Юшков Б.Г., Климин В.Г., Буторина Е.В. Тромбоцитопоз. М.: ОАО «Издательство Медицина», 2007: 272.
2. Simpson D.M., Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *The Journal of Clinical Investigation*. 1972; 51 (8): 2009–2023. DOI: 10.1172/JCI107007.
3. Delavary B.M., van der Veer W.M., van Egmond M., Niesen F.B. Beelen R.H.J. Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology*. 2011; 216 (7): 753–762. DOI: 10.1016/j.imbio.2011.01.001.
4. Martin P., Leibovich S.J. Inflammatory cells during wound repair: The good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*. 2005; 15 (11): 599–607. DOI: 10.1016/j.tcb.2005.09.002.

5. Nurden A. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb. Haemost.* 2011; 105 (1): 13–33. DOI: 10.1160/THS10-11-0720.
6. Thushara R.M., Hemshekhar M., Basappa Kemparaju K., Rangappa K.S., Girish K.S. Biologicals, platelet apoptosis and human diseases: An outlook. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2015; 93 (3): 149–158. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2014.11.002.
7. Ma L., Elliott S.N., Cirino G., Buret A., Ignarro L.J., Wallace J.L. Platelets modulate gastric ulcer healing: Role of endostatin and vascular endothelial growth factor release. *PNAS.* 2001; 98 (11): 6470–6475. DOI: 10.1073/pnas.111150798.
8. Su C.Y., Kuo Y.P., Nieh H.L., Tseng Y.H., Burnouf T. Quantitative assessment of the kinetics of growth factors release from platelet gel. *Transfusion.* 2008; 48 (11): 2414. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.01862.x.
9. Peterson J.E., Zurakowski D., Italiano J.E., Michel L.V., Fox L., Klement G.L., Folkman J. Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets. *Am. J. Hematol.* 2010; 85 (7): 487. DOI: 10.1002/ajh.21732.
10. Kuffler D.P. Platelet-rich plasma promotes axon regeneration, wound healing and pain reduction: Fact or fiction. *Mol. Neurobiol.* 2015; 52 (2): 990–1014. DOI: 10.1007/s12035-015-9251-x.
11. Kakudo N., Morimoto N., Kushida S., Ogawa T., Kusumoto K. Platelet-rich plasma releasate promotes angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Med. Mol. Morphol.* 2014; 47 (2): 83–89. DOI: 10.1007/s00795-013-0045-9.
12. Lacci K.M., Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. *Yale J. Biol. Med.* 2010; 83 (1): 1–9.
13. Flaumenhaft R., Sharda A. Platelet secretion. Platelets. Academic Press, 2019: 349–370. DOI: 10.1016/B978-0-12-813456-6.00019-9.
14. Meyer J., Lejmi E., Fontana P., Morel P., Gonelle-Gispert C., Bühler L. A focus on the role of platelets in liver regeneration: Do platelet-endothelial cell interactions initiate the regenerative process? *Journal of Hepatology.* 2015; 63 (5): 1263–1271. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.07.002.
15. Rainys D., Samulėnas G., Kievišas M., Pilipaitytė L., Rimdeika R. Platelet biology and the rationale of PRP therapy in chronic wounds. *Eur. J. Plast. Surg.* 2017; 40 (2): 87–96. DOI: 10.1007/s00238-017-1279-x.
16. Flaumenhaft R. Platelet secretion. In: Platelets; Michelson A.D. (ed.); 3rd ed. Academic Press. Oxford, 2013: 343–366. DOI: 10.1016/B978-0-12-813456-6.00019-9.
17. Rendu F., Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: ranules' constituents, secretion and functions. *Platelets.* 2001; 12 (5): 261–273. DOI: 10.1080/09537100120068170.
18. Cheng Y., Austin S.C., Rocca B., Beverly H., Koller B.H., Coffman T.M., Grosser T., Lawson J.A., Fitz Gerald G.A. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A<sub>2</sub>. *Science.* 2002; 296 (5567): 539–554. DOI: 10.1126/science.1068711.
19. Zhang O., Peyruchaud O., French K.J., Magnusson M.K., Mosher D.F. Sphingosine 1-phosphate stimulates fibronectin matrix assembly through a rho-dependent signal pathway. *Blood.* 1999; 93 (9): 2984–2990.
20. Weyrich A.S., Prescott S.M., Zimmerman G.A. Platelets, endothelial cells, inflammatory chemokines, and restenosis: complex signaling in the vascular play book. *Circulation.* 2002; 106 (12): 1433–1435. DOI: 10.1161/01.cir.0000033634.60453.22.
21. Stellos K., Langer H., Daub K., Schoenberger T., Gauss A., Geisler T., Bigalke B., Mueller I., Schumm M., Schaefer I., Seizer P., Kraemer B.F., Siegel-Axel D., May A.E., Lindemann S., Gawaz M. Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34<sup>+</sup> cells to endothelial progenitor cells. *Home Circulation.* 2008; 117 (2): 206–215. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.714691.
22. Stellos K., Kopf S., Paul A., Marquardt J., Gawaz M., Huard J., Langer H. Platelets in regeneration. Seminars in thrombosis and hemostasis. *Thieme Medical Publishers.* 2010; 36 (02): 175–184. DOI: 10.1055/s-0030-1251502.
23. Gong T., Liu L., Jiang W., Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 2020; 20 (2): 95–112. DOI: 10.1038/s41577-019-0215-7.
24. Petersen F., Brandt E. Platelet-derived chemokines in vascular biology. *Thromb. Haemost.* 2007; 97 (5): 704–713. DOI: 10.1160/th07-01-0066.
25. Stellos K., Sebastian Kopf S., Paul A., Marquardt J.U., Gawaz M., Huard J., Langer H.F. Platelets in regeneration. Seminars in thrombosis and hemostasis. *Thieme Medical Publishers.* 2010; 36 (02): 175–184. DOI: 10.1055/s-0030-1251502.
26. Gurtner G.C., Werner S., Barrandon Y., Longaker M.T. Wound repair and regeneration. *Nature.* 2008; 453 (7193): 314–321. DOI: 10.1038/nature07039.
27. Crowley S.T., Dempsey E.C., Horwitz K.B., Horwitz L.D. Platelet-induced vascular smooth muscle cell proliferation is modulated by the growth amplification factors serotonin and adenosine diphosphate. *Circulation.* 1994; 90 (4): 1908–1918. DOI: 10.1161/01.cir.90.4.1908.
28. Langer H.F., Stellos K., Steingen C. et al. Platelet derived bFGF mediates vascular integrative mechanisms of mesenchymal stem cells *in vitro*. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2009; 47 (2): 315–325. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.03.011.
29. Denis J.F., Sader F., Gatien S., Villiard E., Anie Philip A., Roy S.. Activation of Smad2 but not Smad3 is required to mediate TGF- $\beta$  signaling during axolotl limb regeneration. *Development.* 2016; 143 (19): 3481–3490. DOI: 10.1242/dev.131466.
30. Blavie L., Lazaryev A., Groffen J., Heisterkamp N., DeClerck Y.A., Kaartinen V. TGF- $\beta$ 3-induced palatogenesis requires matrix metalloproteinases. *Molecular Biology of the Cell.* 2001; 12 (5): 1457–1466. DOI: 10.1091/mbc.12.5.1457.
31. Overall C.M., Wrana J.L., Sodek J. Transcriptional and post-transcriptional regulation of 72-kDa gelatinase - type IV collagenase by transforming growth factor-beta 1 in human fibroblasts comparisons with collagenase and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase gene expression. *J. Biol. Chem.* 1991; 266 (21): 14064–14071.
32. Chen Y., Zhang W., Geng N., Tian K., Windsor L.J. MMPs, TIMP-2, and TGF- $\beta$ 1 in the cancerization of oral lichen planus. *Head Neck.* 2008; 30 (9): 1237–1245. DOI: 10.1002/hed.20869.
33. De Boer H.C., Verseyden C., Ulfman L.H., Zwaginga J.J., Bot I., Biessen E.A., Rabelink T.J., van Zonneveld A.J. Fibrin

- and activated platelets cooperatively guide stem cells to a vascular injury and promote differentiation towards an endothelial cell phenotype. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26 (7): 1653–1659. DOI: 10.1161/01.ATV.0000222982.55731.fl.
34. Zernecke A., Schober A., Bot I., von Hundelshausen P., Liehn E.A., Möpps B., Mericskay M., Gierschik P., Biessen E.A., Weber C. SDF-1alpha/ CXCR4 axis is instrumental in neointimal hyperplasia and recruitment of smooth muscle progenitor cells. *Circ. Res.* 2005; 96 (7): 784–791. DOI: 10.1161/01.RES.0000162100.52009.38.
  35. Lev E.I., Estrov Z., Aboulfatova K., Harris D., Granada J.F., Alviar C., Kleiman N.S., Dong J.F. Potential role of activated platelets in homing of human endothelial progenitor cells to sub-endothelial matrix. *Thromb. Haemost.* 2006; 96 (4): 498–504.
  36. Askari A.T., Unzek S., Popovic Z.B., Goldman C.K., Forudi F., Kiedrowski M., Rovner A., Ellis S.G., Thomas J.D., Di Corleto P.E., Topol E.J., Penn, M.S. Effect of stromal-cell-derived factor-1 on stem cell homing and tissue regeneration in ischemic cardiomyopathy. *Lancet.* 2003; 362 (9385): 697–703. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)14232-8.
  37. Li Y., Yu X.Y., Lin S.G., Li X.H., Zhang S., Song Y.-H. Insulin-like growth factor 1 enhances the migratory capacity of mesenchymal stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 356 (3): 780–784. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.03.049.
  38. Loyer X., Vion A.C., Tedgui A., Boulanger C.M. Microvesicles as cell–cell messengers in cardiovascular diseases. *Circulation Research.* 2014; 114 (2): 345–353. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.113.300858.
  39. Raposo G., Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles and friends. *J. Cell Biol.* 2013; 200 (4): 373–383. DOI: 10.1083/jcb.201211138.
  40. Forlow S.B., McEver R.P., Nollert M.U. Leukocyte-leukocyte interactions mediated by platelet microparticles under flow. *Blood.* 2000; 95 (4): 1317–1323. DOI: 10.1182/blood.V95.4.1317.004k30\_1317\_1323.
  41. Gawaz M., Vogel S. Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Blood.* 2013; 122 (15): 2550–2554. DOI: 10.1182/кровь-2013-05-468694.
  42. Ahmad R., Menezes J., Knafo L., Ahmad A. Activated human platelets express Fas-L and induce apoptosis in Fas-positive tumor cells. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 69 (1): 123–128.
  43. André P., Nannizzi-Alaimo L., Prasad S.K., Phillips D.R. Platelet-derived CD40L: the switch-hitting player of cardiovascular disease. *Circulation.* 2002; 106 (8): 896–899. DOI: 10.1161/01.cir.0000028962.04520.01.
  44. Crist S.A., Elzey B.D., Ludwig A.T., Griffith T.S., Staack J.B., Lentz S.R., Ratliff T.L. Expression of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in megakaryocytes and platelets. *Exp. Hematol.* 2004; 32 (11): 1073–1081. DOI: 10.1016/j.exphem.2004.07.022.
  45. Meyer T., Amaya M., Desai H., Robles-Carrillo L., Hatfield M., Francis J.L., Amirkhosravi A. Human platelets contain and release TWEAK. *Platelets.* 2010; 21 (7): 571–574. DOI: 10.3109/09537104.2010.512403.
  46. Otterdal K., Smith C., Oie E., Pedersen T.M., Yndestad A., Stang E., Endresen K., Solum N.O., Aukrust P., Damås J.K. Platelet-derived LIGHT induces inflammatory responses in endothelial cells and monocytes. *Blood.* 2006; 108 (3): 928–935. DOI: 10.1182/кровь-2005-09-010629.
  47. Nakamura T., Teramoto H., Ichihara A. Purification and characterization of a growth factor from rat platelets for mature parenchymal hepatocytes in primary cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1986; 83 (17): 6489–6493. DOI: 10.1073/pnas.83.17.6489.
  48. Pakala R., Willerson J.T., Benedict C.R. Mitogenic effect of serotonin on vascular endothelial cells. *Circulation.* 1994; 90 (4): 1919–1926. DOI: 10.1161/01.cir.90.4.1919.
  49. Hisano N., Yatomi Y., Satoh K., Akimoto S., Mitsumata M., Fujino M.A., Ozaki Y. Induction and suppression of endothelial cell apoptosis by sphingolipids: a possible *in vitro* model for cell-cell interactions between platelets and endothelial cells. *Blood.* 1999; 93 (12): 4293–4299.
  50. Юшков Б.Г., Климин В.Г., Ткаченко А.Е., Дугина Е.А. Структурный гомеостаз. М.: Комментарий, 2019: 200.
  51. Blair P., Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.* 2009; 23 (4): 177–189. DOI: 10.1016/j.blre.2009.04.001.
  52. Langer H.F., Gawaz M. Platelets in regenerative medicine. *Basic Res. Cardiol.* 2008; 103 (4): 299–307. DOI: 10.1007/s00395-008-0721-4.
  53. Maloney J.P., Silliman C.C., Ambruso D.R., Wang J., Tudor R.M., Voelkel N.F. In vitro release of vascular endothelial growth factor during platelet aggregation. *Am. J. Physiol.* 1998; 275 (3 Pt 2): 1054–1061. DOI: 10.1152/ajpheart.1998.275.3.H1054.
  54. Kobayashi T., Hamano K., Li T.S., Nishida M., Ikenaga S., Hirata K., Zempo N., Esato K. Angiogenesis induced by the injection of peripheral leukocytes and platelets. *J. Surg. Res.* 2002; 103 (2): 279–286. DOI: 10.1006/jsre.2001.6309.
  55. Kisucka J., Butterfield C.E., Duda D.G., Eichenberger S.C., Saffaripour S., Ware J., Ruggeri Z.M., Jain R.K., Folkman J., Wagner D.D. Platelets and platelet adhesion support angiogenesis while preventing excessive hemorrhage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103 (4): 855–860. DOI: 10.1073/pnas.0510412103.
  56. Rhee J.S., Black M., Schubert U., Fischer S., Morgenstern E., Hammes H.P., Preissner K.T. The functional role of blood platelet components in angiogenesis. *Thromb. Haemost.* 2004; 92 (2): 394–402. DOI: 10.1160/TH03-04-0213.
  57. Martínez C.E., Smith P.C., Alvarado V.A.P. The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update. *Front. Physiol.* 2015; 6: 290. DOI: 10.3389/fphys.2015.00290.
  58. Banks R.E., Forbes M.A., Kinsey S.E., Stanley A., Ingham E., Walters C., Selby P.J. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br. J. Cancer.* 1998; 77 (6): 956–964. DOI: 10.1038/bjc.1998.158.
  59. Wartiovaara U., Salven P., Mikkola H., Lassila R., Kaukonen J., Joukov V., Orpana A., Ristimäki A., Heikinheimo M., Joensuu H., Alitalo K., Palotie A. Peripheral blood platelets express VEGF-C and VEGF which are released during platelet activation. *Thromb. Haemost.* 1998; 80 (1): 171–175.
  60. Verheul H.M., Hoekman K., Luyckx-de Bakker S., Eekman C.A., Folman C.C., Broxterman H.J., Pinedo H.M. Platelet: trans-

- porter of vascular endothelial growth factor. *Clin. Cancer Res.* 1997; 3(12 Pt 1): 2187–2190.
61. Li J.J., Huang Y.Q., Basch R., Karparkin S. Thrombin induces the release of angiopoietin-1 from platelets. *Thromb. Haemost.* 2001; 85 (2): 204–206.
  62. Italiano J.E., Richardson J.L., Patel-Hett S., Battinelli E., Zaslavsky A., Short S., Ryeom S., Folkman J., Klement G.L. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood.* 2008; 111 (3): 1227–1233. DOI: 10.1182/blood-2007-09-113837.
  63. Klement G.L., Yip T.T., Cassiola F., Kikuchi L., Cervi D., Podust V., Italiano J.E., Wheatley E., Abou-Slaybi A., Bender E., Almog N., Kieran M.W., Folkman J. Platelets actively sequester angiogenesis regulators. *Blood.* 2009; 113 (12): 2835–2842. DOI: 10.1182/blood-2008-06-159541.
  64. Jurasz P., Alonso D., Castro-Blanco S., Murad F., Radomski M.W. Generation and role of angiostatin in human platelets. *Blood.* 2003; 102 (9): 3217–3223. DOI: 10.1182/кровь-2003-02-0378.
  65. O'Reilly M.S., Boehm T., Shing Y., Fukai N., Vasios G., Lane W.S., Flynn E., Birkhead J.R., Olsen B.R., Folkman J. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell.* 1997; 88 (2): 277–285. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81848-6.
  66. Maione T.E., Gray G.S., Petro J., Hunt A.J., Donner A.L., Bauer S.I., Carson H.F., Sharpe R.J. Inhibition of angiogenesis by recombinant human platelet factor-4 and related peptides. *Science.* 1990; 247 (4938): 77–79. DOI: 10.1126/science.1688470.
  67. Iruela-Arispe M.L., Bornstein P., Sage H. Thrombospondin exerts an antiangiogenic effect on cord formation by endothelial cells *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991; 88 (11): 5026–5030. DOI: 10.1073/pnas.88.11.5026.
  68. Kopp H.G., Hooper A.T., Broekman M.J., Avecilla S.T., Petit I., Luo M., Milde T., Ramos C.A., Zhang F., Kopp T., Bornstein P., Jin D.K., Marcus A.J., Rafii S. Thrombospondins deployed by thrombopoietic cells determine angiogenic switch and extent of revascularization. *J. Clin. Invest.* 2006; 116 (12): 3277–3791. DOI: 10.1172/JCI29314.
  69. Pipili-Synetos E., Papadimitriou E., Maragoudakis M.E. Evidence that platelets promote tube formation by endothelial cells on matrigel. *Br. J. Pharmacol.* 1998; 125 (6): 1252–1257. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702191.
  70. Brill A., Dashevsky O., Rivo J., Gozal Y., Varon D. Platelet-derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization. *Cardiovasc Res.* 2005; 67 (1): 30–38. DOI: 10.1016/j.cardiores.2005.04.007.
  71. Lamallice L., Le Boeuf F., Huot J. Endothelial cell migration during angiogenesis. *Circ. Res.* 2007; 100 (6): 782–794. DOI: 10.1161/01.RES.0000259593.07661.1 e.
  72. Van Weel V., van Tongeren R.B., van Hinsbergh V.W., van Bockel J.H., Quax P.H. Vascular growth in ischemic limbs: a review of mechanisms and possible therapeutic stimulation. *Ann. Vasc. Surg.* 2008; 22 (4): 582–597. DOI: 10.1016/j.avsg.2008.02.017.
  73. Ткачук В.А., Плеханова О.С., Белоглазова И.Б., Парфенова Е.В. Роль мультимолекулярной структуры урокиназы в регуляции роста и ремоделирования сосудов. *Укр. биохим. журн.* 2013; 85 (6): 18–45.
  74. Духинова М.С., Пономарев Е.Д. Роль тромбоцитов в нейровоспалительных заболеваниях. Обзор. *Вестн. Моск. ун-та.* 2018; 73 (3): 125–131.
  75. Комиссарова С.Н. Регенерация нейронов коры головного мозга при экспериментальном геморрагическом инсульте: влияние тромбоцитов и моделированных эффектов микрогравитации: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 2015: 25.
  76. Farrag T.Y., Lehar M., Verhaegen P., Carson K.A., Byrne P.J. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope.* 2007; 117 (1): 157. DOI: 10.1097/01.mlg.0000249726.98801.77.
  77. Sariguney Y., Yavuzer R., Elmas C., Yenicesu I., Bolay H., Atabay K. Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. *J. Reconstr. Microsurg.* 2008; 24 (3): 159. DOI: 10.1055/s-2008-1076752.
  78. Piskin A., Kaplan S., Aktas A., Ayyildiz M., Raimondo S., Alic T. et al. Platelet gel does not improve peripheral nerve regeneration: an electrophysiological, stereological, and electron microscopic study. *Microsurgery.* 2009; 29 (2): 144–153. DOI: 10.1002/micr.20599.
  79. Kaplan S., Piskin A., Ayyildiz M., Aktas A., Koksall B., Ulkay M.B. et al. The effect of melatonin and platelet gel on sciatic nerve repair: an electrophysiological and stereological study. *Microsurgery.* 2011; 31 (4): 306. DOI: 10.1002/micr.20876.
  80. Dagum A.B. Peripheral nerve regeneration, repair, and grafting. *J. Hand. Ther.* 1998; 11 (2): 111–117. DOI: 10.1016/S0894-1130(98)80007-0.
  81. Galla T.J., Vedecnik S.V., Halbgewachs J., Steinmann S., Friedrich C., Stark G.B. Fibrin/Schwann cell matrix in poly-epsilon-caprolactone conduits enhances guided nerve regeneration. *Int. J. Artif. Organs.* 2004; 27 (2): 127–136. DOI: 10.1177/039139880402700208.
  82. Povlsen B. A new fibrin seal in primary repair of peripheral nerves. *J. Hand. Surg. (Br.).* 1994; 19 (1): 43–47. DOI: 10.1016/0266-7681(94)90048-5.
  83. Gao C., Ma S., Ji Y., Wang J.E., Li J. Sciatic nerve regeneration in rats stimulated by fibrin glue containing nerve growth factor: an experimental study. *Injury.* 2008; 39 (12): 1414–1420. DOI: 10.1016/j.injury.2008.05.010.
  84. Johnson P.J., Tatara A., Shiu A., Sakiyama-Elbert S.E. Controlled release of neurotrophin-3 and platelet-derived growth factor from fibrin scaffolds containing neural progenitor cells enhances survival and differentiation into neurons in a subacute model of SCI. *Cell Transplant.* 2010; 19 (1): 89–101. DOI: 10.3727/096368909X477273.
  85. Willerth S.M., Rader A., Sakiyama-Elbert S.E. The effect of controlled growth factor delivery on embryonic stem cell differentiation inside fibrin scaffolds. *Stem. Cell. Res.* 2008; 1 (3): 205–218. DOI: 10.1016/j.scr.2008.05.006.
  86. Wood M.D., Moore A.M., Hunter D.A., Tuffaha S., Borschel G.H., Mackinnon S.E. et al. Affinity-based release of glial-derived neurotrophic factor from fibrin matrices enhances sciatic nerve regeneration. *Acta Biomater.* 2009; 5 (4): 959–968. DOI: 10.1016/j.actbio.2008.11.008.
  87. Cho H.H., Jang S., Lee S.C., Jeong H.S., Park J.S., Han J.Y. et al. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and

- platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. *Laryngoscope*. 2010; 120 (5): 907–913. DOI: 10.1002/lary.20860.
88. Lichtenfels M., Colome L., Sebben A.D., Braga-Silva J. Effect of platelet rich plasma and platelet rich fibrin on sciatic nerve regeneration in a rat model. *Microsurgery*. 2013; 33 (5): 383–390. DOI: 10.1002/micr.22105.
  89. Elgazzar R.F., Mutabagani M.A., Abdelaal S.E., Sadakah A.A. Platelet rich plasma may enhance peripheral nerve regeneration after cyanoacrylate reanastomosis: a controlled blind study on rats. *Int. J. Oral. Maxillofac Surg*. 2008; 37 (8): 748–755. DOI: 10.1016/j.ijom.2008.05.010.
  90. Emel E., Ergun S.S., Kotan D., Gursay E.B., Parman Y., Zengin A. et al. Effects of insulin-like growth factor I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. *J. Neurosurg*. 2011; 114 (2): 522–528. DOI: 10.3171/2010.9.JNS091928.
  91. Ding X.G., Li S.W., Zheng X.M., Hu L.Q., Hu W.L., Luo Y. The effect of platelet-rich plasma on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Asian. J. Androl*. 2009; 11 (2): 215–221. DOI: 10.1038/aja.2008.37.
  92. Godwin J.W., Pinto A.R., Rosenthal N.A. Macrophages are required for adult salamander limb regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013; 110 (23): 9415–9420. DOI: 10.1073/pnas.1300290110.
  93. Lehenkari P.P., Kellinsalmi M., Näpänkangas J.P., Ylitalo K.V., Mönkkönen J., Rogers, M.J., Azharyev A., Väänänen H.K., Hassinen I.E. Further insight into mechanism of action of clonidine: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite. *Molecular Pharmacology*. 2002; 61 (5): 1255–1262. DOI: 10.1124/mol.61.5.1255.
  94. Frantz S., Hofmann U., Fraccarollo D., Schäfer A., Krane-puhl S., Hagedorn I., Nieswandt B., Nahrendorf M., Wagner H., Bayer B., Pachel C., Schön M., Kneitz S., Bobinger T., Weidemann F., Ertl G., Bauersachs J. Monocytes/macrophages prevent healing defects and left ventricular thrombus formation after myocardial infarction. *The FASEB Journal*. 2013; 27 (3): 871–881. DOI: 10.1096/fj.12-214049.
  95. Van Amerongen M.J., Harmsen M.C., Rooijen N., Petersen A.H., van Luyn M.J.A. Macrophage depletion impairs wound healing and increases left ventricular remodeling after myocardial injury in mice. *The American Journal of Pathology*. 2007; 170 (3): 818–829. DOI: 10.2353/ajpath.2007.060547.
  96. Goren I., Allmann N., Yogev N., Schürmann C., Linke A., Holdene M., Waisman A., Pfeilschifter J., Frank S. A transgenic mouse model of inducible macrophage depletion: effects of diphtheria toxin-driven lysozyme M-specific cell lineage ablation on wound inflammatory, angiogenic, and contractive processes. *The American Journal of Pathology*. 2009; 175 (1): 132–147. DOI: 10.2353/ajpath.2009.081002.
  97. Martinez F.O., Sica A., Mantovani A., Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front. Biosci*. 2008; 13: 453–461. DOI: 10.2741/2692.
  98. Gensel J.C., Zhang B. Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury. *Brain Research*. 2015; 1619: 1–11. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.12.045.
  99. Wynn T.A., Chawla A., Pollard J.W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*. 2013; 496 (7446): 445–455. DOI: 10.1038/nature12034.
  100. Nickaen N., Ghaisari J., Heiner M., Moein S., Ghaisari Y. Agent-based modeling and bifurcation analysis reveal mechanisms of macrophage polarization and phenotype pattern distribution. *Sci. Rep*. 2019; 9 (1): 12764. DOI: 10.1038/s41598-019-48865-z.
  101. Daley J.M., Brancato S.K., Thomay A.A., Reichner J.S., Albina J.E. The phenotype of murine wound macrophages. *J. Leukoc. Biol*. 2010; 87 (1): 59–67. DOI: 10.1189/jlb.0409236.
  102. Pawelski H., Lang D., Reuter S. Interactions of monocytes and platelets: implication for life. *Frontiers in Bioscience*. 2014; 6: 75–91. DOI: 10.2741/s416.
  103. Mei J., Liu Y., Dai N., Favara M., Greene T., Jeyaseelan S., Poncz M., Lee J.S., Worthen G.S. CXCL5 regulates chemokine scavenging and pulmonary host defense to bacterial infection. *Immunity*. 2010; 33 (1): 106–117. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.07.009.
  104. Kluge A., Reuter G., Lee H., Ruch-Heeger B., Schauer R. Interaction of rat peritoneal macrophages with homologous sialidase-treated thrombocytes in vitro: biochemical and morphological studies. Detection of N-(O-acetyl) glycolyl-neuraminic acid. *European Journal of Cell Biology*. 1992; 59 (1): 12–20.
  105. Horte E., Johnson K.E., Johansen M.D., Nguyen T., Shavit J.A., Britton W.J., Tobin D.M., Stefan H., Oehlers S.H. Thrombocyte inhibition restores protective immunity to mycobacterial infection in Zebrafish. *The Journal of Infectious Diseases*. 2019; 220 (3): 524–534. DOI: 10.1093/infdis/jiz110.
  106. Dixon D.A., Tolley N.D., Bemis-Standoli K., Martinez M.L., Weyrich A.S., Morrow J.D., Prescott S.M., Zimmerman G.A. Expression of COX-2 in platelet-monocyte interactions occurs via combinatorial regulation involving adhesion and cytokine signaling. *J. Clin. Invest*. 2006; 116 (10): 2727–2738. DOI: 10.1172/JCI27209.
  107. Boehlen F., Clemetson K.J. Platelet chemokines and their receptors: what is their relevance to platelet storage and transfusion practice? *Transfus. Med*. 2001; 11 (6): 403–417. DOI: 10.1046/j.1365-3148.2001.00340.x.
  108. Petrucci G., de Cristofaro R., Rutella S., Ranelletti F.O., Pocaterra D., Lancellotti S., Habib A., Patrono C., Rocca B. Prostaglandin E2 differentially modulates human platelet function through the prostanoid EP2 and EP3 receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2011; 336 (2): 391–402. DOI: 10.1124/jpet.110.174821.
  109. Passacuale G., Vamadevan P., Pereira L., Hamid C., Corrigan V., Ferro A. Monocyte-platelet interaction induces a pro-inflammatory phenotype in circulating monocytes. *PLoS One*. 2011; 6 (10): 25595. DOI: 10.1371/journal.pone.0025595.
  110. Stephen J., Emerson B., Fox K.A., Dransfield I. The uncoupling of monocyte-platelet interactions from the induction of proinflammatory signaling in monocytes. *J. Immunol*. 2013; 191 (11): 5677–5683. DOI: 10.4049/jimmunol.1301250.
  111. Scull C.M., Hays W.D., Fischer T.H. Macrophage pro-inflammatory cytokine secretion is enhanced following interaction with autologous platelets. *J. Inflamm. (Lond)*. 2010; 7: 53–58. DOI: 10.1186/1476-9255-7-53.

112. Vieira-de-Abreu A., Campbell R.A., Weyrich A.S., Zimmerman G.A. Platelets: versatile effector cells in hemostasis, inflammation, and the immune continuum. *Semin. Immunopathol.* 2012; 34 (1): 5–30. DOI: 10.1007/s00281-011-0286-4.
113. Mause S.F., von Hundelshausen P., Zernecke A., Koenen R.R., Weber C. Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES promoting monocyte recruitment on endothelium. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2005; 25 (7): 1512–1518. DOI: 10.1161/01.ATV.0000170133.43608.37.
114. Marfaing-Koka A., Maravic M., Humbert M., Galanaud P., Emillie D. Contrasting effects of IL-4, IL-10 and corticosteroids on RANTES production by human monocytes. *International Immunology.* 1996; 8 (10): 1587–1594. DOI: 10.1093/intimm/8.10.1587.
115. Corken A., Russell S., Dent J., Post S.R., Ware J. Platelet glycoprotein Ib-IX as a regulator of systemic inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014; 34 (5): 996–1001. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.303113.
116. Langer H.F., Daub K., Braun G., Schönberger T., May A.E., Schaller M., Stein G.M., Stellos K., Bueltmann A., Siegel-Axel D., Wendel H.P., Aebert H., Roeken M., Seizer P., Santoso S., Wesselborg S., Brossart P., Gawaz M. Platelets recruit human dendritic cells via Mac-1/JAM-C interaction and modulate dendritic cell function *in vitro*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27 (6): 1463–1470. DOI: 10.1161/ATVBAHA.107.141515.
117. Hagihara M., Higuchi A., Tamura N., Ueda Y., Hirabayashi K., Ikeda Y., Kato S., Sakamoto S., Hotta T., Handa S., Goto S. Platelets, after exposure to a high shear stress, induce IL-10-producing, mature dendritic cells *in vitro*. *J. Immunol.* 2004; 172 (9): 5297–5303. DOI: 10.4049/jimmunol.172.9.5297.
118. Vasina E., Cauwenberghs S., Feijge M., Heemskerk J., Weber C., Koenen R. Microparticles from apoptotic platelets promote dendritic macrophage differentiation. *Cell Death Dis.* 2011; 2 (9): 211. DOI: 10.1038/cddis.2011.94.

### Сведения об авторе

**Юшков Борис Германович**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, зав. лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии, ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург.

(✉) **Юшков Борис Германович**, e-mail: b.yushkov@iip.uran.ru

Поступила в редакцию 03.07.2020

Подписана в печать 28.12.2020

УДК 616.131-005.755+616.127-005.8  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-228-232>

## Тромбоэмболия легочной артерии в сочетании с острым инфарктом миокарда: клинический случай

Захарьян Е.А.<sup>1</sup>, Григорьев П.Е.<sup>2,3</sup>, Шатов Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Медицинская академия (МА) имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет (КФУ) имени В.И. Вернадского

Россия, 295006, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7

<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет

Россия, 295053, Республика Крым, г. Севастополь, ул. Университетская, 22

<sup>3</sup> Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации имени И.М. Сеченова (АНИИ им. И.М. Сеченова)

Россия, 298603, Республика Крым, г. Ялта, ул. Мухина, 10

### РЕЗЮМЕ

Представлен случай сочетания тромбоэмболии легочной артерии и острого нижнего инфаркта миокарда у 54-летнего пациента, который поступил в региональный центр по проведению чрескожных коронарных вмешательств. При выполнении коронароангиографии обнаружено многососудистое поражение с ангиографическими признаками нестабильности в проксимальной трети правой коронарной артерии, при ангиопульмонографии – картина тромбоэмболии легочной артерии с нарушением перфузии легких средней степени тяжести.

Описанное сочетание представляет собой трудную задачу как с точки зрения диагностики, так и последующей лечебной тактики. Особенностью данного случая является применение двойного интервенционного вмешательства, состоящего из реваскуляризации инфаркт-зависимой артерии и фрагментации тромботических масс в легочной артерии в сочетании с тромболитической терапией.

**Ключевые слова:** острый инфаркт миокарда, тромбоэмболия легочной артерии, тромболитическая терапия, ангиография коронарных сосудов, ангиопульмонография.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии источника финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Захарьян Е.А., Григорьев П.Е., Шатов Д.В. Тромбоэмболия легочной артерии в сочетании с острым инфарктом миокарда: клинический случай. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 228–232. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-228-232>.

## Pulmonary embolism with comorbid acute myocardial infarction: a clinical case

Zakharyan E.A.<sup>1</sup>, Grigoriev P.E.<sup>2,3</sup>, Shatov D.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University  
5/7, Lenina Av., Simferopol, Republic of Crimea, 295051, Russian Federation

✉ Шатов Дмитрий Викторович, e-mail: dmitrii\_shatov@mail.ru

<sup>2</sup> Sevastopol State University

33, Universitetskaya Str., Sevastopol, Republic of Crimea, 299053, Russian Federation

<sup>3</sup> Academic Research Institute of Physical Treatment Methods, Medical Climatology and Rehabilitation named after I.M. Sechenov

10, Mukhina Str., Yalta, Republic of Crimea, 298603, Russian Federation

## ABSTRACT

The article presents a case of pulmonary embolism with comorbid acute inferior myocardial infarction in the 54-year-old patient who was admitted to the Regional Center for Percutaneous Coronary Interventions. Coronary angiography revealed a multivessel lesion with angiographic signs of instability in the proximal third of the right coronary artery. Pulmonary angiography revealed signs of pulmonary embolism with moderate impairment of pulmonary perfusion.

The described combination is challenging in terms of both diagnosis and subsequent treatment strategy. A feature of this case is the use of a double surgery, consisting of revascularization of the infarct-related artery and fragmentation of thrombotic masses in the pulmonary artery, in combination with thrombolytic therapy.

**Key words:** acute myocardial infarction, pulmonary embolism, thrombolysis, coronary angiography, pulmonary angiography.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Zakharyan E.A., Grigoriev P.E., Shatov D.V. Pulmonary embolism with comorbid acute myocardial infarction: a clinical case. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 228–232. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-228-232>.

## ВВЕДЕНИЕ

Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), не обладая клинической специфичностью, является одним из заболеваний, требующих проведения дифференциальной диагностики, в том числе с острым инфарктом миокарда (ОИМ). Особенно сложным является лечение пациентов с сочетанием данных нозологических единиц [1]. Ниже описан пример успешного применения интервенционной тактики ведения пациента с тромбоэмболией легочной артерии, ассоциированной с острым инфарктом миокарда.

## КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

Пациент, 54 года, был доставлен бригадой скорой медицинской помощи в региональный центр по проведению чрескожных коронарных вмешательств с диагнозом «Острый коронарный синдром с элевацией сегмента ST». Считал себя больным в течение 1,5 ч, когда впервые в жизни появились резкая слабость, чувство нехватки воздуха, давление в груди с потерей сознания.

В анамнезе – табакокурение до одной пачки сигарет в день, артериальное давление не измерял. Других факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний не было. Сознание ясное. Кожа обычной окраски. Индекс массы тела 26 кг/м<sup>2</sup>. Отеков на нижних конечностях нет. Дыхание самостоятельное,

адекватное, с частотой 16 движений в минуту. При аускультации везикулярное дыхание, хрипы не выслушивались, SpO<sub>2</sub> 90% при дыхании обычным воздухом. Тоны сердца ритмичны, приглушены. Шумы не выслушивались. Артериальное давление на обеих руках 120/80 мм рт. ст., частота сердечных сокращений 100 в минуту (на фоне инфузии допамина в дозе 3 мкг/кг/мин). Живот мягкий, безболезненный. Нижний край печени – у края реберной дуги. При осмотре других органов и систем – без патологических отклонений.

Лабораторно: тропонин I и креатининкиназа МВ при поступлении – отрицательный результат (при повторном исследовании через 12 ч – 10-кратное превышение верхней границы нормы), D-димер при поступлении более 8 000 нг/мл.

На электрокардиограмме: элевация сегмента ST в AVL 1 мм, депрессия сегмента ST в II, III, V<sub>3-6</sub> до 2 мм, блокада правой ножки пучка Гиса (рис. 1). При коронарографии: атеросклероз, кальциноз коронарных артерий; стенозы ствола левой коронарной артерии перед бифуркацией более 65%; стеноз проксимальной трети передней межжелудочковой ветви более 70%; стеноз средней трети передней межжелудочковой ветви около 60%; стеноз устья диагональной ветви более 40%, стеноз устья и проксимальной трети промежуточной артерии около 50%; стеноз проксимальной трети правой коронарной артерии

(ПКА) более 85% с ангиографическими признаками нестабильности; ангиографические признаки при-

стеночного тромбоза средней трети правой коронарной артерии (рис. 2).

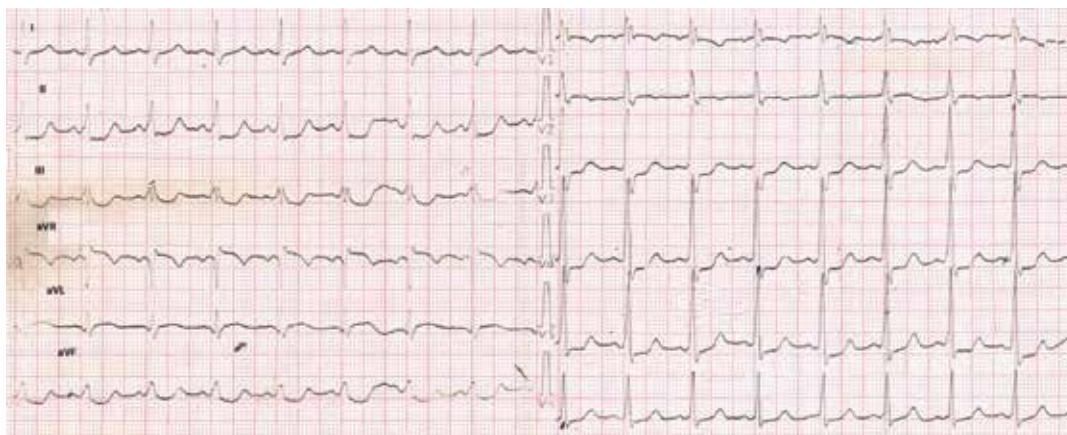


Рис. 1. Электрокардиограмма больного при поступлении: скорость 25 мм/с; вольтаж 10 мм

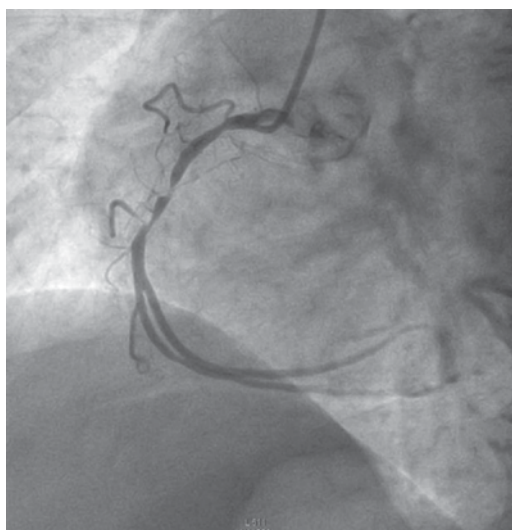


Рис. 2. Изображение правой коронарной артерии, полученное при проведении коронарографии

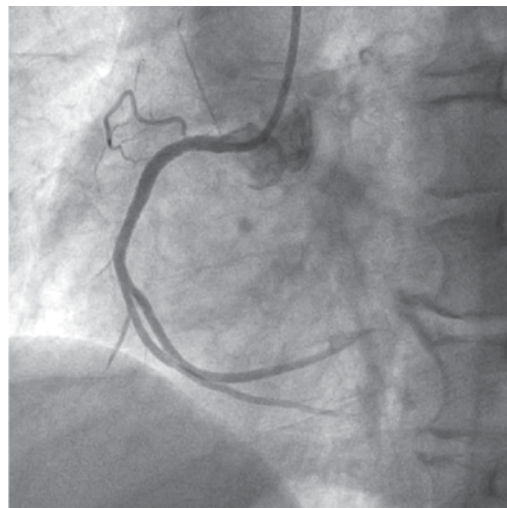


Рис. 3. Изображение правой коронарной артерии после ее стентирования

Проведено стентирование критического стеноза проксимальной трети и зоны тромбоза средней трети ПКА с хорошим ангиографическим результатом (рис. 3).

После завершения стентирования, учитывая особенности клинической картины и результаты исследования содержания D-димеров, было принято решение о выполнении ангиопульмонографии: ангиографические признаки тромбоэмболии легочной артерии (преимущественно справа) средней степени тяжести (индекс Миллера 19) (рис. 4). Выполнена механическая дефрагментация тромба с селективным тромболизом (альтеплаза 15 мг за 15 мин) и последующим системным введением тромболитика (альтеплаза 85 мг за 1,5 ч) (рис. 5).



Рис. 4. Изображение, полученное при проведении ангиопульмонографии

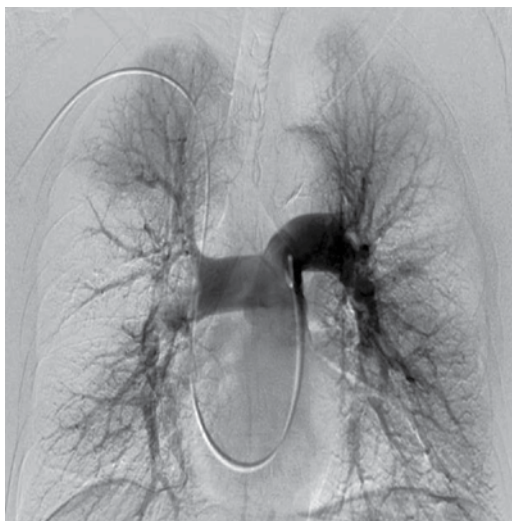


Рис. 5. Изображение, полученное при проведении ангиопульмонографии после фрагментации тромботических масс и селективного тромболитика

При эхокардиографии (ЭхоКГ), выполненной после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ): дилатация полостей правого и левого желудочков (ЛЖ), расширение аорты на уровне синуса Вальсальвы, несимметричная гипертрофия миокарда ЛЖ (задняя стенка 0,9–1,3 см, межжелудочковая перегородка 1,2–1,5 см), гипокинез задней стенки ЛЖ, фракция выброса ЛЖ – 47%.

Ультразвуковое исследование вен нижних конечностей (после ЧКВ): справа в одной из заднеберцовых вен – тромботические массы с признаками реканализации до 20%, глубокая бедренная вена – пристеночные тромботические массы с признаками реканализации до 50%; слева – в суральных венах тромботические массы с признаками реканализации до 50%.

Послеоперационный период протекал без особенностей. Выписан для дальнейшего лечения в амбулаторных условиях на 14-е сут с рекомендацией продолжить прием двойной антитромбоцитарной терапии в сочетании с дабигатраном под наблюдением кардиолога и сосудистого хирурга.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе описаны три вида сочетания ОИМ и ТЭЛА: ТЭЛА как осложнение ОИМ; ОИМ, возникший в результате парадоксальной эмболии при функционирующем овальном отверстии, сочетаясь с ТЭЛА; ОИМ как осложнение ТЭЛА [2–4]. Мы полагаем, что в обсуждаемом случае наиболее вероятно развитие именно третьего варианта на фоне критического стеноза ПКА, что согласуется с 4-м Универсальным определением инфаркта миокарда [5].

Предложены следующие причины элевации сегмента ST при ТЭЛА: 1) истинно ишемическое изменение миокарда (окклюзия, эмболия, атеросклеротическая бляшка); 2) недостаточность коронарного артериального кровотока вследствие острого повышения постнагрузки правого желудочка [6]; 3) трансмуральная ишемия ПЖ из-за гипотонии, гипоксемии, легочной артериальной гипертензии и гиперкатехоламинемии [7]; 4) сдавление коронарных артерий дилатированной легочной артерией из-за аномалий развития [8, 9].

Помимо трудности диагностики такого нозологического симбиоза также имеются сложности с определением наиболее оптимальной лечебной тактики. В большинстве описанных случаев был применен системный тромболитик, который проводился в различные временные промежутки, что обусловлено отсроченной диагностикой ТЭЛА путем выполнения контрастной компьютерной томографии. Имеется описание клинического случая с использованием двойного интервенционного вмешательства [10].

Согласно последним Европейским рекомендациям по диагностике и ведению пациентов с острой эмболией легочной артерии, проведение ангиопульмонографии показано при планируемом инвазивном чрескожном лечении ТЭЛА [11]. Так, в нашем случае, учитывая нахождение пациента в катетерной лаборатории, с целью минимизации потерь времени, связанных с транспортировкой пациента, было принято решение о проведении экстренной ангиопульмонографии с последующим интервенционным вмешательством.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенный клинический пример демонстрирует всю сложность диагностики и лечения пациента с сочетанием жизнеугрожающих нозологических состояний. При наличии исходной гипотензии (шока) и невозможности немедленного проведения КТ-ангиографии, прикроватная ЭхоКГ является методом верификации диагноза ТЭЛА высокого риска, результаты которой позволят дифференцировать ТЭЛА и ОИМ в максимально сжатые сроки [11].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Omar H.R., Mangar D., Camporesi E.M. Acute pulmonary embolism masquerading as inferior myocardial infarction. *Am. J. Emerg. Med.* 2015; 33 (4): 580–581. DOI: 10.1016/j.ajem.2014.11.036.
2. O'Sullivan C.J., Magarzo J.G.A., Bernheim A.M. et al. Paradoxical embolism via a sinus venosus atrial septal defect

- causing an inferior ST-segment elevation myocardial infarction in a 23-year-old woman. *BMJ CaseRep*. 2016; 2016: bcr2016215184. DOI: 10.1136/bcr-2016-215184.
3. Tukayeva D.N., Cavallazzi R.S. Paradoxical thromboembolism/ST-elevation myocardial infarction via a patent foramen ovale in sub-massive pulmonary embolism following an upper extremity deep venous thrombosis: is it time for a change in the standard of care? *Cardiol. Res.* 2014; 5 (3–4): 112–117. DOI: 10.14740/cr335w.
4. Jolobe O.M.P. The differential diagnosis of acute pulmonary embolism and ST segment inferior myocardial infarction. *Am. J. Emerg. Med.* 2015; 33 (5): 723. DOI: 10.1016/j.ajem.2015.02.016.
5. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Chaitman B.R., Bax J.J., Morrow D.A., White H.D., ESC Scientific Document Group. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *European Heart Journal*. 2018; 40 (3): 237–269. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy462.
6. Lu Y.-W., Tsai Y.-L., Chang C.-C., Huang P.-H. A potential diagnostic pitfall in acute chest pain: Massive pulmonary embolism mimicking acute STEMI. *Am. J. Emerg. Med.* 2018; 36 (3): 461–463. DOI: 10.1016/j.ajem.2017.11.046.
7. Zhan Z.-Q., Wang C.-Q., Baranchuk A. Acute pulmonary embolism with ST-segment elevation in the inferior leads. *Int. J. Cardiol.* 2014; 177 (2): 718–719. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.10.017.
8. Shishido K., Moriyama N., Shimizu T., Saito Sh. Anomalous acute left main myocardial infarction due to compression between pulmonary artery and aorta by acute pulmonary thromboembolism. *JACC: Cardiovascular Interventions*. 2016; 9 (23): e227–228. DOI: 10.1016/j.jcin.2016.09.045.
9. Takeda N., Ohtaki E., Kitahara K et al. Pulmonary thromboembolism in a patient with an anomalous right coronary artery as a cause of unusual biventricular myocardial infarction. *Circ. J.* 2004; 68 (9): 883–886. DOI: 10.1253/circj.68.883.
10. Smith G.J., Koul S., Roijer A. et al. Acute right ventricular failure caused by concomitant coronary and pulmonary embolism: successful treatment with endovascular coronary and pulmonary thrombectomy. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2013; 2 (2): 131–136. DOI: 10.1177/2048872613486336.
11. Konstantinides S.V., Meyer G., Becattini C. et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur. Heart J.* 2020; 41(4): 543–603. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz405.

## Сведения об авторах

**Захарьян Елена Аркадьевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренней медицины № 1 с курсом клинической фармакологии, МА им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0002-7384-9705.

**Григорьев Павел Евгеньевич**, д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры «Психология», Севастопольский государственный университет, г. Севастополь; вед. науч. сотрудник, АНИИ им. И.М. Сеченова, г. Ялта. ORCID 0000-0001-7390-9109.

**Шатов Дмитрий Викторович**, канд. мед. наук, доцент, кафедра общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи, МА им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-2248-5400.

(✉) **Шатов Дмитрий Викторович**, e-mail: dmitrii\_shatov@mail.ru

Поступила в редакцию 12.08.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Редкий случай метастатической нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы

Кит О.И.<sup>1</sup>, Трифанов В.С.<sup>1</sup>, Тимошкина Н.Н.<sup>1</sup>, Колесников Е.Н.<sup>1</sup>, Гвалдин Д.Ю.<sup>1</sup>, Карнаухов Н.С.<sup>1</sup>, Кутилин Д.С.<sup>1</sup>, Мещерякова М.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии  
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

<sup>2</sup> Ростовский государственный медицинский университет (РостГМУ)  
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучение редкого спорадического случая метастатической гастриномы, ассоциированной с мутациями в генах *MEN1* и *TSC2*, у мужчины 25 лет.

**Материалы и методы.** Был проведен ретроспективный анализ истории болезни пациента 25 лет с наличием спорадической гастриномы с высоко агрессивным клиническим течением и высоким метастатическим потенциалом. Секвенирование ДНК, экстрагированной из операционного биоптата опухоли, проводили на секвенаторе Illumina NextSeq 550 (Illumina Inc., США) со средним покрытием не менее 100× с применением таргетной панели AmpliSeq Comprehensive Cancer Panel for Illumina для исследования экзонных регионов 409 генов, мутации в которых ассоциированы с онкопатологией.

**Результаты.** Представлен результат комплексной диагностики и успешного лечения метастатической гастриномы с применением современных локорегиональных методов лечения и препаратов из группы аналогов соматостатина. С помощью секвенирования нового поколения и секвенирования по Сэнгеру в экстрагированной ДНК были выделены спорадические мутации в генах *MEN1* и *TSC2* с выраженным клиническим значением.

**Заключение.** Идентифицированные мутации, являясь драйверами опухолевого процесса, очевидно, определили нетипичное развитие представленного клинического случая – спорадического синдрома Золлингера – Эллисона. Полная морфологическая и иммуногистохимическая верификация нейроэндокринной опухоли до начала лечения определила его успешную тактику, включавшую применение аналогов соматостатина в адьювантном и неадьювантном режимах в сочетании с химиоэмболизацией печеночных метастазов.

**Ключевые слова:** нейроэндокринная опухоль, синдром Золлингера – Эллисона, секвенирование нового поколения, метастазы.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Кит О.И., Трифанов В.С., Тимошкина Н.Н., Колесников Е.Н., Гвалдин Д.Ю., Карнаухов Н.С., Кутилин Д.С., Мещерякова М.Ю. Редкий случай метастатической нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 233–238. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-233-238>.

## A rare case of a metastatic neuroendocrine tumor of the pancreas

Kit O.I.<sup>1</sup>, Trifanov V.S.<sup>1</sup>, Timoshkina N.N.<sup>1</sup>, Kolesnikov E.N.<sup>1</sup>, Gvaldin D.Y.<sup>1</sup>, Karnaukhov N.S.<sup>1</sup>, Kutilin D.S.<sup>1</sup>, Meshcheryakova M.Y.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> National Medical Research Center for Oncology (NMRCO)  
63, 14 Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

<sup>2</sup> Rostov State Medical University  
29, Nahichevanskiy Str., Rostov-On-Don, 344037, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To study a rare sporadic case of metastatic gastrinoma associated with mutations in the *MEN1* and *TSC2* genes in a 25-year-old male.

**Materials and methods.** A retrospective analysis of the history of a 25-year-old patient with sporadic gastrinoma with a highly aggressive clinical course and high metastatic potential was performed. Sequencing of the DNA extracted from the surgical tumor biopsy was performed on the Illumina NextSeq 550 sequencer (Illumina Inc., USA) with the mean coverage of at least 100× using the AmpliSeq target panel for Illumina Comprehensive Cancer Panel for studying exons of 409 genes, mutations in which are associated with oncopathology.

**Results.** The article presents the results of complex diagnosis and treatment of metastatic gastrinoma using modern locoregional therapy and drugs from the group of somatostatin analogues. Using next generation sequencing and Sanger sequencing, sporadic mutations in the *MEN1* and *TSC2* genes with pronounced clinical significance were identified in the extracted DNA.

**Conclusion.** The identified mutations, being the drivers of the tumor process, apparently determined the atypical development of the presented clinical case – the sporadic Zollinger – Ellison syndrome. Complete morphological and immunohistochemical validation of the neuroendocrine tumor before treatment determined a successful treatment strategy, including the use of somatostatin analogues in adjuvant and neoadjuvant therapies in combination with chemoembolization of hepatic metastases.

**Key words:** neuroendocrine tumor, Zollinger – Ellison syndrome, next generation sequencing, metastases.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Kit O.I., Trifanov V.S., Timoshkina N.N., Kolesnikov E.N., Gvaldin D.Y., Karnaukhov N.S., Kutilin D.S., Meshcheryakova M.Y. A rare case of a metastatic neuroendocrine tumor of the pancreas. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 233–238. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-233-238>.

## ВВЕДЕНИЕ

На ежегодном съезде American Surgical Association в Филадельфии 29 апреля 1955 г. Роберт Золлингер и Эдвин Эллисон первыми представили связь между неинсулин-продуцирующей опухолью поджелудочной железы и гиперсекрецией соляной кислоты в желудке. Опухоль вследствие способности продуцировать в большом количестве гастрин стали называть гастриномой. Клинические проявления заболевания вошли в синдром Золлингера – Эллисона (ЗЭС), хотя в настоящее время данные термины используются в качестве синонимичных. Со времени первого описания синдрома прошло всего 65 лет, но за это время было опубликовано свыше 3 300 статей, представле-

ны уникальные клинические данные более 1 тыс. пациентов. Установлено, что ежегодная заболеваемость составляет 1 случай на 1 млн населения в год [1].

Начальные признаки заболевания обычно проявляются в возрасте 30–60 лет. Время манифестации ассоциирует со статусом опухоли – спорадическим либо наследуемым [2]. ЗЭС включает эктопическую секрецию гастрина нейроэндокринной опухолью, гастриномой, первично локализованной в двенадцатиперстной кишке (60–80%) или в поджелудочной железе (10–40%). В итоге – гиперпродукция соляной кислоты и, как следствие, развитие гастроэзофагеальной рефлюксной и язвенной болезней, обычно резистентных к классической медикаментозной терапии [3].

У 30% пациентов с синдромом множественной нейроэндокринной неоплазии 1 типа (МЭН-1) диагностируют нейроэндокринную опухоль поджелудочной железы (НЭО ПЖ), причем гастринома в данном случае развивается исключительно до 20 лет и чаще локализуется в двенадцатиперстной кишке [4, 5]. Тактика и исход лечения спорадических гастрином и гастрином, ассоциированных с МЭН-1, разнятся. Отличительной особенностью последних является небольшой размер, мультифокальный характер роста, высокий метастатический потенциал. Основным методом лечения – хирургический, но его результаты характеризуются по-прежнему низкими показателями. Признаки биохимического рецидива присутствуют более чем у 95% пациентов в течение 3 лет после операции [6].

Стоит отметить, что сочетание ЗЭС с другими наследственными синдромами является крайне редким событием. В литературе описан только один случай выявления гастриномы у 34-летнего мужчины, у которого в детском возрасте был диагностирован туберозный склероз без семейной истории. На момент постановки диагноза были выявлены множественные метастазы в печени, легких и позвоночнике. Пациент, являясь неоперабельным, умер спустя 6 мес [7]. Следует заметить, что ранняя клиническая манифестация и агрессивное течение заболевания не характерны для спорадических гастрином. В связи с этим особый интерес представляет описанный нами случай гастриномы поджелудочной железы без семейной истории с ранним развитием ЗЭС и наличием спорадических мутаций генов *MEN1* и *TSC2*.

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент А., 25 лет, в сентябре 2018 г. обратился к терапевту по месту жительства с жалобами на общую слабость, головокружение, боли в животе в подложечной области, возникающие после еды, тянущие боли в правом подреберье. Была проведена эзофагогастродуоденоскопия, с помощью которой был обнаружен язвенный дефект кардального отдела желудка и эрозивный дуоденит. На магнитно-резонансной томограмме (МРТ) органов брюшной полости визуализировались новообразование хвоста поджелудочной железы ( $45 \times 55 \times 42$  мм) и однотипные образования в S1 ( $14 \times 20$  мм) и S7 ( $16 \times 16 \times 10$  мм) печени (рис. 1).

Для дальнейшего обследования и лечения пациент А. был направлен в ФГБУ «НМИЦ онкологии», г. Ростов-на-Дону (ранее РНИОИ). Проведенное морфологическое исследование биопсийного материала поджелудочной железы и печени позволило верифицировать нейроэндокринную опухоль хвоста

поджелудочной железы. По данным иммуногистохимического исследования определялись резко положительные реакции с классическими маркерами нейроэндокринного фенотипа: хромогранином А (Хр А), синаптофизин, Ki-67 = 10% (что соответствует высокодифференцированной НЭО ПЖ G2, согласно классификации Всемирной организации здравоохранения (2017)). Помимо обязательного минимального набора маркеров, была использована расширенная панель маркеров с определением экспрессии спектра гормонов, с помощью которой идентифицировали высокие уровни экспрессии гастрина. Кроме того, на поверхности клеток первичной опухоли в большом количестве присутствовали соматостатиновые рецепторы 2А типа.

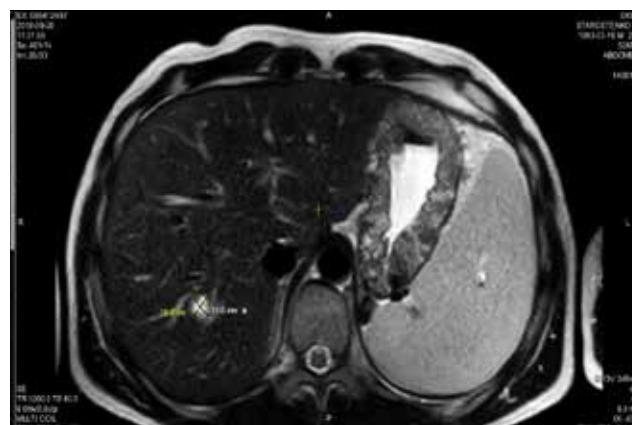


Рис. 1. МРТ органов брюшной полости. Визуализация метастатического очага в паренхиме печени

Таким образом, по результатам гистологического и иммуногистохимического исследований была верифицирована функционально-активная НЭО ПЖ – гастринома – с клинической картиной ЗЭС. Был поставлен диагноз нейроэндокринной опухоли хвоста поджелудочной железы pT3N1M1(hep) IV стадии с метастатическим поражением регионарного лимфатического узла и печени.

## ЛЕЧЕНИЕ

Решением консилиума «НМИЦ онкологии» было рекомендовано проведение хирургического лечения в объеме корпоркаудальной резекции поджелудочной железы со спленэктомией и атипичной резекцией S1 и S7 печени.

В качестве предоперационной подготовки пациенту был назначен ланреотид, на фоне которого Хр А в сыворотке крови снизился с 500 до 34 нмоль/л. Через 1 мес приема ланреотида была выполнена операция. При лапаротомии визуализировалась опухоль хвоста поджелудочной железы, подрастающая к воротам селезенки до 1,5 см в диаметре (рис. 2).

Опухолевый конгломерат включал в себя селезеночные артерию и вену, интимно прилежал к левой боковой полуокружности верхней брыжеечной и воротной вен. Основание селезеночной артерии было свободно от опухоли. Определялись увеличенные паракавазные лимфатические узлы. После мобилизации связки Трейца и рассечения брюшины над брыжейкой тонкой кишки визуализировалась верхняя брыжеечная вена, которая была расположена дорзомедиально от опухоли. Операция проведена в объеме корпорокаудальной резекции поджелудочной железы, спленэктомии, резекции брыжейки толстой кишки, паранефральной клетчатки и левого надпочечника. Была выполнена атипичная резекция S1 и S7 печени.



Рис. 2. Макропрепарат опухоли хвоста поджелудочной железы

В послеоперационном периоде пациент продолжал получать терапию ланреотидом, на фоне которой через 3 мес была зафиксирована прогрессия заболевания: на плановой МРТ визуализировалось новообразование в S7 печени размерами  $12 \times 11 \times 10$  мм (рис. 3).

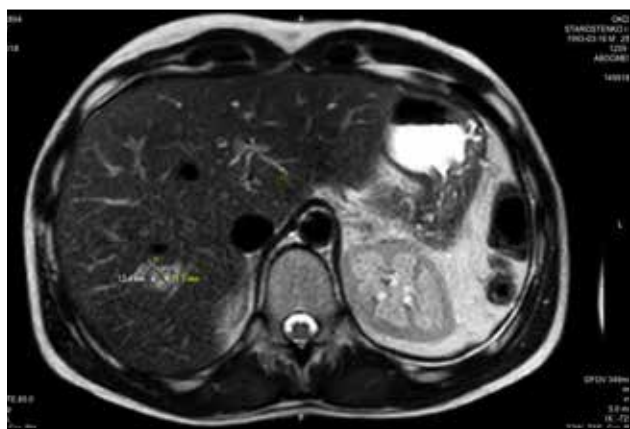


Рис. 3. МРТ органов брюшной полости через 3 мес после проведения корпородуоденальной резекции поджелудочной железы и атипичной резекции печени с демонстрацией прогрессирования заболевания в S7 печени

Решением консилиума «НМИЦ онкологии» было рекомендовано проведение трансартериальной химиоэмболизации (ТАХЭ) печени с применением эмульсии из липиодола и цисплатина. Учитывая прогрессирование метастатического процесса в печени, было решено в дополнение к проводимому лечению добавить химиотерапию по схеме GEMOX.

Пациент был включен в исследование генетического профиля НЭО ПЖ методом массового параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS). Секвенирование ДНК, экстрагированной из операционного биоптата опухоли, проводили на приборе Illumina NextSeq 550 (Illumina Inc., США) со средним покрытием не менее  $100\times$  с применением таргетной панели AmpliSeq Comprehensive Cancer Panel for Illumina для исследования экзонных регионов 409 генов, мутации в которых ассоциированы с онкопатологией. Аналитическая чувствительность детекции мутаций – 5%. Патогенность выявленных нуклеотидных замен оценивали согласно рекомендациям ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) и AMP (Association of Molecular Pathology) [8].

В исследованном образце ДНК был обнаружен 1 041 вариант нуклеотидных последовательностей, два из которых в генах *MEN1* и *TSC2* были определены как патогенные мутации с сильно выраженным клиническим значением согласно классификации ACMG и AMP. Делеция со сдвигом рамки считывания в гене *MEN1* с.248delT (p.Leu83ArgfsTer36) была описана в работах по исследованию опухолей поджелудочной железы [9, 10]. Обнаруженный вариант представлен мозаичной формой (частота альтернативного аллеля (VAF) равна 12,6%). В 3'-акцепторном сайте интрона 4 гена *TSC2* выявлена мутация с.337-1G>A (rs45517105), представленная в мозаичной форме (VAF = 7,6%) и ассоциированная с туберозным склерозом [11].

В дальнейшем идентифицированные патогенные мутации были верифицированы методом прямого секвенирования по Сэнгеру. Подтверждено наличие их в опухоли и отсутствие в лейкоцитах крови. Таким образом, был подтвержден диагноз sporadic гастриномы с ЗЭС. В настоящее время пациент находится под наблюдением, признаки прогрессирования заболевания отсутствуют.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный случай sporadic гастриномы обладает высокой ценностью с научной точки зрения. Редкость данного типа нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы здесь сочетается

с ее высоким злокачественным и метастатическим потенциалом, развитием полной клинической картины ЗЭС на фоне достаточно молодого возраста пациента. Раннее развитие гастриномы обычно ассоциируется с наличием наследуемых синдромов, проявления которых отсутствовали у больного. Но с помощью NGS и прямого секвенирования по Сэнгеру были детектированы спорадические мутации генов *MEN1* и *TSC2* с сильно выраженным клиническим значением, типично ассоциированные с развитием МЭН-1 и tuberous sclerosis соответственно. Очевидно, сочетание двух патогенных мутаций предопределило высокую агрессивность течения заболевания.

Появление новых локорегиональных методов лечения печеночных метастазов НЭО, таких как трансартериальная химиоэмболизация, позволило подбирать тактику лечения строго индивидуально и без агрессивного воздействия на всю паренхиму печени. В пользу высокой эффективности этого метода свидетельствует отсутствие прогрессирования заболевания у описанного пациента в течение 16 мес наблюдения после ТАХЭ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ellison E.C., Johnson J.A. The Zollinger – Ellison syndrome: A comprehensive review of historical, scientific, and clinical considerations. *Curr. Probl. Surg.* 2009; 46 (1): 13–106. DOI: 10.1067/j.cpsurg.2008.09.001.
2. Shao Q., Zhao B., Dong L., Cao H., Wang H. Surgical management of Zollinger – Ellison syndrome: Classical considerations and current controversies. *World J. Gastroenterol.* 2019; 25 (32): 4673–4681. DOI: 10.3748/wjg.v25.i32.4673.
3. Ito T., Cadot G., Jensen R.T. Diagnosis of Zollinger – Ellison syndrome: Increasingly difficult. *World J. Gastroenterol.* 2012; 18 (39): 5495–5503. DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5495.
4. Stevenson M., Lines K.E., Thakker R.V. Molecular Genetic Studies of Pancreatic Neuroendocrine Tumors: New Therapeutic Approaches. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* 2018; 47 (3): 525–548. DOI: 10.1016/j.ecl.2018.04.007.
5. Albers M.B., Manoharan J., Bartsch D.K. Contemporary surgical management of the Zollinger – Ellison syndrome in multiple endocrine neoplasia type 1. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019; 33 (5): 101–318. DOI: 10.1016/j.beem.2019.101318.
6. Norton J.A., Foster D.S., Ito T., Jensen R.T. Gastrinomas. Medical or surgical treatment. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* 2018; 47 (3): 577–601. DOI: 10.1016/j.ecl.2018.04.009.
7. Schwarzkopf G., Pfisterer J. Metastasizing gastrinoma and tuberous sclerosis complex. Association or coincidence? *Zentralbl. Pathol.* 1994; 139 (6): 477–481.
8. Li M.M., Datto M., Duncavage E.J., Kulkarni S., Lindeman N.I., Roy S., Tsimberidou A.M., Vnencak-Jones C.L., Wolff D.J., Younes A., Nikiforova M.N. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J. Mol. Diagn.* 2017; 19 (1): 4–23. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2016.10.002.
9. Gleeson F.C., Voss J.S., Kipp B.R., Kerr S.E., van Arnam J.S., Mills J.R., Marcou C.A., Schneider A.R., Tu Z.J., Henry M.R., Levy M.J. Assessment of pancreatic neuroendocrine tumor cytologic genotype diversity to guide personalized medicine using a custom gastroenteropancreatic next-generation sequencing panel. *Oncotarget.* 2017; 8 (55): 93464–93475. DOI: 10.18632/oncotarget.18750.
10. Jiao Y., Yonescu R., Offerhaus G.J., Klimstra D.S., Maitra A., Eshleman J.R., Herman J.G., Poh W., Pelosof L., Wolfgang C.L., Vogelstein B., Kinzler K.W., Hruban R.H., Papadopoulos N., Wood L.D. Whole-exome sequencing of pancreatic neoplasms with acinar differentiation. *J. Pathol.* 2014; 232 (4): 428–435. DOI: 10.1002/path.4310.
11. Niida Y., Wakisaka A., Tsuji T., Yamada H., Kuroda M., Mitani Y., Okumura A., Yokoi A. Mutational analysis of TSC1 and TSC2 in Japanese patients with tuberous sclerosis complex revealed higher incidence of TSC1 patients than previously reported. *J. Hum. Genet.* 2013; 58 (4): 216–225. DOI: 10.1038/jhg.2013.3.

#### Вклад авторов

Кит О.И. – анализ научной работы, критический пересмотр содержания. Трифанов В.С. – лечащий врач, разработка концепции, написание рукописи статьи. Тимошкина Н.Н. – составление черновика рукописи, проведение молекулярно-генетических исследований. Колесников Е.Н. – разработка концепции и планирование лечения. Гвалдин Д.Ю. – проведение молекулярно-генетических исследований, биоинформационный анализ данных. Карнаухов Н.С. – анализ морфологического материала. Кутилин Д.С. – биоинформационный анализ NGS-данных. Мещерякова М.Ю. – составление черновика рукописи, подготовка иллюстраций.

#### Сведения об авторах

Кит Олег Иванович, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, генеральный директор НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-3061-6108.

Трифанов Владимир Сергеевич, канд. мед. наук, врач-хирург, отделение абдоминальной онкологии № 1, вед. науч. сотрудник, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону.

**Тимошкина Наталья Николаевна**, канд. биол. наук, зав. лабораторией молекулярной онкологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0001-6358-7361.

**Колесников Евгений Николаевич**, канд. мед. наук, зав. отделением абдоминальной онкологии № 1, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0001-9749-709X.

**Гвалдин Дмитрий Юрьевич**, канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону.

**Карнаухов Николай Сергеевич**, канд. мед. наук, зав. патологоанатомическим отделением, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-0889-2720.

**Кутилин Денис Сергеевич**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-8942-3733.

**Мещерякова Милана Юрьевна**, студентка, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону.

(✉) **Трифанов Владимир Сергеевич**, e-mail: trifan1975@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## Цефалгический синдром на фоне системного мастоцитоза. Клинический случай

Кузнецова П.И.<sup>1</sup>, Танашян М.М.<sup>1</sup>, Меликян А.Л.<sup>2</sup>, Суборцева И.Н.<sup>2</sup>, Раскуражев А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научный центр неврологии  
Россия, 123367, г. Москва, Волоколамское шоссе, 80

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) гематологии  
Россия, 125167, г. Москва, Новый Зыковский пр., 4

### РЕЗЮМЕ

Приведен клинический случай коморбидной патологии – развития мигрени на фоне системного мастоцитоза. Приводятся классификация, клинические проявления системного мастоцитоза – редкого клонального заболевания крови.

Данный клинический случай иллюстрирует пример избыточной дегрануляции тучных клеток (с выделением провоспалительных и вазодилатирующих агентов в результате патологии мастоцитов). В связи с этим, помимо патогенетической терапии системного мастоцитоза (включающей профилактику дегрануляции тучных клеток), нам представляется также важным отразить эффективность и возможность назначения профилактической и экстренной терапии мигрени на фоне основного гематологического заболевания – системного мастоцитоза.

Терапия головной боли у пациентов с мастоцитозом представляет собой сложную клиническую задачу, в решении которой необходимо учитывать серьезные ограничения в назначении ацетилсалициловой кислоты и других нестероидных противовоспалительных препаратов.

**Ключевые слова:** цефалгический синдром, мигрень, аура, тучные клетки, системный мастоцитоз.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Для публикации данного клинического случая было получено письменное согласие пациента. Исследование одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 11-3/19 от 20.11.2019).

**Для цитирования:** Кузнецова П.И., Танашян М.М., Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Раскуражев А.А. Цефалгический синдром на фоне системного мастоцитоза. Клинический случай. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 239–244. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-239-244>.

## Cephalalgia against the background of systemic mastocytosis: a clinical case

Kuznetsova P.I.<sup>1</sup>, Tanashyan M.M.<sup>1</sup>, Melikyan F.I.<sup>2</sup>, Subortseva I.N.<sup>2</sup>, Raskurazhev A.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Center of Neurology

80, Volokolamskoe Highway, Moscow, 123367, Russian Federation

<sup>2</sup>National Research Center for Hematology

4, New Zykovsky Av., Moscow, 125167, Russian Federation

### ABSTRACT

The article presents a clinical case of comorbid pathology – development of migraine against the background of systemic mastocytosis. The classification and clinical manifestations of systemic mastocytosis, a rare blood disease, are given.

This clinical case illustrates an example of excessive mast cell degranulation (with the release of proinflammatory and vasodilating agents as a result of mast cell pathology). In this regard, in addition to the pathogen-specific therapy for systemic mastocytosis (including prevention of mast cell degranulation), it seems important to describe the effectiveness and the possibility of prescribing preventive and emergency therapy for migraine against the background of the underlying hematological disease – systemic mastocytosis.

Treatment of cephalalgia in patients with mastocytosis is a complex clinical task, in the solution of which it is necessary to take into account serious limitations in prescription of acetylsalicylic acid and other non-steroidal anti-inflammatory drugs.

**Key words:** cephalalgia, migraine, aura, mast cells, systemic mastocytosis.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** The patient's written consent was obtained for the publication of this clinical case. The study was approved by the local Ethics Committee (Protocol No. 11-3/19 of 20.11.2019).

**For citation:** Kuznetsova P.I., Tanashyan M.M., Melikyan F.I., Subortseva I.N., Raskurazhev A.A. Cephalalgia against the background of systemic mastocytosis: a clinical case. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 239–244. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-239-244>.

## ВВЕДЕНИЕ

Цефалгический синдром часто сопровождает течение различных патологических процессов. Алгоритм обследования пациента с головной болью (ГБ), согласно отечественным и международным клиническим рекомендациям, складывается из анамнеза, клиники и исключения вторичных причин головной боли, а также данных дополнительного инструментального исследования. Особенно важным является исключение этих причин при появлении «сигналов опасности» – маркеров, указывающих на необходимость проведения дополнительного обследования. Это впервые возникшая ГБ после 50 лет, «громоподобная ГБ», прогрессивно ухудшающаяся, атипичная для пациента, если сопутствуют неврологические симптомы, признаки внутричерепной гипертензии [1–3].

Цефалгический синдром нередко ассоциируется с гигантоклеточным височным артериитом, транзиторными ишемическими атаками, инсультом, опухолями головного мозга, тромбозами венных синусов, субарахноидальным кровоизлиянием, эпилепсией, митохондриальной энцефалопатией с лактатацидозом и инсультоподобными эпизодами (mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes – MELAS), церебральной ауто-сомно-доминантной артериопатией с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy – CADASIL), диссекцией магистральных артерий головы, цервикалгией и другими заболеваниями [2].

В данной статье приведен собственный опыт терапии цефалгического синдрома у пациентки с верифицированным диагнозом «мастоцитоз».

Мастоцитоз – редкое клональное заболевание крови, представляющее собой пролиферацию тучных клеток (ТК) (мастоцитов) [4]. Мастоциты впервые были описаны в 1863 г. Фредериком Реклингаузенем (1833–1910) [5], играют ключевую роль не только в аллергических реакциях, но и в иммунном ответе. Предпосылками для развития мастоцитоза является появление клональных тучных клеток с мутацией D816V в гене *c-KIT*. Продукт данного гена – трансмембранный рецептор тирозинкиназы CD117 для фактора роста тучных клеток, при этом нарушение рецепторного аппарата ведет к опухолевой трансформации и ингибированию апоптоза.

Заболевание встречается среди взрослого и детского населения, характеризуется ростом, активацией и накоплением мастоцитов в различных органах и тканях. При избыточном накоплении ТК в кожных покровах (так называемый кожный мастоцитоз) пациенты могут долгие годы находиться с диагнозом «атопический дерматит» под наблюдением дерматологов и аллергологов [6]. Другой вариант течения: скопление ТК в иных областях (костной системе, желудочно-кишечном тракте, печени, селезенке, центральной нервной системе), что характерно для «системного мастоцитоза». Согласно критериям Всемирной организации здравоохранения (2016), мастоцитоз может быть разделен на несколько подтипов: кожный мастоцитоз, индолентный (вялотекущий) системный мастоцитоз, тлеющий системный мастоцитоз, системный мастоцитоз с ассоциированным гематологическим заболеванием не тучных клеток, агрессивный системный мастоцитоз, тучноклеточный лейкоз, саркома тучных клеток.

Кожная форма мастоцитоза у детей в 80% случаев самостоятельно регрессирует после пубертатного периода без применения каких-либо специфических схем лечения. Целью данной статьи не является подробное обсуждение критериев установления диагноза системного мастоцитоза. Отметим лишь, что существуют большие критерии: мультифокальные плотные инфильтраты, состоящие из ТК (15 и более в агрегате), определяемые в биоптате костного мозга и (или) других органов. Малые критерии: в биоптатах костного мозга или других органов более 25% ТК, расположенных в инфильтрате, имеют веретенообразную форму или атипичную морфологию, либо более 25% всех ТК в мазках, полученных из аспирата костного мозга, являются незрелыми или атипичными; мутация D816V в гене *c-KIT*, мастоциты в костном мозге или органах экспрессируют CD2 и (или) CD25, уровень триптазы сыворотки выше 20 мкг/л. Диагноз правомочен при наличии одного большого и одного малого или трех малых критериев [7].

Типичные симптомы мастоцитоза – крапивница, кожный зуд, ринорея, тошнота, диспепсические проявления, неспецифические проявления со стороны легочной системы (хрипы, одышка). Со стороны нервной системы самым частым проявлением системного мастоцитоза является головная боль [8, 9]. Разнообразная клиническая картина обусловлена пароксизмальной дегрануляцией ТК в ткани или системном кровотоке, в результате чего развиваются ринорея, зуд, синкопы, диарея, цефалгия.

Существует достаточное количество исследований, отражающих связь между развитием мигрени у пациентов и патологией мастоцитов, поэтому коррекция цефалгического синдрома остается важнейшим аспектом в терапии пациентов с мастоцитозом [10].

Роль ТК в патофизиологическом процессе при мигрени широко изучается [11]. Такие пептиды, как кальцитонин-ген-связанный пептид, хемокин А, нейротензин, эпифиз-аденилатциклаза-активирующий пептид, субстанция Р, активируют ТК, высвобождая вазоактивные, провоспалительные медиаторы, которые в конечном итоге ведут к развитию цефалгического синдрома. В ответ на активность кортикотропин-релизинг гормона ТК секретируют провоспалительные, вазодилатирующие молекулы (интерлейкин 6, сосудистый эндотелиальный ростовой фактор, оксид азота, гистамин). Подобная патологическая цепочка развивается в результате стрессовых факторов, играющих не последнюю роль в развитии мигренозных приступов. Известно, что в патогенезе мигрени также принимает участие вазодилатация экстрацеребральных сосудов и *cortical spreading depressing* (распространяющаяся корковая депрессия), которая объясняет часть из симптомов ауры [12].

В клинике Мэйо провели ретроспективное исследование связи головной боли и активности тучных клеток. В него вошли 64 пациента с установленным диагнозом «системный мастоцитоз» (7), из которых цефалгический синдром отмечался у 36 пациентов (56,2%). Из них 21 пациент являлся носителем мутации D816V в гене *c-KIT* (обследовали 28 человек), головную боль определяли согласно Международным критериям головной боли [13]. У пациентов, страдавших мигренью и другими видами головной боли в клинической картине, отмечались (на фоне приступа) следующие симптомы: покраснение, местное повышение температуры, тяжесть в груди, боли в животе. Данный симптомокомплекс позволил предположить авторам исследования связь между активацией тучных клеток и развитием цефалгического синдрома. Также в данной работе авторы отме-

чали пятикратное увеличение распространенности ауры по сравнению с общей популяцией [14].

Определенные трудности представляет назначение лечения пациентам с мастоцитозом – достаточно большое число лекарственных препаратов могут являться триггерами активации тучных клеток (вплоть до развития анафилактического шока), и потому ограничены к применению у этой когорты больных. К ним относятся (в числе прочих) нестероидные противовоспалительные препараты, антибиотики (ванкомицин, полимиксин), витамин В1 (тиамин).

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка Р., 45 лет, обратилась в научно-консультативное отделение ФГБНУ «Научный центр неврологии» с жалобами на приступы головной боли, преимущественно в правой половине головы, длительностью от нескольких часов до 2–3 сут, перед приступом пациентка отмечала (не всегда) рябь перед глазами, иногда яркие вспышки. Приступы головной боли часто провоцировались приемом вина. Частота приступов варьировала от 1–2 раз/мес до 2–3 раз/нед в зависимости от времени года (зимой чаще). Для купирования принимала метамизол натрия, триптаны (без эффекта). При дополнительном расспросе выяснилось, что триптаны принимались в период развернутого болевого приступа (чем может объясняться их неэффективность).

Из анамнеза известно, что пациентка с 1998 г. наблюдалась у дерматологов по поводу кожного мастоцитоза. В 2013 г. обратилась в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, где было проведено обследование. В биоптате кожи морфологическая картина и иммунофенотип (в верхних слоях дермы вытянутые клетки экспрессируют CD117, CD25, Tryptase) соответствуют диагнозу «мастоцитоз».

При молекулярно-генетическом исследовании периферической крови выявлена мутация D816V в гене *c-KIT*. Уровень триптазы сыворотки крови – 16,9 мкг/мл (норма – менее 11 мкг/л). При гистологическом исследовании трепанобиоптата данных за поражение костного мозга не получено. По данным ультразвукового исследования размеры печени, селезенки, лимфатических узлов – в пределах нормы. Показатели общего анализа крови – в пределах нормы (гемоглобин 141 г/л; эритроциты  $4,63 \times 10^{12}/л$ ; тромбоциты  $235 \times 10^9/л$ ; лейкоциты  $8,63 \times 10^9/л$ ). В коагулограмме – нормокоагуляция (активированное частичное тромбопластиновое время 25,3 с; протромбиновый индекс по Квику 92%; фибриноген 3,3 г/л); агрегация тромбоцитов с аденозиндифосфатом (АДФ) – 73%; ристомидином – 86%; коллаген-

ном – 84%. Пациентка получала симптоматическую терапию: кромогликат натрия, кетотифен при появлении кожного зуда. За время наблюдения отмечала появление новых макулопапулезных высыпаний красного и коричневого цвета на коже бедер, голеней, кистей, шеи. Симптом Дарье – положительный. Превалирующим симптомом в клинической картине была головная боль.

В связи с появлением жалоб на головные боли и доминированием цефалгического синдрома в клинической картине было рекомендовано обратиться в ФГБНУ «Научный центр неврологии». В *общесоматическом статусе* – сниженный индекс массы тела ( $17 \text{ кг}/\text{м}^2$ ), склонность к артериальной гипотонии (100/60 мм рт. ст.), частота сердечных сокращений 59 уд. в мин.

*Неврологический статус.* Сознание ясное, ориентирована в месте, времени и собственной личности правильно. Эмоциональный фон: несколько лабильна. Менингеальные симптомы отсутствуют. Черепные нервы: интактны. Парезов нет, сухожильные и периостальные рефлексы оживлены, симметричны. Четких расстройств чувствительности нет. Патологических стопных знаков нет. Пальце-носовую пробу выполняет с дискоординацией с обеих сторон. В позе Ромберга легкое пошатывание. Субъективная оценка головной боли по визуальной-аналоговой шкале – 7 баллов.

*Данные инструментальных и лабораторных методов исследования.* Магнитно-резонансная томография головного мозга: определяется единичный очаг в правой лобной области сосудистого генеза (мигренозный очаг?); остальные отделы – без патологии. Электроэнцефалография: неспецифические признаки дисфункции биоэлектрической активности мозга, дисфункция диэнцефальных структур. Дуплексное сканирование магистральных артерий головы: без патологии.

Общий (клинический), биохимический анализы крови – в пределах нормы, в коагулограмме – нормокоагуляция. По данным агрегации тромбоцитов отмечается увеличение их агрегационных свойств: с аденозиндифосфатом (АДФ) – 50 (37–43)%; адреналином – 48 (40–46)%.

Учитывая клинические проявления, данные инструментальных методов исследования, поставлен диагноз «мигрень с аурой». Было принято решение о назначении в терапевтических дозах трициклических антидепрессантов (амитриптилин 50 мг/сут). В качестве базовой терапии мы отказались от назначения кальциевых и бета-блокаторов (учитывая тенденцию к гипотонии и брадикардии). Таким образом, выбор пал на кофеин-содержащий комби-

нированный препарат, обладающий также антиагрегантными свойствами.

Напомним, назначение ацетисалициловой кислоты при мастоцитозе недопустимо ввиду высокого риска развития анафилаксии. В дополнение рекомендовали прием триптанов для купирования приступов (с комментарием о необходимости приема в первые минуты развития приступа или в течение ауры). Через 3 нед была отмечена положительная динамика в виде снижения частоты и интенсивности приступов. За время наблюдения отмечался единичный приступ. Повторный анализ крови (через 3 нед) агрегации тромбоцитов с адреналином и АДФ показал существенное снижение агрегационных свойств последних (34 и 38% соответственно), что говорит о важном вкладе антиагрегационной терапии в профилактике цефалгического синдрома.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важным аспектом неврологической практики является ведение коморбидных пациентов с цефалгическим синдромом. Одним из основных пунктов в терапии головных болей (равно, как и основного заболевания) на фоне мастоцитоза является предупреждение активации мастоцитов (дегрануляции цитоплазматических компартментов с выделением гистамина, простагландинов, интерлейкинов и т.д.), которые приводят к разнообразной клинической картине, в том числе развитию мигренозного приступа. Пациентам следует избегать перегревания (бани, сауны), инсоляции, соблюдать строгую диету, исключая морепродукты (особенно креветки, лобстеры, крабы, икру), алкоголь, шоколад, тирамин-содержащие продукты (сыры, орехи, злаковые, бобовые), консервы. Подобные ограничения эффективны и в отношении профилактики частоты приступов мигрени [15].

## ЛИТЕРАТУРА

- Steiner T.J., Paemeleire K., Jensen R., Valade D., Savi L., Lainez M., Diener G., Martelletti P. European principles of management of common headache disorders in primary care. *J. Headache Pain*. 2007; 8 (1): S3–47. DOI: 10.1007/s10194-007-0366-y.
- Осипова В.В., Филатова Е.Г., Артеменко А.Р., Лебедева Е.Р., Азимова Ю.Э., Латышева Н.В., Сергеев А.В., Амелин А.В., Корешкина М.И., Скоробогатых К.В., Екушева Е.В., Наприенко М.В., Исагулян Э.Д., Рачин А.П., Данилов Ал.Б., Курушина О.В., Парфенов В.А., Табеева Г.Р., Гехт А.Б., Яхно Н.Н. Диагностика и лечение мигрени: рекомендации российских экспертов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2017; 117 (1): 28–42. DOI: 10.17116/jnevro20171171228-42.
- Осипова В.В., Азимова Ю.Э., Табеева Г.Р., Тарасова С.А., Амелин А.В., Куцемелов И.В., Молдовану И.В., Одобеску С.С., Наумова Г.И. Диагностика головных болей в России и странах постсоветского пространства: состояние проблемы и пути ее решения. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2012; 6 (2): 16–21.
- Akin C., Metcalfe D.D. Systemic mastocytosis. *Annu. Rev. Med.* 2004; 55 (1): 419–432. DOI: 10.1146/annurev.med.55.091902.103822.
- Recklinghausen F von. Über Eiter und Bindegewebskörperchen. *Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.* 1863; (28): 157–197.
- Castells M., Austen K.F. Mastocytosis: mediator-related signs and symptoms. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2002; 127 (2): 147–152. DOI: 10.1159/000048188.
- Valent P., Akin C., Metcalfe D.D. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood*. 2017; 129 (11): 1420–1427. DOI: 10.1182/blood-2016-09-731893.
- Scully R.E., Mark E.J., McNeely W.F., Ebeling S.H., Phillips L.D. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 20-1997. A 74-year-old man with progressive cough, dyspnea, and pleural thickening. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336 (26): 1895–1903. DOI: 10.1056/NEJM199706263362608.
- Georgin-Lavialle S., Gaillard R., Moura D., Hermine O. Mastocytosis in adulthood and neuropsychiatric disorders. *Transl. Res.* 2016; 174: 77–85.e1. DOI: 10.1016/j.trsl.2016.03.013.
- Hermine O., Lortholary O., Leventhal P.S., Catteau A., Soppelsa F., Baude C., Lortholary O., Leventhal P.S., Catteau A., Soppelsa F., Cohen-Akenine A., Palmérini F., Hanssens K., Yang Y., Sobol H., Fraytag S., Ghez D. et al. Case-control cohort study of patients' perceptions of disability in mastocytosis. *PLoS One*. 2008; 3 (5): e2266. DOI: 10.1371/journal.pone.0002266.
- Theoharides T.C., Donelan J., Kandere-Grzybowska K., Konstantinidou A. The role of mast cells in migraine pathophysiology. *Brain Res. Rev.* 2005; 49 (1): 65–76. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2004.11.006.
- Spierings E.L.H. Pathogenesis of the migraine attack. *Clin. J. Pain*. 2003; 19 (4): 255–262. DOI: 10.1097/00002508-200307000-00009.
- The International classification of headache disorders; 2nd ed. *Cephalalgia*. 2004; 24 (1): 9–160. DOI: 10.1111/j.1468-2982.2003.00824.x.
- Smith J.H., Butterfield J.H., Cutrer F.M. Primary headache syndromes in systemic mastocytosis. *Cephalalgia*. 2011; 31 (15): 1522–1531. DOI: 10.1177/0333102411421683.
- Melikian A.L., Subortseva I.N., Goriacheva S.R., Kolosheina T.I., Vakhrusheva M.V., Kovrigina A.M. et al. Mastocytosis. Review of the literature and description of clinical cases. *Ter. Arkh.* 2014; 86 (12): 127–134. DOI: 10.17116/terarkh20148612127-134.

## Сведения об авторах

**Кузнецова Полина Игоревна**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, 1-е неврологическое отделение, Научный центр неврологии, г. Москва. ORCID 0000-0002-4626-6520.

**Танашян Маринэ Мовсесовна**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зам. директора по научной работе, зав. 1-м неврологическим отделением, Научный центр неврологии, г. Москва. ORCID 0000-0002-5883-8119.

**Меликян Анаит Левоновна**, д-р мед. наук, зав. отделением стандартизации методов лечения, НМИЦ гематологии, г. Москва. ORCID 0000-0002-2119-3775.

**Суборцева Ирина Николаевна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение стандартизации методов лечения, НМИЦ гематологии, г. Москва. ORCID 0000-0001-9045-8653.

**Раскуражев Антон Алексеевич**, канд. мед. наук, науч. сотрудник, 1-е неврологическое отделение, Научный центр неврологии, г. Москва. ORCID 0000-0003-0522-767X.

(✉) **Кузнецова Полина Игоревна**, e-mail: kuznetsova@neurology.ru

Поступила в редакцию 02.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

## К юбилею академика РАН Леонида Семеновича Барбараша

*Посвящается 80-летию со дня рождения основателя Кузбасского кардиологического центра (г. Кемерово) и созданного на его базе Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний Л.С. Барбараша.*



**Леонид Семенович Барбараш** (род. 22 июня 1941 г.) – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный врач РФ, кардиохирург высочайшего класса, основатель Кузбасского кардиологического центра (г. Кемерово), педагог, ученый, руководитель. Разносторонность знаний и интересов стало базисом для дальнейшего поступательного развития кардиологии и кардиохирургии в Кузбассе. Принцип организации научно-клинического центра, объединяющего несколько клинических и научных направлений, доказал свою жизнеспособность и эффективность.

Благодаря организаторскому таланту Л.С. Барбараша, в Кузбассе разработана и активно существует уникальная для России инновационная клинико-

организационная модель замкнутого технологического цикла помощи больным с болезнями системы кровообращения. Суть ее – в едином стратегическом управлении и объединении уровней оказания помощи пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями – от амбулаторного звена до центра высоких технологий и реабилитации. Качества ученого, врача, учителя позволили сформировать коллектив высококлассных врачей и ученых – кардиологов, кардиохирургов, анестезиологов-реаниматологов, специалистов по функциональной диагностике с привлечением в команду инженеров, химиков, математиков, биологов.

В 1987 г. Л.С. Барбараш первым за Уралом выполнил операцию аортокоронарного шунтирования в сочетании с протезированием аортального клапана, затем – первую операцию при аневризме восходящей аорты. Поставил на поток высокотехнологичные операции пациентам с болезнями системы кровообращения. Впервые в мире Леонид Семенович и его ученики создали, внедрили в серийное производство и практику сердечно-сосудистых клиник принципиально новое поколение эпоксиобработанных биопротезов. Результатом исследований в области разработки оригинальных моделей биологических протезов клапанов сердца и сосудов стало создание в 1987 г. предприятия по производству биопротезов клапанов сердца – ЗАО «Неокор». Под руководством Л.С. Барбараша в 2001 г. создана Научно-производственная проблемная лаборатория реконструктивной хирургии сердца и сосудов с клиникой, преобразованная в 2009 г. в Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

За заслуги в области здравоохранения и многолетний добросовестный труд Л.С. Барбараш имеет ряд почетных наград и званий. Коллектив под руководством Л.С. Барбараша заслуженно отмечен Европейской ассоциацией кардиоторакальных хирургов – премией Уолтона Лиллехая (1997). Л.С. Барбараш является лауреатом Премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники (2001);

---

Премии имени А.Н. Бакулева (2004) – за создание современного кардиохирургического Центра и большой личный вклад в проблему биопротезирования.

Лауреат Национальной премии «Призвание» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации в 2005 г. – за инновационные разработки в области биопротезирования для сердечно-сосудистой хирургии и в 2007 г. в номинации «За создание нового метода лечения» – за создание уникальных отечественных биологических протезов клапанов сердца и особого метода их консервации.

Л.С. Барбараш награжден орденом Почета (2007). Удостоен званий «Почетный гражданин Кемеров-

ской области» (2006), «Герой Кузбасса» (2013), «Почетный работник науки и высоких технологий РФ» (2019).

Уже более 45 лет академик Барбараш передает свои знания студентам, клиническим ординаторам и аспирантам, молодым врачам. Леонид Семенович – автор более 700 научных работ, в том числе 15 монографий и книг, а также более 70 изобретений и полезных моделей. Под его руководством защищено 14 докторских и 30 кандидатских диссертаций.

*С юбилеем,  
уважаемый Леонид Семенович!*

# НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ КОНФЕРЕНЦИИ СИБГМУ В 2021 г.

## Всероссийская научно-практическая конференция

### ТИПОВЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ: СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕНДЫ В НАУКЕ

Посвящена 130-летию старейшей в азиатской части России кафедры патофизиологии Императорского (государственного) Томского университета – Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета и 75-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, академика РАН Вячеслава Викторовича Новицкого.

#### МЕРОПРИЯТИЯ В РАМКАХ КОНФЕРЕНЦИИ

- выступления выдающихся российских ученых с академическими лекциями;
- пленарные и устные доклады ученых – ведущих специалистов в области патологии и патологической физиологии;
- обсуждение новых подходов в преподавании патофизиологии в российских вузах и инноваций в высшем образовании;
- музейный час об истории научно-медицинских школ СибГМУ.

**Время проведения: 7–8 сентября 2021 г.**

**Место проведения: СибГМУ, г. Томск, Московский тракт, 2..**

[e-mail: kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru](mailto:kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru)

Информация о доступе к онлайн-трансляции мероприятий конференции будет размещена 15 августа 2021 г. на сайте СибГМУ на странице кафедры патофизиологии по ссылке <https://www.ssmu.ru/ru/obrazovanie/departments/patfiz/>

Персональная информация о доступе на площадку проведения конференции для удаленных почетных гостей и участников с онлайн-докладами будет разослана дополнительно.



## НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ КОНФЕРЕНЦИИ СИБГМУ В 2021 г.

### Международная научно-практическая конференция



### РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ – ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Посвящена знаковым датам в истории развития ведущей в Сибири школы фармацевтического образования и науки:

- 100 лет со дня рождения выдающегося фармаколога, доктора медицинских наук, профессора Альберта Самойловича Саратикова;
- 100 лет со дня рождения известного ботаника и фармакогноста, доктора биологических наук, профессора Тамары Павловны Березовской;
- 80 лет фармацевтическому факультету;
- 75 лет со дня рождения декана фармацевтического факультета СибГМУ, доктора фармацевтических наук, профессора Степана Евгеньевича Дмитрука, внесшего значительный вклад в развитие фармацевтического образования.

#### НАУЧНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ КОНФЕРЕНЦИИ

- Фармацевтическая разработка.
- Природные соединения – источник новых лекарственных средств.
- Актуальные вопросы экспериментальной и клинической фармакологии.

К участию приглашаются студенты, аспиранты и молодые ученые российских и зарубежных вузов и академических институтов.

Время проведения: 13–16 сентября 2021 г.

Место проведения: СибГМУ, г. Томск, Московский тракт, 2.

Конференция будет аккредитована в системе НМФО.

Сайт: [conf.ssmu.ru/ddtp](http://conf.ssmu.ru/ddtp)

---

### Всероссийская научно-практическая конференция



### ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

Посвящена 130-летию кафедры офтальмологии  
Сибирского государственного медицинского университета

Время проведения: 16–17 сентября 2021 г.

Место проведения: СибГМУ, г. Томск, Московский тракт, 2.

Конференция проводится под эгидой Общества офтальмологов России.

#### НАУЧНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ КОНФЕРЕНЦИИ

- Фундаментальные исследования в офтальмологии.
- Современные принципы диагностики в офтальмологии.
- Актуальные тенденции лечения патологии органа зрения.

Конференция будет аккредитована в системе НМФО.

[e-mail: Confophthalm2021@mail.ru](mailto:Confophthalm2021@mail.ru)