

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 20

№ 3. 2021



7 сентября 2021 г.



Кафедра патофизиологии. 2021 г.



23 августа
2021 г.



Открытие горельефа В.В. Новицкого. 7 сентября 2021 г.

РЕКТОР НАВСЕГДА

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 20, № 3, 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

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 28.09.2021 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 29,5. Усл. печ. л. 29,0.
Тираж 500 экз. Заказ 621.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 30.09.2021.

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. Алифиров, *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)*
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. Степовая, *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. 3, 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

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 28.09.2021
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.l. 29,5. C.p.l. 29,0.
500 copies. Odder no 621.

The price – free.
Date of publication 30.09.2021.

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

© Siberian State Medical University, 2021

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)*
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
Бирulina Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Трубачева О.А., Петрова И.В., Гречишникова А.Ю., Носарев А.В., Гусакова С.В. Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на клетки крови крыс	Birulina J.G., Ivanov V.V., Buyko E.E., Trubacheva O.A., Petrova I.V., Grechishnikova A.Yu., Nosarev A.V., Gusakova S.V. Effects of a high-fat, high-carbohydrate diet on blood cells of rats
Ванеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Лучинин А.С., Самарина С.В., Кочетов Н.Л. Значение экспрессии pAKT1 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме	Vaneeva E.V., Rosin V.A., Diakonov D.A., Luchinin A.S., Samarina S.V., Kochetov N.L. The role of pAKT1 expression in diffuse large B-cell lymphoma
Ветлугина Т.П., Епимахова Е.В., Савочкина Д.Н., Плотников Е.В., Бойко А.С., Иванова С.А., Бохан Н.А. Оценка влияния солей лития на продукцию цитокинов клетками крови в опытах <i>in vitro</i>	Vetlugina T.P., Epimakhova E.V., Savochkina D.N., Plotnikov E.V., Boiko A.S., Ivanova S.A., Bokhan N.A. Estimation of the effect of lithium salts on cytokine production by blood cells in <i>in vitro</i> experiments
Гельцер Б.И., Сергеев Е.А., Котельников В.Н., Силаев А.А., Карпов Р.С. Гемодинамический статус пациентов с различными вариантами коморбидности ишемической болезни сердца до и после коронарного шунтирования	Geltser B.I., Sergeev E.A., Kotelnikov V.N., Silaev A.A., Karpov R.S. Hemodynamic status of patients with different comorbidities of ischemic heart disease before and after coronary artery bypass grafting
Казаков С.Д., Королева Е.С., Бразовская Н.Г., Зайцев А.А., Иванова С.А., Алифирова В.М. Оценка уровня сывороточного BDNF при комплексной реабилитации пациентов с ишемическим инсультом с использованием традиционных подходов к восстановлению моторных функций	Kazakov S.D., Koroleva E.S., Brazovskaya N.G., Zaytsev A.A., Ivanova S.A., Alifirova V.M. Assessment of serum BDNF levels in complex rehabilitation of patients with ischemic stroke using traditional approaches to the restoration of motor functions
Кит О.И., Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Черярина Н.Д., Шихлярова А.И., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Немашкалова Л.А. Влияние варианта развития меланомы B16/F10 на содержание Bcl-2 в митохондриях клеток различных органов самок мышей	Kit O.I., Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Cheryarina N.D., Shikhlyarova A.I., Surikova E.I., Kaplieva I.V., Nemashkalova L.A. Influence of a B16/F10 melanoma variant on the Bcl-2 levels in mitochondria in various organs of female mice
Клюев Е.А., Шейко Г.Е., Дунаев М.Г., Лобанова Е.В., Растеряева М.В., Шарабрин Е.Г. Нейровизуализационные особенности строения головного мозга у детей с детским церебральным параличом, полученные методом магнитно-резонансной трактографии	Klyuev E.A., Sheiko G.E., Dunaev M.G., Lobanova E.V., Rasteryaeva M.V., Sharabrin E.G. Neurovisualization features of brain anatomy in children with spastic cerebral palsy revealed by magnetic resonance tractography
Комар А.А., Скуратовская Д.А., Вульф М.А., Ву Х.К., Даринская А., Газатова Н.Д., Тодосенко Н.М., Затолокин П.А., Кириенкова Е.В., Литвинова Л.С. Влияние sTNFSF14 на митохондриальную динамику в печени у пациентов с ожирением	Komar A.A., Skuratovskaia D.A., Vulf M.A., Vu H.Q., Darinskas A., Gazatova N.D., Todosenko N.M., Zatolokin P.A., Kirienkova E.V., Litvinova L.S. The role of sTNFSF14 in the liver mitochondrial dynamics in obese patients

Лебедев Д.А., Лаевская М.Ю., Бабенко А.Ю. Маркеры фиброза и эхокардиографические параметры у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа в зависимости от уровня альбуминурии	72	Lebedev D.A., Laevskaya M.Yu., Babenko A.Yu. Fibrosis biomarkers and echocardiographic parameters in patients with type 2 diabetes depending on the degree of albuminuria
Осипова Н.Н., Бардеништейн Л.М., Алешкина Г.А., Дмитриева Е.В. Структура аффективных колебаний в неклинической выборке	79	Osipova N.N., Bardenstein L.M., Aleshkina G.A., Dmitrieva E.V. The structure of affective fluctuations in a non-clinical sample
Прокудина Е.С., Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Курбатов Б.К., Мухомедзянов А.В., Шипулин В.В., Крылатов А.В., Цибульников С.Ю., Воронков Н.С. Роль вегетативной нервной системы в стресс-индуцированном повреждении сердца	88	Prokudina E.S., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Mukhomedyanov A.V., Shipulin V.V., Krylatov A.V., Tsibulnikov S.Yu., Voronkov N.S. The role of the autonomic nervous system in stress cardiomyopathy
Рюмишина Н.И., Кошельская О.А., Кологривова И.В., Харитонова О.А., Насекина К.А., Усов В.Ю. Магнитно-резонансная томографическая оценка абдоминальной жировой ткани и состояние брюшной аорты у пациентов с ишемической болезнью сердца: связь с нарушениями метаболизма	95	Ryumshina N.I., Koshelskaya O.A., Kologrivova I.V., Kharitonova O.A., Nasekina K.A., Ussov V.Yu. MRI assessment of the abdominal adipose tissue and the state of the abdominal aorta in patients with coronary artery disease: association with metabolic disorders
Смирнова О.В., Елманова Н.Г. Роль цитокинов в патогенезе инфекционных осложнений при хирургическом лечении механической желтухи желчнокаменного генеза	105	Smirnova O.V., Elmanova N.G. The role of cytokines in the pathogenesis of infectious complications in surgical treatment of obstructive jaundice of gallstone origin
Украинцев И.И., Счастный Е.Д., Бохан Н.А. Частота встречаемости и клинические характеристики сезонного аффективного расстройства у студентов-медиков старшего курса обучения	112	Ukrainets I.I., Schastnyy E.D., Bokhan N.A. Incidence rate and clinical characteristics of seasonal affective disorders in senior medical students
ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ		REVIEWS AND LECTURES
Андреев К.А., Горбенко А.В., Скирденко Ю.П., Николаев Н.А., Ливзан М.А., Бикбавова Г.Р., Федорин М.М. Приверженность лечению больных воспалительными заболеваниями кишечника	120	Andreev K.A., Gorbenko A.V., Skirdenko Yu.P., Nikolaev N.A., Livzan M.A., Bikbavova G.R., Fedorin M.M. Adherence to treatment in patients with inflammatory bowel disease
Гареев И.Ф., Бейлерли О.А., Измайлов А.А. Потенциал использования микроРНК в судебно-медицинской экспертизе	129	Gareev I.F., Beylerli O.A., Izmailov A.A. The potential use of miRNAs in forensic science
Деева Н.С., Шабалдин А.В., Антонова Л.В. Роль нарушений обмена кальция в индукции иммунной гиперчувствительности при сердечно-сосудистых заболеваниях	141	Deeva N.S., Shabaldin A.V., Antonova L.V. The role of calcium metabolism disorders in induction of hypersensitivity in cardiovascular diseases
Долгушин И.И., Зарипова З.З., Карпова М.И. Роль нейтрофилов в патогенезе ишемического инсульта	152	Dolgushin I.I., Zaripova Z.Z., Karpova M.I. The role of neutrophils in the pathogenesis of ischemic stroke

<i>Климов А.В., Климов В.В., Коваль С.А., Свиридова В.С., Кошкарлова Н.С.</i> Диагностические маркеры локального аллергического ринита	161	<i>Klimov A.V., Klimov V.V., Koval S.A., Sviridova V.S., Koshkarova N.S.</i> Diagnostic markers of local allergic rhinitis
<i>Лапин К.Н., Рыжков И.А., Мальцева В.А., Удуд Е.В.</i> Катетеризация сосудов мелких лабораторных животных при проведении биомедицинских исследований: технологические аспекты метода (обзор)	168	<i>Lapin K.N., Ryzhkov I.A., Maltseva V.A., Udu E.V.</i> Vascular catheterization in small laboratory animals in biomedical research: technological aspects of the method (review article)
<i>Омельчук Е.П., Кутилин Д.С., Димитриади С.Н., Гусарева М.А., Тимошкина Н.Н.</i> Молекулярно-генетические аспекты радиорезистентности рака предстательной железы	182	<i>Omelchuk E.P., Kutilin D.S., Dimitriadi S.N., Gusareva M.A., Timoshkina N.N.</i> Molecular genetic aspects of prostate cancer radioresistance
<i>Савинова А.В., Шнайдер Н.А., Насырова Р.Ф.</i> Генетика семейных форм бокового амиотрофического склероза	193	<i>Savinova A.V., Shnayder N.A., Nasyrova R.F.</i> Genetics of familial amyotrophic lateral sclerosis
<i>Чаулин А.М., Дупляков Д.В.</i> МикроРНК: роль в патофизиологии фибрилляции предсердий и возможности использования в качестве биомаркера	203	<i>Chaulin A.M., Duplyakov D.V.</i> MicroRNA: the role in the pathophysiology of atrial fibrillation and potential use as a biomarker
СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ		CLINICAL CASES
<i>Артюхина Е.А., Дедух Е.В., Яшков М.В., Ревивили А.Ш.</i> Первый опыт использования неинвазивного картирования в режиме реального времени в условиях электрофизиологической лаборатории для лечения желудочковой аритмии	213	<i>Artyukhina E.A., Dedukh E.V., Yashkov M.V., Revishvili A.Sh.</i> The first experience of using non-invasive real-time mapping in an electrophysiology laboratory for treatment of ventricular arrhythmia
<i>Крапошина А.Ю., Демко И.В., Собко Е.А., Гордеева Н.В., Соловьева И.А., Матвеева И.В., Казмерчук О.В., Кацер А.Б., Абрамов Ю.И., Мальчик Н.В.</i> Клинический случай: поражение легких при гранулематозе с полиангиитом	219	<i>Kraposhina A.Yu., Demko I.V., Sobko E.A., Gordeeva N.V., Soloveva I.A., Matveeva I.V., Kazmerchuk O.V., Katser A.B., Abramov Yu.I., Malchik N.V.</i> A clinical case of lung damage in granulomatosis with polyangiitis
<i>Тетенева А.В., Калюжнин В.В., Чернявская Г.М., Беспалова И.Д., Черногорюк Г.Э., Завадовская В.Д., Жогина Т.В., Устюжанина Е.А., Кузин Е.В., Варфоломеева И.А., Седляр О.В., Медикова Е.А., Кошчавцева Ю.И., Потапов К.В., Карзилов А.И., Поровский Я.В., Соловьев М.М.</i> Клинический случай идиопатического легочного фиброза на фоне коморбидной патологии	225	<i>Teteneva A.V., Kalyuzhin V.V., Chernyavskaya G.M., Bepalova I.D., Chernogoryuk G.E., Zavadovskaya V.D., Zhogina T.V., Ustyuzhanina E.A., Kuzin E.V., Varfolomeeva I.A., Sedlyar O.V., Medikova E.A., Koshchavtseva Yu.I., Potapov K.V., Karzilor A.I., Porovsky Ya.V., Solovev M.M.</i> A clinical case of idiopathic pulmonary fibrosis against the background of comorbid pathology
ПАМЯТЬ		MEMORY
К 75-летию со дня рождения Вячеслава Викторовича Новицкого	232	75 th anniversary of the birth of Vyacheslav Novitsky

УДК 612.111.33:591.11:599.323.45
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-6-12>

Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на клетки крови крыс

Бирулина Ю.Г.¹, Иванов В.В.¹, Буйко Е.Е.^{1,2}, Трубачева О.А.^{1,3}, Петрова И.В.¹,
Гречишников А.Ю.¹, Носарев А.В.¹, Гусакова С.В.¹

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

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

³ Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить воздействие высокожировой и высокоуглеводной диеты на эритроциты и тромбоциты крови крыс.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 23 самцах крыс линии Вистар, которые были разделены на контрольную и опытную группу. Крысы контрольной группы находились на стандартной диете. Крысы опытной группы в течение 12 нед получали высокожировую и высокоуглеводную диету. Животным измеряли массу тела, артериальное давление (АД), выполняли глюкозотолерантный тест, определяли гематологические показатели и параметры липидного обмена. Потенциометрическим методом изучали проводимость K_{Ca} -каналов мембраны эритроцитов, турбидиметрическим – агрегационную способность тромбоцитов.

Результаты. Содержание животных на высокожировой и высокоуглеводной диете приводило к ожирению, повышению АД, гипергликемии, снижению толерантности к глюкозе, дислипидемии с выраженной триглицеридемией. У животных опытной группы происходило увеличение количества лейкоцитов, главным образом, за счет гранулоцитов, повышение числа тромбоцитов и их коллаген-индуцированной агрегации. Количественные показатели клеток красной крови крыс опытной группы не отличались от контрольной группы. В ответ на стимуляцию K_{Ca} -каналов мембраны эритроцитов животных экспериментальной группы с помощью Ca^{2+} -ионофора A23187 или редокс-системы наблюдались разнонаправленные изменения мембранного потенциала.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что высокожировая и высокоуглеводная диета приводит к метаболическим и гемореологическим нарушениям, характерным для метаболического синдрома.

Ключевые слова: высокожировая и высокоуглеводная диета, метаболический синдром, ожирение, дислипидемия, клетки крови, K_{Ca} -каналы, агрегация.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (МК-143.2020.4).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (заключение № 8201 от 27.03.2020).

✉ Бирулина Юлия Георгиевна, e-mail: birulina20@yandex.ru

Для цитирования: Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Трубачева О.А., Петрова И.В., Гречишников А.Ю., Носарев А.В., Гусакова С.В. Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на клетки крови крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 6–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-6-12>.

Effects of a high-fat, high-carbohydrate diet on blood cells of rats

Birulina J.G.¹, Ivanov V.V.¹, Buyko E.E.^{1,2}, Trubacheva O.A.^{1,3}, Petrova I.V.¹, Grechishnikova A.Yu.¹, Nosarev A.V.¹, Gusakova S.V.¹

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

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

³ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences (RAS)
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the effects of a high-fat, high-carbohydrate diet on erythrocytes and platelets of rats.

Materials and methods. Male Wistar rats ($n = 23$) were used for the study. The rats were divided into a control group and an *experimental* group. The rats from the control group were fed with standard rat chow. The rats from the experimental group had received a high-fat and high-carbohydrate diet for 12 weeks. In the rats, body weight and blood pressure (BP) were measured, an oral glucose tolerance test was carried out, and hematological and lipid metabolism parameters were analyzed. The conductance of erythrocyte K_{Ca} -channels was measured by the potentiometric method, and platelet aggregation was determined by the turbidimetric method.

Results. Feeding the rats with a high-fat, high-carbohydrate diet for 12 weeks resulted in obesity, BP elevation, hyperglycemia, impaired glucose tolerance, and dyslipidemia with pronounced triglyceridemia. In the experimental group, a rise in the number of leukocytes, mainly due to granulocytes, and an increase in the number of platelets and their collagen-induced aggregation were observed. The red blood cell count in the rats of the experimental group did not significantly differ from that of the control group. In the experimental group, multidirectional changes in the membrane potential were observed in response to the stimulation of the K_{Ca} -channels in the erythrocyte membrane with the Ca^{2+} ionophore A23187 or artificial redox systems.

Conclusion. The obtained data indicate that a high-fat, high-carbohydrate diet leads to metabolic and hemorheological disorders that are typical of metabolic syndrome.

Key words: high-fat, high-carbohydrate diet, metabolic syndrome, obesity, dyslipidemia, blood cells, K_{Ca} -channels, aggregation.

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 Council for Grants of the President of the Russian Federation (MK-143.2020.4).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at SSMU (Protocol No. 8201 of 27.03.2020).

For citation: Birulina J.G., Ivanov V.V., Buyko E.E., Trubacheva O.A., Petrova I.V., Grechishnikova A.Yu., Nosarev A.V., Gusakova S.V. Effects of a high-fat, high-carbohydrate diet on blood cells of rats. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 6–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-6-12>.

ВВЕДЕНИЕ

Метаболический синдром (МС) является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины и представляет собой сочетание мета-

болических, гормональных и гемодинамических нарушений, повышающих риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2]. Наиболее значимыми факторами развития МС считаются абдоминальное ожирение и инсулинорезистентность [3, 4].

В последние годы значительно увеличилось число лиц с ожирением, что и определило возросшую распространенность МС [5, 6].

В настоящее время документально подтверждено, что при МС развиваются различные патологические процессы со стороны системы крови, занимающие важное место в патогенезе многих осложнений кардиоваскулярных заболеваний [7, 8]. В возникновение последних определенным вклад вносят структурно-функциональные нарушения эритроцитов и тромбоцитов. Дезорганизация и модуляция физико-химических свойств эритроцитарной мембраны при метаболических расстройствах ведут к дисрегуляции ее катион-транспортной функции, в которой важная роль принадлежит Ca^{2+} -зависимым калиевым каналам – Gardos-каналам (K_{Ca} -каналам), активность которых обуславливает эритроцитоз красных клеток крови [9], а также их деформируемость [10]. В свою очередь, дислипидемия и системный окислительный стресс при МС [11] вызывают увеличение агрегационной способности тромбоцитов и повышение риска тромбозов [12].

Необходимость выяснения фундаментальных основ гемореологических нарушений и их роли в прогрессировании сердечно-сосудистой патологии при МС требует наличия адекватной экспериментальной модели МС. Одним из распространенных способов моделирования МС у животных является применение специальной диеты. В этом отношении наиболее эффективной оказалась диета с повышенным содержанием жиров и углеводов, при которой у животных воспроизводятся типичные характеристики МС [13, 14].

В связи с этим целью работы явилось изучение влияния экспериментального МС, индуцированного высокожировой и высокоуглеводной диетой, на эритроциты и тромбоциты крови крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная модель МС была создана на самцах крыс линии Вистар (23 крысы, средняя масса $226,5 \pm 20,9$ г, возраст 6 нед). Исследования выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Крысы случайным образом были разделены на контрольную и экспериментальную группу (по 11 и 12 животных соответственно). Крысы контрольной группы находились на стандартной диете (корм «Дельта Фидс», Биопро, Россия, общая калорийность 3 000 ккал/кг). Крысы экспериментальной группы в течение 12 нед получали рацион, содержащий стандартный корм (66%) с добавлением животного жира (17%), фрук-

тозы (17%), холестерина (0,25%), с заменой питьевой воды на 20%-й раствор фруктозы (общая калорийность 4 400 ккал/кг).

В начале и в конце исследования у животных измеряли массу тела и артериальное давление (АД) (Систола, Нейроботикс, Россия). На 12-й нед эксперимента проводили глюкозотолерантный тест (ГТТ) [15], для чего крысам натощак (лишение корма на 12 ч) внутрижелудочно вводили раствор глюкозы в дозе 2 г/кг (D-глюкоза, Sigma-Aldrich, США). В крови, полученной из хвостовой вены крыс, спектрофотометрически определяли концентрацию глюкозы через 0, 15, 30, 60, 90 и 120 мин с помощью ферментативного набора (Chronolab, Испания).

Животных подвергали эвтаназии методом CO_2 -асфиксии через 12 нед после начала эксперимента. Кровь из сердца отбирали в вакуумные пробирки Vacutainer с антикоагулянтами: K_2 ЭДТА (для оценки гематологических и биохимических параметров) или цитрат натрия (для изучения агрегации тромбоцитов). Выделяли печень и висцеральную жировую ткань, взвешивали на аналитических весах и рассчитывали их удельную массу. Гематологические показатели оценивали при помощи автоматического анализатора (BC-2800 Vet, Mindray, Китай). Плазму крови получали путем центрифугирования цельной крови (4 °C, 8 000 g, 6 мин). Показатели липидного спектра в плазме крови животных определяли на автоматическом биохимическом анализаторе (Architect c4000, Abbot, США).

Для исследования активности K_{Ca} -каналов осадок эритроцитов, полученный после центрифугирования, суспендировали в среде инкубации, содержащей 150 mM NaCl, 10 mM глюкозы, 1 mM KCl, 1 mM MgCl_2 . Определяли амплитуду гиперполяризационного ответа (ГО) красных клеток в ответ на добавление 0,5 мкМ Ca^{2+} -ионофора A23187 или системы аскорбат (10 mM) – феназинметосульфат (ФМС, 0,1 mM). Агрегационную способность тромбоцитов крыс исследовали на лазерном анализаторе (220 LA «НПФ Биола», Россия) турбидиметрическим методом. В качестве индуктора агрегации тромбоцитов использовали коллаген (2 мкг/мл). Определяли степень и скорость агрегации по кривой среднего размера агрегатов.

Статистическую обработку данных проводили в программе SPSS Statistics 23. Данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения, представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$), не подчиняющиеся – медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q_1 ; Q_3). Анализ различий между выборками выполняли при помощи t -критерия Стьюдента или U -критерия Манна – Уитни, ста-

статистически значимым считали результат при $p < 0,05$. Взаимосвязь между признаками оценивали при помощи коэффициента парной корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Потребление высокожирового и высокоуглеводного рациона в течение 12 нед вызывало повышение АД, увеличение удельной массы жировой ткани и печени исследуемых животных (табл. 1). Показано, что у крыс экспериментальной группы в 2,5 раза увеличилась удельная масса абдоминального жира, включающего мезентериальную, эпидидимальную и забрюшинную жировую клетчатку.

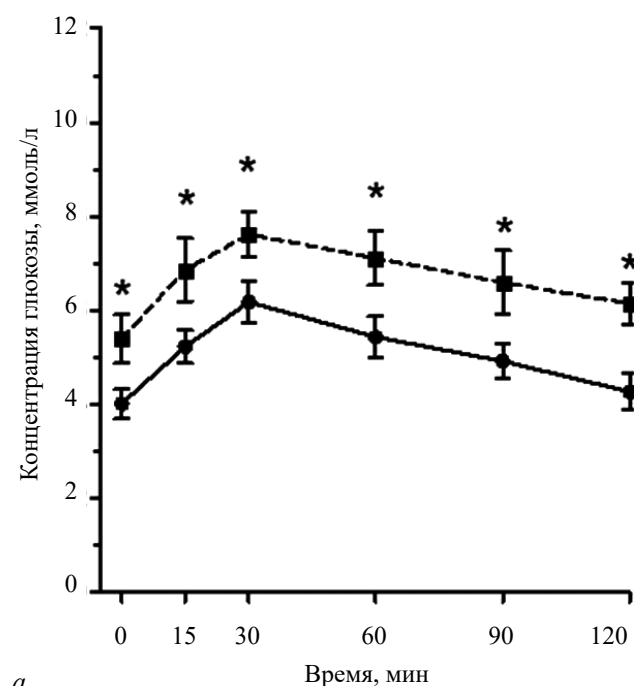
Крысы опытной группы демонстрировали увеличение содержания триацилглицеридов (ТАГ) плазмы крови в 2,5 раза по сравнению с контрольной. Уровень общего холестерина (ХС) в крови животных на фоне диеты с высоким содержанием жиров и углеводов повышался в 1,5 раза. Подобное увеличение уровня общего ХС обусловлено, в большей мере, повышением содержания ХС в атерогенных липопротеинах низкой плотности (ХС-ЛПНП), при этом уровень ХС в липопротеинах высокой плотности (ХС-ЛПВП) не изменялся. Обнаружена прямая взаимосвязь между концентрацией ТАГ и увеличением удельной массы жировой ткани ($r = 0,689$, $p = 0,001$), массы печени ($r = 0,434$, $p = 0,03$), также содержанием общего ХС и удельной массой печени ($r = 0,418$, $p = 0,04$). Также у животных, содержащихся на специализированной диете, отмечался повышенный уровень глюкозы в плазме крови натощак (см. табл. 1). Установлена положительная корреляция между концентрацией глюкозы в крови и удельной массой жировой ткани ($r = 0,823$, $p = 0,001$).

Таблица 1

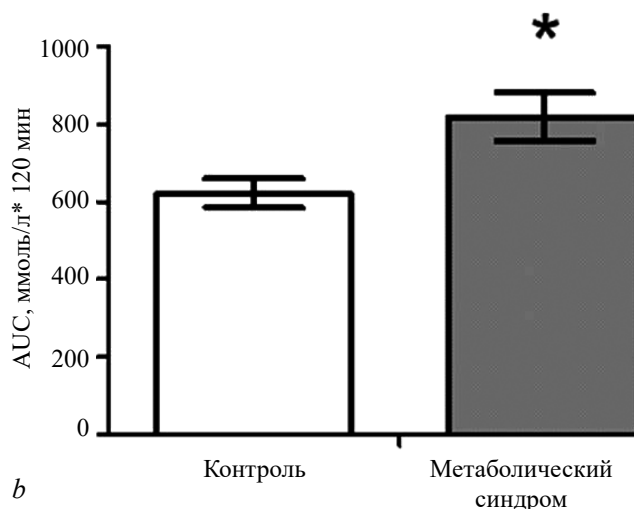
Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на физиологические и биохимические параметры крыс, $M \pm SD$		
Показатель	Группа	
	Контроль, $n = 11$	Метаболический синдром, $n = 12$
Масса тела, г	$376,6 \pm 28,9$	$388,2 \pm 30,7$ ($p = 0,241$)
САД, мм рт. ст.	$123,2 \pm 8,8$	$139,2 \pm 9,1$ ($p = 0,01$)
ДАД, мм рт. ст.	$86,5 \pm 9,3$	$101,4 \pm 12,2$ ($p = 0,028$)
Глюкоза натощак, ммоль/л	$4,0 \pm 0,3$	$5,4 \pm 0,5$ ($p = 0,001$)
Общий ХС, ммоль/л	$1,7 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,3$ ($p = 0,009$)
ХС-ЛПВП, ммоль/л	$1,0 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,1$ ($p = 0,09$)
ХС-ЛПНП, ммоль/л	$0,7 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,4$ ($p = 0,03$)
ТАГ, ммоль/л	$0,9 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,8$ ($p = 0,001$)
Удельная масса жировой ткани, г	$1,1 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,4$ ($p = 0,001$)
Удельная масса печени, г	$3,2 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,6$ ($p = 0,001$)

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем.

В результате проведения ГТТ установлено, что через 30 мин после глюкозной нагрузки у крыс экспериментальной группы уровень глюкозы в крови превышал аналогичный показатель в контрольной группе на 23,3% ($p = 0,005$). Через 60 и 120 мин – на 30,9% ($p = 0,001$) и 28,6% ($p = 0,003$) соответственно (рис. 1, а). Площадь под кривой «концентрация глюкозы – время» (AUC_{0-120}) в экспериментальной группе животных составила $818,2 \pm 61,4$ ммоль/л $\times$ 120 мин, что превосходило значение в контрольной группе ($622,1 \pm 36,8$ ммоль/л $\times$ 120 мин, $p = 0,001$), (рис. 1, б).



а



б

Рис. 1. Изменение концентрации глюкозы в крови крыс (а) и площадь под кривой «концентрация глюкозы – время» (б) в глюкозотолерантном тесте: сплошная линия – контрольная группа, пунктирная – экспериментальная группа.

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

Результаты оценки гематологических показателей свидетельствуют о том, что у животных, получавших высокожировую и высокоуглеводную диету, происходило увеличение количества клеток белой крови в 1,5 раза, преимущественно за счет гранулоцитов, по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Установлена прямая взаимосвязь между содержанием лейкоцитов ($r = 0,589$, $p = 0,015$) и удельной массой висцерального жира исследуемых крыс. Статистически значимых изменений параметров клеток красной крови у животных экспериментальной группы не обнаружено. Однако у последних содержание тромбоцитов в крови в 1,4 раза превышало аналогичный показатель крыс, находившихся на стандартной диете (см. табл. 2).

У крыс, получавших высокожировую и высокоуглеводную рацион, амплитуда гиперполяризационного ответа (ГО) эритроцитов, стимулированного Ca^{2+} -ионофором A23187, снижалась по сравнению с данными животных контрольной группы (табл. 3). Напротив, амплитуда ГО, полученного при добавлении к суспензии эритроцитов искусственной элек-

тронно-донорной системы аскорбат-ФМС, напротив, повышалась у крыс экспериментальной группы. У животных опытной группы отмечалось увеличение степени и скорости агрегации тромбоцитов, вызванной коллагеном (см. табл. 3).

Таблица 2

Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на гематологические показатели, $M \pm SD$		
Показатель	Группа	
	Контроль, $n = 11$	Метаболический синдром, $n = 12$
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$14,1 \pm 3,0$	$20,7 \pm 5,5$ ($p = 0,022$)
Лимфоциты, %	$69,7 \pm 6,4$	$63,4 \pm 8,9$ ($p = 0,048$)
Моноциты, %	$3,7 \pm 0,3$	$3,9 \pm 0,7$ ($p = 0,078$)
Гранулоциты, %	$26,6 \pm 5,8$	$35,9 \pm 7,6$ ($p = 0,001$)
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	$9,4 \pm 0,5$	$9,2 \pm 0,8$ ($p = 0,28$)
Гемоглобин, г/л	$208 \pm 10,9$	$198 \pm 11,5$ ($p = 0,088$)
Гематокрит, %	$47,1 \pm 2,4$	$45,6 \pm 6,8$ ($p = 0,072$)
Средний объем эритроцита, фл	$50,3 \pm 1,8$	$49,3 \pm 1,1$ ($p = 0,118$)
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	$1010,8 \pm 70,5$	$1450,5 \pm 84,6$ ($p = 0,02$)

Таблица 3

Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на гиперполяризационный ответ эритроцитов и коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов крыс, $Me (Q_1; Q_3)$				
Группа	A23187-индуцированный ГО, мВ	Редокс-индуцированный ГО, мВ	Степень агрегации, отн. ед.	Скорость агрегации, отн. ед./мин
Контроль, $n = 11$	$-38,4 (-40,2; -35,3)$	$-40,2 (-45,6; -35,5)$	$1,6 (1,4; 1,8)$	$1,9 (1,7; 2,6)$
Метаболический синдром, $n = 12$	$-30,1 (-34,6; -27,6)$ $p = 0,022$	$-49,1 (-51,3; -44,3)$ $p = 0,015$	$2,9 (2,4; 4,2)$ $p = 0,008$	$(2,7; 5,2)$ $p = 0,011$

ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования механизмов развития и прогрессирования метаболических и гемореологических нарушений при МС используют экспериментальные модели на животных [16–18]. Они направлены на воспроизведение характерных признаков МС, таких как избыточный вес, ожирение, инсулинорезистентность, нарушение толерантности к глюкозе, дислипидемия, артериальная гипертензия [1, 3]. Одним из возможных способов индукции МС у животных является применение высокожировой и высокоуглеводной диеты.

В нашем исследовании установлено, что кормление крыс в течение 12 нед рационом, содержащим животный жир, фруктозу с добавлением холестерина, приводило к ожирению, повышению АД, гипергликемии, снижению толерантности к глюкозе, дислипидемии с выраженной триглицеридемией. В то же время наличие прямой корреляционной зависимости

между значительным увеличением удельной массы печени, общего ХС и ТАГ может свидетельствовать о возникновении метаболических нарушений и в печени экспериментальных животных. Полученные результаты согласуются с литературными данными по диет-индуцированным моделям МС [14, 18] и свидетельствуют о том, что выбранная диета эффективно воспроизводит клинические признаки МС.

Экспериментальные и клинические исследования, выполненные в последние годы, позволяют утверждать, что патогенетические механизмы МС неразрывно связаны с функционированием системы крови. Так, было показано, что при МС наблюдается повышение вязкости крови, агрегации эритроцитов, изменение количества клеток красной [7, 17] и белой крови [19], увеличение содержания и функциональной активности тромбоцитов [20]. В данной работе продемонстрировано, что у животных экспериментальной группы увеличено количество лейкоцитов, главным образом, за счет гранулоцитов. Также установлена

корреляция между содержанием клеток белой крови и удельной массой висцерального жира. Известно, что ожирение, как один из важных компонентов МС, сопровождается хроническим воспалительным процессом, протекающим в жировой ткани, при котором происходит ее инфильтрация лейкоцитами и выработка провоспалительных цитокинов [15, 19].

Содержание животных на высокожировой и высокоуглеводной диете приводило к увеличению содержания в крови тромбоцитов и усилению их коллаген-индуцированной агрегации. Согласно существующим данным, повышение чувствительности тромбоцитов к коллагену у экспериментальных крыс может быть вызвано увеличением гликопротеина VI (GPVI) на поверхности клеток [20, 21], а также изменением соотношения липидов мембран тромбоцитов вследствие дислипидемии [12]. Это неизбежно сопровождается активацией фосфолипаз C и A₂, протеинкиназы C с последующим фосфорилированием белков сократительной системы тромбоцитов. Показано, что протромботические состояния, связанные с метаболическими нарушениями, увеличивают свертываемость крови, снижают фибринолиз, эндотелиальную тромборезистентность и вызывают гиперактивность тромбоцитов [22].

Количественные показатели клеток красной крови животных экспериментальной группы не отличались от контрольных. Однако в ответ на стимуляцию K_{Ca}-каналов мембраны эритроцитов с помощью Ca²⁺-ионофора A23187 или искусственной электронно-донорной системы аскорбат-ФМС наблюдались разнонаправленные изменения амплитуды ГО. Обнаруженный эффект можно объяснить увеличенным содержанием ионов кальция в эритроцитах крыс с МС [9]. Так, одинаковая добавка Ca²⁺ к суспензии нормальных эритроцитов и с повышенным содержанием ионов кальция вызовет снижение амплитуды ГО во втором случае. Отмеченное изменение амплитуды ГО, вызванного кальциевым ионофором и системой аскорбат-ФМС, может быть обусловлено разными механизмами открывания K_{Ca}-каналов [23].

В свою очередь, увеличение амплитуды аскорбат-ФМС-индуцированного ГО мембраны эритроцитов, наблюдаемое у животных экспериментальной группы, свидетельствует о повышенной проводимости K_{Ca}-каналов эритроцитарной мембраны. В то же время существенное влияние на активность Gardos-каналов оказывает структурная перестройка липидного состава мембраны, обусловленная повышенным включением холестерина и экстернализацией фосфатидилсерина, что приводит к увеличению микровязкости липидного бислоя [10] и снижению деформируемости клеток в сосудистом русле.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе установлено, что предложенная высокожировая и высокоуглеводная диета эффективно воспроизводит типичные признаки МС. Анализ гематологических показателей выявил существенные изменения со стороны клеток белой крови и тромбоцитов у животных с МС. Мембрана эритроцитов крыс, находившихся на специальной диете, характеризовалась повышенной проницаемостью для ионов калия, а тромбоциты – высокой чувствительностью к коллагену. Полученные результаты имеют ценность с позиции изучения причин развития и прогрессирования ассоциированных с МС сердечно-сосудистых заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Potenza M.V., Mechanick J.I. The metabolic syndrome: definition, global impact, and pathophysiology. *Nutr. Clin. Pract.* 2009; 24 (5): 560–577. DOI: 10.1177/0884533609342436.
2. Saklayen M.G. The global epidemic of the metabolic syndrome. *Curr. Hypertens. Rep.* 2018; 20 (2): 12. DOI: 10.1007/s11906-018-0812-z.
3. Aydin S., Aksoy A., Aydin S., Kalayci M., Yilmaz M., Kuloglu T., Citil C., Catak Z. Today's and yesterday's of pathophysiology: biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition.* 2014; 30 (1): 1–9. DOI: 10.1016/j.nut.2013.05.013.
4. Catoi A.F., Parvu A.E., Andreicut A.D., Mironiuc A., Craciun A., Catoi C., Pop I.D. Metabolically healthy versus unhealthy morbidly obese: chronic inflammation, nitro-oxidative stress, and insulin resistance. *Nutrients.* 2018; 10 (9): 1199. DOI: 10.3390/nu10091199.
5. Chen Y.Y., Fang W.H., Wang C.C., Kao T.W., Chang Y.W., Yang H.F., Wu C.J., Sun Y.S., Chen W.L. Association of percentage body fat and metabolic health in offspring of patients with cardiovascular diseases. *Sci. Rep.* 2018; 8 (1): 13831. DOI: 10.1038/s41598-018-32230-7.
6. Lee M.K., Han K., Kim M.K., Koh E.S., Kim E.S., Nam G.E., Kwon H.S. Changes in metabolic syndrome and its components and the risk of type 2 diabetes: a nationwide cohort study. *Sci. Rep.* 2020; 10 (1): 2313. DOI: 10.1038/s41598-020-59203-z.
7. Zeng N.F., Mancuso J.E., Zivkovic A.M., Smilowitz J.T., Ristenpart W.D. Red blood cells from individuals with abdominal obesity or metabolic abnormalities exhibit less deformability upon entering a constriction. *PLoS One.* 2016; 11 (6): e0156070. DOI: 10.1371/journal.pone.0156070.
8. Li P.F., Chen J.S., Chang J.B., Chang H.W., Wu C.Z., Chuang T.J., Huang C.L., Pei D., Hsieh C.H., Chen Y.L. Association of complete blood cell counts with metabolic syndrome in an elderly population. *BMC Geriatr.* 2016; 16: 10. DOI: 10.1186/s12877-016-0182-9.
9. Lang F., Lang E., Föller M. Physiology and pathophysiology of eryptosis. *Transfus. Med. Hemother.* 2012; 39 (5): 308–314. DOI: 10.1159/000342534.
10. Gyawali P., Richards R.S., Uba Nwose E. Erythrocyte morphology in metabolic syndrome. *Expert. Rev. Hematol.* 2012; 5 (5): 523–531. DOI: 10.1586/ehm.12.47.

11. Marseglia L., Manti S., D'Angelo G., Nicotera A., Parisi E., Di Rosa G., Gitto E., Arrigo T. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 16 (1): 378–400. DOI: 10.3390/ijms16010378.
12. Zavalishina S.Yu., Kutafina N.V., Vatikov Yu.A., Makurina O.N., Kulikov E.V., Rystsova E.O., Gurina R.R., Sotnikova E.D. Platelet-activity dependence on the age of rats with experimental dyslipidemia. *Biol. Med. (Aligarh)*. 2016; 8: 326. DOI: 10.4172/0974-8369.1000326.
13. Dupas J., Feray A., Goanvec C., Guernec A., Samson N., Bougaran P., Guerrero F., Mansourati J. Metabolic syndrome and hypertension resulting from fructose enriched diet in Wistar rats. *Biomed. Res. Int.* 2017; 2017: 2494067. DOI: 10.1155/2017/2494067.
14. Kwitek A.E. Rat models of metabolic syndrome. *Methods Mol. Biol.* 2019; 2018: 269–285. DOI: 10.1007/978-1-4939-9581-3_13.
15. Francisqueti F.V., Nascimento A.F., Minatel I.O., Dias M.C., Luvizotto R., Berchieri-Ronchi C., Ferreira A., Correa C.R. Metabolic syndrome and inflammation in adipose tissue occur at different times in animals submitted to a high-sugar/fat diet. *J. Nutr. Sci.* 2017; 6: e41. DOI: 10.1017/jns.2017.42.
16. Suman R.K., Mohanty I.R., Borde M.K., Maheshwari U., Deshmukh Y.A. Development of an experimental model of diabetes co-existing with metabolic syndrome in rats. *Adv. Pharmacol. Sci.* 2016; 2016: 9463476. DOI: 10.1155/2016/9463476.
17. Montecomo G.F., Kamagate A., Yapo A.P. Effects of metabolic syndrome on blood cells in Wistar rats. *J. Diabetes Metab. Disord. Control.* 2018; 5 (6): 222–225. DOI: 10.15406/jdm-dc.2018.05.00170.
18. Marques C., Meireles M., Norberto S., Leite J., Freitas J., Pestana D., Faria A., Calhau C. High-fat diet-induced obesity rat model: a comparison between Wistar and Sprague Dawley rat. *Adipocyte*. 2015; 5 (1): 11–21. DOI: 10.1080/21623945.2015.1061723.
19. Sait S., Alqassas M., Othman S., Shihon S.B., Alqalayta L., Alqusair S., Qari M. Obesity correlates with neutrophilia. *Hematol. Transfus. Int. J.* 2016; 3 (2): 159–162. DOI: 10.15406/htij.2016.03.00062.
20. Barrachina M.N., Moran L.A., Izquierdo I., Casanueva F.F., Pardo M., Garcia A. Analysis of platelets from a diet-induced obesity rat model: elucidating platelet dysfunction in obesity. *Sci. Rep.* 2020; 10 (1): 13104. DOI: 10.1038/s41598-020-70162-3.
21. Barrachina M.N., Sueiro A.M., Izquierdo I., Hermida-Nogueira L., Guitian E., Casanueva F.F., Farndale R.W., Moroi M., Jung S.M., Pardo M., Garcia A. GPVI surface expression and signalling pathway activation are increased in platelets from obese patients: elucidating potential anti-atherothrombotic targets in obesity. *Atherosclerosis*. 2019; 281: 62–70. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.12.023.
22. Ishida K., Taguchi K., Matsumoto T., Kobayashi T., Activated platelets from diabetic rats cause endothelial dysfunction by decreasing akt/endothelial NO synthase signaling pathway. *PLoS One*. 2014; 9 (7): e102310. DOI: 10.1371/journal.pone.0102310.
23. Birulina Y.G., Petrova I.V., Rozenbaum Y.A., Shefer E.A., Smaglyi L.V., Nosarev A.V., Gusakova S.V. H₂S-Mediated changes in erythrocyte volume: role of gardos channels, Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransport and anion exchanger. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2019; 167 (4): 508–511. DOI: 10.1007/s10517-019-04561-6.

Вклад авторов

Бирулина Ю.Г., Иванов В.В. – разработка концепции и дизайна, написание рукописи. Петрова И.В., Гречишникова А.Ю. – анализ и интерпретация данных. Носарев А.В., Гусакова С.В. – обоснование рукописи, утверждение рукописи для публикации. Буйко В.В., Трубочева О.А. – выполнение экспериментальной части исследования.

Сведения об авторах

Бирулина Юлия Георгиевна, канд. биол. наук, доцент, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1237-9786.

Иванов Владимир Владимирович, канд. биол. наук, руководитель Центра доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9348-4945.

Буйко Евгений Евгеньевич, лаборант, Центр доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ; аспирант, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6714-1938.

Трубочева Оксана Александровна, канд. мед. наук, доцент, кафедра физической культуры и здоровья, СибГМУ; науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1253-3352.

Петрова Ирина Викторовна, д-р биол. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9034-4226.

Гречишникова Александра Юрьевна, ассистент, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9891-2910.

Носарев Алексей Валерьевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0119-9707.

Гусакова Светлана Валерьевна, д-р мед. наук, зав. кафедрой биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5047-8668.

(✉) **Бирулина Юлия Георгиевна**, e-mail: birulina20@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.11.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Значение экспрессии рАКТ1 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Ванеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Лучинин А.С., Самарина С.В., Кочетов Н.Л.

Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови (КНИИГиПК)
Россия, 610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить прогностическое значение экспрессии рАКТ1 опухолевыми клетками у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой.

Материалы и методы. В исследование включены 90 пациентов с впервые диагностированной диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ), наблюдавшиеся в клинике института с 2014 по 2017 г. и получавшие стандартную полихимиотерапию первой линии по схеме R-CHOP. С помощью иммуногистохимического и морфометрического методов определено относительное количество экспрессирующих рАКТ1 опухолевых клеток. С помощью точного двухстороннего критерия Фишера проанализирована взаимосвязь различных уровней экспрессии маркера с клинико-лабораторными показателями пациентов и отдаленными результатами лечения. Оценку влияния рАКТ1 на риск наступления неблагоприятного события проводили с помощью регрессионного анализа Кокса.

Результаты. Гиперэкспрессия рАКТ1 ассоциирована с неблагоприятными клиническими характеристиками больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой, избыточной экспрессией онкобелков BCL2, cMyc, а также низкими показателями общей и беспрогрессивной выживаемости. Гиперэкспрессия рАКТ1 является независимым фактором прогноза и статистически значимо влияет на риск возникновения неблагоприятного исхода при ДВККЛ.

Заключение. Степень экспрессии рАКТ1 является информативным критерием, позволяющим прогнозировать течение диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Указанный маркер целесообразно использовать при стратификации пациентов на группы риска.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, рАКТ1, гиперэкспрессия, выживаемость, биомаркер.

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке КНИИГиПК ФМБА России.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом КНИИГиПК ФМБА России (протокол № 48 от 10.12.2019).

Для цитирования: Ванеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Лучинин А.С., Самарина С.В., Кочетов Н.Л. Значение экспрессии рАКТ1 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 13–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-13-20>.

The role of pAKT1 expression in diffuse large B-cell lymphoma

Vaneeva E.V., Rosin V.A., Diakonov D.A., Luchinin A.S., Samarina S.V., Kochetov N.L.

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion (KRIHBT)
72, Krasnoarmeyskaya Str., Kirov, 610027, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the prognostic value of pAKT1 expression by tumor cells in patients with diffuse large B-cell lymphoma.

Materials and methods. The study included 90 patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), who were treated at the clinic of Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion from 2014 to 2017 and received standard first-line polychemotherapy according to the R-CHOP regimen. Using immunohistochemical and morphometric methods, the relative number of tumor cells expressing pAKT1 was determined. Using the two-sided Fisher's exact test, the relationship of different levels of marker expression with clinical and laboratory parameters of patients and long-term treatment results was analyzed. The impact of pAKT1 on the risk of an adverse event was assessed using the Cox regression analysis.

Results. Overexpression of pAKT1 is associated with unfavorable clinical characteristics of patients with DLBCL, excessive expression of the BCL2 and c-Myc oncoproteins, as well as with low rates of overall and progressive survival. Overexpression of pAKT1 is an independent prognostic factor and statistically significantly affects the risk of an adverse outcome in DLBCL.

Conclusion. The degree of pAKT1 expression is an informative criterion that allows to predict the course of diffuse large B-cell lymphoma. It is advisable to use the indicated marker when stratifying patients into risk groups.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma, pAKT1, overexpression, survival, biomarker.

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 Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion.

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 Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion (Protocol No. 48 of 12.10.2019).

For citation: Vaneeva E.V., Rosin V.A., Diakonov D.A., Luchinin A.S., Samarina S.V., Kochetov N.L. The role of pAKT1 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 13–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-13-20>.

ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) – наиболее частый вариант лимфоидных неоплазий взрослых. В среднем она составляет 40% от всех неходжкинских лимфом, незначительно варьируя в разных географических регионах. Данное заболевание отличается высокой биологической и клинической гетерогенностью, а также характеризуется быстрым опухолевым ростом и ранним поражением экстранодальных зон [1–3].

Стандартом лечения распространенных вариантов ДВККЛ является полихимиотерапия по схеме R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизолон). Ее применение обеспечивает хорошие показатели общей (ОВ) и беспро-

грессивной выживаемости (БПВ) у значительной части больных. Однако у более чем одной трети пациентов заболевание остается рефрактерным к лечению [4, 5].

В качестве основных инструментов для оценки индивидуального риска раннего прогрессирования болезни используются международные прогностические индексы (PI, aaPI). Указанные шкалы достаточно успешно применяются в клинической практике, однако в части случаев не позволяют точно определить прогноз заболевания, потому что в основном опираются на клинические характеристики больных и не затрагивают аспекты, связанные с биологией неопластических клеток [4, 6, 7].

В настоящее время накоплены данные, свидетельствующие о том, что молекулярно-биологические

особенности опухоли способны влиять на течение ДВККЛ и играть важную роль в наступлении неблагоприятных исходов. Так, на основании профиля экспрессии генов (GER, Gene Expression Profiling) выделены базовые молекулярные подгруппы ДВККЛ (ABC и GCB), которые в значительной степени коррелируют с прогнозом заболевания при использовании стандартных схем химиотерапии [2, 8]. К сожалению, применение GER в клинической практике ограничено вследствие высокой технологической сложности и дороговизны. Его суррогатные маркеры, иммуногистохимические подтипы ДВККЛ, определяемые с помощью различных алгоритмов, не в полной мере соотносятся с GER, что снижает точность получаемой прогностической информации [9]. Таким образом, поиск других информативных молекулярно-биологических предикторов течения заболевания остается актуальной задачей [4].

В последние годы большое внимание исследователей уделяется изучению различных сигнальных путей, задействованных в патогенезе ДВККЛ. Один из них – PI3K/AKT/mTOR, который имеет важное стратегическое расположение: проходит в местах пересечения множества других онкогенных путей и опосредует широкий спектр клеточных функций, включая пролиферацию, апоптоз, метаболизм, ангиогенез [10]. Основными компонентами данного сигнального каскада являются: фосфоинозитид-3-киназа (PI3K), серин/треонин киназа (AKT1) и белок mTOR. Наибольшее значение отводится ферменту AKT1, ключевому регуляторному белку этого пути.

Интактный AKT1 находится в цитоплазме клетки. Путь активируется посредством связывания лиганда с клеточным рецептором и последующей инициацией ферментативного каскада реакций фосфорилирования. В результате на мембране клетки образуется комплекс фосфолипидов, важнейшим из которых является PIP_3 (фосфатидилинозитол-3-4-5-трифосфат). Он связывается с N-концевым доменом AKT1 и рекрутирует его к цитоплазматической мембране. Здесь протеинкиназа активируется (pAKT1) в каталитическом и гидрофобном доменах посредством последовательного взаимодействия с PDK1/2 (фосфоинозитид-зависимая протеинкиназа-1,2) и mTOR. Затем покидает мембрану, перемещается в цитоплазму и ядро клетки. В норме фосфорилирование белка является временным и строго контролируемым процессом [11].

По данным зарубежных исследований, сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR конститутивно активирован в 25–50% случаев ДВККЛ [12]. Это способствует возрастанию уровня внутриклеточной передачи сигналов, повышению выживаемости и пролиферации опухолевых клеток, сопровождается резистентно-

стью опухоли к стандартной химиотерапии, высокой частотой возникновения рецидивов. Показано, что данный путь может активировать ядерный транскрипционный фактор NF- κ B (Nuclear Factor-kappa B), запуская онкогенный каскад JAK/STAT. Это усиливает экспрессию ингибиторов апоптоза (survivin и TIMP1) и способствует развитию феномена «бессмертия» опухолевых клеток [8, 10].

Имеются сведения о том, что повышенный уровень pAKT1 опосредованно влияет на устойчивость опухоли к химиотерапии через негативную регуляцию активности белков-транспортёров, контролирующих поступление и вывод веществ из клетки [13]. Вместе с тем прогностическое значение экспрессии pAKT1 при ДВККЛ изучено недостаточно. Результаты опубликованных работ противоречивы. В отечественной научной литературе информация по этой теме отсутствует.

Цель исследования – оценить прогностическое значение экспрессии pAKT1 в опухолевых клетках при ДВККЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ретроспективное исследование включены 90 пациентов с впервые установленным диагнозом ДВККЛ, состоявшие на учете в клинике КНИИГиПК за период с 2014 по 2017 г. Все больные получали стандартную терапию первой линии по схеме R-CHOP. Средний возраст больных – 58 лет (24–83 года). Проведение научной работы одобрено локальным этическим комитетом КНИИГиПК. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Клинико-лабораторная характеристика больных ДВККЛ представлена в табл. 1.

В качестве материала для исследования использовали образцы биопсии лимфоузлов или других вовлеченных в патологический процесс органов и тканей (парафиновые блоки), из которых готовили гистологические срезы толщиной 3–5 мкм по общепринятому способу. Верификацию диагноза ДВККЛ и визуализацию pAKT1-позитивных опухолевых клеток в исследуемом материале проводили иммуногистохимическим методом с использованием антител к CD3, CD20, CD10, BCL6, MUM1, Ki67, BCL2, cMyc, pAKT1 (phosphor Ser 473). Подтип опухоли (GCB или non-GCB) определяли на основании алгоритма С.Р. Hans [14].

Иммунореактивность первичных антител выявляли с помощью вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой, входящей в набор реактивов. Постановку иммуногистохимических реакций осуществляли по стандартной методике в соответствии с протоколом для систем визуализации En VISION

(DAB+, Dako, Дания). Подсчет относительного содержания опухолевых клеток, имеющих ядерную экспрессию pAKT1, выполняли на световом микроскопе AxioScope.A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) со встроенной фото- и видеокамерой и программным обеспечением анализа изображений. Исследование проводили в пяти полях зрения для каждого образца с применением окуляров $\times 10$ и объектива $\times 100$.

Оптимальный порог отсечения для оценки уровня экспрессии pAKT1 вычисляли с помощью ROC-анализа. Для онкобелков BCL2 и сМус использовали пороговые величины экспрессии, применяемые в международных исследованиях и показывающие наиболее воспроизводимые результаты (50 и 40% позитивных опухолевых клеток соответственно) [15–17]. Статистическую оценку наличия/отсутствия ассоциации степени экспрессии pAKT1 с клинико-лабораторными характеристиками пациентов осуществляли с помощью точного двухстороннего критерия Фишера. ОВ и БПВ рассчитывали по методу Каплана – Мейера с графическим построением соответствующих кривых.

Сравнительный анализ показателей выживаемости проводили с использованием логарифмического рангового критерия (log-rank test). Для выявления прогностических факторов, влияющих на риск развития неблагоприятного события для ОВ и БПВ, применяли однофакторный и многофакторный регрессионный анализ Кокса с определением 95%-го доверительного интервала (ДИ) и отношения рисков (ОР). Исследование проводили с помощью программного обеспечения для статистической обработки данных SPSS, версия 19.0. Различия между показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования все больные были разделены на две группы в зависимости от количества pAKT1-позитивных опухолевых элементов. Согласно результатам ROC-анализа, оптимальный порог отсечения для экспрессии белка установлен на уровне 70% при чувствительности 84% и специфичности 24%, площадь под кривой равна $0,78 \pm 0,04$ (95%-й ДИ 0,66–0,91). В первую группу включили 36 пациентов (40%) с гиперэкспрессией белка ($\geq 70\%$, рис. 2, а), во вторую – 54 (60%) с низкой степенью экспрессии маркера ($< 70\%$ клеток, рис. 1, б).

В результате сопоставительной оценки степени экспрессии pAKT1 опухолевыми клетками ДВККЛ с клинико-лабораторными характеристиками больных установлены статистически значимые межгрупповые различия (см. табл. 1).

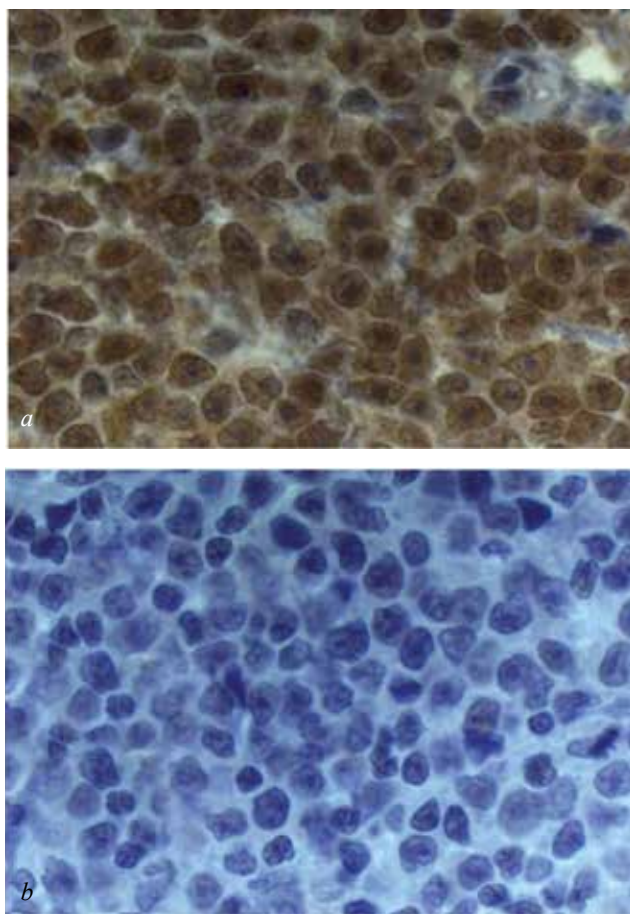


Рис. 1. Иммуногистохимическая окраска опухолевых клеток антителом к pAKT1: высокая (а) и низкая (б) экспрессия, $\times 1\,000$

Отмечено, что значения $IP1 > 2$ чаще выявлялись у больных первой группы по сравнению с его показателями у пациентов второй группы (58% против 33%, $p = 0,029$). Частота встречаемости III–IV стадий патологического процесса была существенно выше у больных с гиперэкспрессией pAKT1, чем у пациентов с низкой степенью экспрессии указанного маркера (72% против 48%, $p = 0,030$).

У пациентов первой группы в 1,5 раза чаще встречались В-симптомы заболевания, чем у обследуемых второй группы (69% против 46%, $p = 0,034$). При анализе результатов терапии по протоколу R-CHOP выявлено, что пациенты, имевшие низкую степень экспрессии маркера, характеризовались большей частотой достижения полных ремиссий, чем больные с гиперэкспрессией белка (44% против 70% соответственно, $p = 0,017$). Кроме того, надпороговые значения количества pAKT1-позитивных опухолевых клеток ассоциировались с высокой степенью экспрессии онкобелков BCL2 ($p = 0,036$) и сМус ($p = 0,015$). По другим клинико-лабораторным показателям значимых межгрупповых различий не установлено.

Таблица 1

Характеристика пациентов и результаты анализа клинично-лабораторных показателей в группах с разной экспрессией рАКТ1 у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой				
Показатель	Количество пациентов, $n = 90$, абс. (%)	Экспрессия рАКТ1		p
		высокая, абс., $n = 36$	низкая, абс., $n = 54$	
Пол:				
мужчины	47 (52)	18	25	0,830
женщины	43 (48)	18	29	
Возраст, лет:				
≥ 60	40 (44)	17	23	0,672
< 60	50 (56)	19	31	
В-симптомы:				
есть	50 (56)	25	25	0,034*
нет	40 (44)	11	29	
Стадия (по Ann Arbor):				
I–II	38 (42)	10	28	0,030*
III–IV	52 (58)	26	26	
Наличие экстранодального поражения:				
есть	41 (46)	18	23	0,523
нет	49 (54)	18	31	
Концентрация лактатдегидрогеназы:				
норма	30 (33)	25	35	0,820
выше нормы	60 (66)	11	19	
Иммуногистохимический подтип:				
GCB	34 (38)	10	24	0,126
non-GCB	56 (62)	26	30	
IPI, группы риска:				
≤ 2	49 (54)	15	36	0,029*
> 2	41 (45)	21	18	
Ответ на терапию первой линии:				
частичный ответ/рецидив/рефрактерность	54 (60)	20	16	0,017*
полный ответ	36 (40)	16	38	
Экспрессия BCL2:				
$\geq 50\%$	28 (31)	16	12	0,036*
$< 50\%$	62 (69)	20	42	
Экспрессия сМус:				
$\geq 40\%$	18 (20)	12	6	0,015*
$< 40\%$	72 (80)	24	48	

Примечание. Критерий Фишера – p .

* статистически значимые различия между группами (здесь и далее).

Трехлетняя ОВ в первой группе составила 44% (медиана выживаемости – 23 мес) против 87% – во второй (медиана не достигнута), $p < 0,001$ (см. рис. 2, а). Значимые отличия установлены при оценке БПВ: 39% – в случаях с высокой экспрессией рАКТ1, 71% – с низкой, $p = 0,005$. Медиана выживаемости в первой группе – 14 мес, во второй не достигнута (см. рис. 2, б).

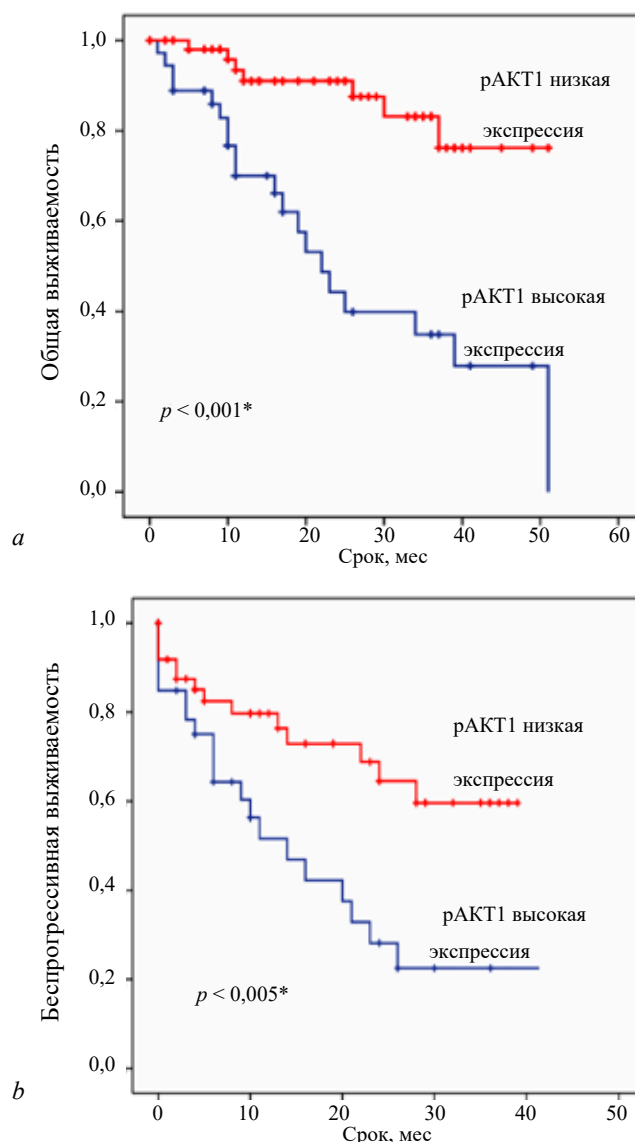


Рис. 2. Общая (а) и беспрогрессивная (б) выживаемость больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в зависимости от степени экспрессии рАКТ1 опухолевыми клетками

Клинично-лабораторные показатели больных первоначально были включены в однофакторный анализ Кокса, в результате которого факторами, неблагоприятно влияющими на ОВ пациентов с ДВККЛ, стали: IPI > 2 , иммуногистохимический подтип non-GCB, возраст ≥ 60 лет, а также экспрессия рАКТ1 $\geq 70\%$ (табл. 2). В ходе многофакторного регрессионного анализа установлено, что наиболее значимыми независимыми факторами прогноза являлись только IPI и гиперэкспрессия рАКТ1 ($p = 0,039$ и $0,001$ соответственно). При этом содержание рАКТ1-позитивных опухолевых клеток $\geq 70\%$ определяет в 2 раза более высокий риск возникновения неблагоприятного исхода, чем индекс IPI.

Таблица 2

Однофакторный и многофакторный анализ Кокса предикторов общей и беспрогрессивной выживаемости пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой						
Показатель	Однофакторный анализ					
	ОВ			БПВ		
	ОР	95%-й ДИ	<i>p</i>	ОР	95%-й ДИ	<i>p</i>
Пол	1,893	0,865–4,140	0,112	1,954	0,965–3,955	0,063
Возраст ≥ 60 лет	2,254	1,013–5,015	0,046*	1,511	0,763–2,993	0,236
IP1 > 2	6,319	2,377–16,800	<0,001*	3,727	1,810–7,675	<0,001*
ИГХ подтип (non-GCB)	0,351	0,132–0,932	0,035*	0,367	0,160–0,844	0,018*
Экспрессия pAKT1 ≥ 70%	9,954	3,432–28,870	<0,001*	3,527	1,170–7,275	0,001*
Многофакторный анализ						
Возраст ≥ 60 лет	1,933	0,813–4,595	0,135	–	–	–
IP1 > 2	3,061	1,056–8,868	0,039*	2,577	1,191–5,574	0,016*
ИГХ подтип (non-GCB)	0,623	0,219–1,772	0,375	0,607	0,252–1,467	0,268
Экспрессия pAKT1 ≥ 70%	6,171	2,069–18,402	0,001*	2,456	1,141–5,287	0,022*

В отношении БПВ в однофакторном анализе Кокса статистическую значимость показали те же факторы, за исключением возраста пациентов. При оценке влияния нескольких предикторов на прогрессию заболевания показатели IP1 > 2 и экспрессия pAKT1 ≥ 70% также являлись значимыми независимыми факторами прогноза с сопоставимым уровнем риска наступления неблагоприятного события.

ОБСУЖДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома – самая распространенная неходжкинская лимфома, объединяющая большую группу опухолей, отличающихся по своим клиническим, морфологическим, молекулярно-генетическим характеристикам. Стандартные терапевтические подходы обеспечивают хорошие результаты лечения только в 50–60% случаев. На этапе ранней диагностики существующие системы стратификации (IP1) не всегда предоставляют возможность точно предсказать течение заболевания у конкретного пациента, поскольку не учитывают молекулярно-биологические аспекты патологии. Особенно это актуально в отношении пациентов низкой и промежуточных групп риска. Поэтому поиск дополнительных критериев прогноза является оправданным при этом заболевании.

В ходе проведенной работы получены результаты, указывающие на связь гиперэкспрессии pAKT1 с неблагоприятными в прогностическом отношении клиничко-лабораторными характеристиками: распространенными стадиями заболевания, значениями IP1 > 2, наличием В-симптомов, высокой экспрессией онкобелков BCL2 и с-Мус. Такая ассоциация может быть обусловлена бесконтрольной активацией протеина Mdm2 и нарушением функционирования онкосупрессоров p53 и p21. Это приводит к угнетению апоптоза и избыточной пролиферации неопла-

стических клеток [10, 16]. У пациентов с надпороговыми значениями экспрессии исследуемого маркера отмечена более низкая частота достижения полных ремиссий. Однако по некоторым аспектам наблюдается значительный разброс в результатах исследований.

Так, в ряде работ помимо указанных клинических характеристик выявлена связь pAKT1-позитивного варианта заболевания с полом, возрастом, уровнем лактатдегидрогеназы [8, 18, 19]. Полагаем, что эти разногласия могут быть обусловлены отсутствием унифицированных критериев для определения пороговых значений экспрессии pAKT1, коморбидностью, разным объемом выборок. В отдельных зарубежных литературных источниках показана ассоциация гиперэкспрессии pAKT1 с низкой выживаемостью больных ДВККЛ [17, 18]. Результаты нашего исследования это подтверждают.

При этом на основании данных, полученных в ходе многофакторного анализа, выявлено, что гиперэкспрессия pAKT1 является независимым предиктором низкой ОВ, более значимым в прогностическом отношении, чем индекс IP1. В отношении БПВ исследуемый маркер также проявил себя как статистически значимый независимый фактор прогноза. По этому факту среди авторов не существует единого мнения, результаты исследований противоречивы. Есть зарубежные работы, в которых значение экспрессии pAKT1 как самостоятельного фактора прогноза не доказано. Предполагается, что неблагоприятные клинические проявления, ассоциированные с избыточной активацией пути PI3K/AKT/mTOR, являются косвенными и зависят от других эффекторов [17]. Вместе с тем встречаются публикации, подтверждающие независимую прогностическую роль указанного маркера в отношении течения заболевания [8, 18, 19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гиперэкспрессия pAKT1 ассоциирована с неблагоприятными клинико-лабораторными показателями пациентов с ДВККЛ и неудачами терапии по протоколу R-СНОР. Данный маркер может использоваться как независимый фактор прогноза течения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cabattini E., Pileri S.A., Dirnhofer S., Went P., Ascani S., Marafioti T., Tzankov A., Leoncini L., Falini B., Zinzani P.L. Diffuse large B-cell lymphoma: one or more entities? Present controversies and possible tools for its sub classification. *Histopathology*. 2002; 41 (6): 482–509. DOI: 10.1046/j.1365-2559.2002.01538.x.
2. Sehn L.H., Gascoyne R.D. Diffuse large B-cell lymphoma: optimizing outcome in the context of clinical and biologic heterogeneity. *Blood*. 2015; 125 (1): 22–32. DOI: 10.1182/blood-2014-05-577189.
3. Поляцкий И.Л., Артемьева А.С., Криволапов Ю.А. Пересмотренная классификация ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей. 2017 (4-е изд.): опухоли лимфоидной ткани. *Архив патологии*. 2019; 81 (3): 59–65. DOI: 10.17116/patol.20188006143.
4. Расторгуев С.М., Королева Д.А., Булыгина Е.С., Цыганкова С.В., Гончаров Н.Г., Нарайкин О.С., Габеева Н.Г., Звонков Е.Е., Недолужко А.В. Клиническое и прогностическое значение молекулярных маркеров диффузной В-крупноклеточной лимфомы. *Клиническая онкогематология*. 2019; 12 (1): 95–100. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-95-100.
5. Самарина С.В., Назарова Е.Л., Минаева Н.В., Зотина Е.Н., Парамонов И.В., Грицаев С.В. Клинико-гематологические показатели прогноза ответа на терапию первой линии у пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой. *Клиническая онкогематология*. 2019; 12 (1): 68–72. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-68-72.
6. Капланов К.Д., Волков Н.П., Клиточенко Т.Ю., Матвеева И.В., Шипаева А.Л., Широкова М.Н., Давыдова Н.В., Гемджян Э.Г., Абрамов Д.С., Коновалов Д.М., Снигур Г.Л., Редькина Н.А. Результаты анализа регионального регистра пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой: факторы риска и проблемы иммунохимиотерапии. *Клиническая онкогематология*. 2019; 12 (2): 154–164. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-154-164.
7. Вансеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Самарина С.В., Рылов А.В. Оценка прогностического значения экспрессии pSTAT3 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме на российской выборке пациентов. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019; 39 (5): 125–133. DOI: 0.15372/SSMJ20190515.
8. Zhang H., Wang X., Dong L., Lv H., Li W., Song Z., Li L., Zhou S., Qiu L., Qian Z., Liu X., Feng L., Meng B., Fu K., Wang X., Pan-Hammarstrom Q., Wang P. Co-expression of PD-L1 and p-AKT is associated with poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma via PD-1/PD-L1 axis activating intracellular AKT/mTOR pathway in tumor cells. *Oncotarget*. 2016; 7 (22): 33350–33362. DOI: 10.18632/oncotarget.9061.
9. Зейналова П.А., Шолохова Е.Н., Тупицын Н.Н. Прогноз при диффузной В-крупноклеточной лимфоме: некоторые аспекты. *Вестник ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»*. 2015; 26 (1): 43–49.
10. Courtney K.D., Corcoran R.B., Engelman J.A. The PI3K pathway as drug target in human cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2010; 28 (6): 1075–1083. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.3641.
11. Kumar A., Rajendran V., Sethumadhavan R., Purohit R. AKT kinase pathway: a leading target in cancer research. *Scientific World Journal*. 2013; 2013: 756134. DOI: 10.1155/2013/756134.
12. Wang X., Cao X., Sun R., Tang C., Tzankov A., Zhang J., Manyam G.C., Xiao M., Miao Y., Jabbar K., Tan X., Pang Y., Visco C., Xie Y., Dybkaer K., Chiu A., Orazi F., Young K.H. Clinical significance of *PTEN* deletion, mutation, and loss of pten expression in *de novo* diffuse large B-cell lymphoma. *Neoplasia*. 2018; 20 (6): 574–593 DOI: 10.1016/j.neo.2018.03.002.
13. Ставровская А.А., Генс Г.П. Новое в изучении множественной лекарственной устойчивости клеток рака молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии*. 2015; 2 (1): 39–51. DOI: 10.17650/2313-805X.2015.2.1.039–051.
14. Hans C.P., Weisenburger D.D., Timothy C. et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004; 103 (1): 275–282. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1545.
15. Наср М.Р., Перри А.М., Скрабек П. Патология лимфатических узлов для клиницистов; пер. с англ. под ред. Ю.А. Криволапова. М.: Практическая медицина, 2020: 224.
16. Altomare D.A., Testa J.R. Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. *Oncogene*. 2005; 24 (50): 7455–7464. DOI: 10.1038/sj.onc.1209085.
17. Wang J., Xu-Monette Z.Y., Jabbar K.J., Shen Q., Manyam G.C., Tzankov A., Visco C., Wang J., Montes-Moreno S., Dybkaer K., Tam W., Bhagat G., His E.D., van Krieken J.H., Ponzoni M., Ferreri A.J.M., Wang S., Möller M.B., Piris M.A., Medeiros L.J., Li Y., Pham L.V., Young K.H. AKT hyperactivation and the potential of akt-targeted therapy in diffuse large B-cell lymphoma. *American Journal Pathology*. 2017; 187 (8): 1700–1716. DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.04.009.
18. Hasselblom S., Hansson U., Olsson M., Tore'n L., Bergström A., Nilsson-Ehle H., Andersson P.-O. High immunohistochemical expression of p-AKT predicts inferior survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *British Journal of Haematology*. 2010; 149 (4): 560–568. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08123.x.
19. Hong J.Y., Hong M.E., Choi M.K., Kim Y.S., Chang W., Maeng C.H., Park S., Lee S.J., Do I.-G., Jo J.-S., Jung S.H., Kim S.J., Ko Y.H., Kim W.S. The impact of activated p-AKT expression on clinical outcomes in diffuse large B-cell lymphoma: A clinicopathological study of 262 cases. *Annals of Oncology*. 2014; 25 (1): 182–188. DOI: 10.1093/annonc/mdt530.

Вклад авторов

Ванеева Е.В., Росин В.А. – разработка дизайна работы, сбор данных, выполнение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи. Дьяконов Д.А., Росин В.А. – разработка научного направления, проверка критически важного интеллектуального содержания статьи. Лучинин А.С. – анализ и интерпретация статистических данных. Самарина С.В. – сбор клинических данных по больным ДВККЛ. Кочетов Н.Л. – подбор биопсийного материала.

Сведения об авторах

Ванеева Елена Викторовна, аспирант, мл. науч. сотрудник, лаборатория патоморфологии, КНИИГиПК, г. Киров.

Росин Виталий Анатольевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория патоморфологии, КНИИГиПК, г. Киров. ORCID 0000-0003-2054-2870.

Дьяконов Дмитрий Андреевич, канд. мед. наук, зав. лабораторией патоморфологии, КНИИГиПК, г. Киров. ORCID 0001-8688-1344.

Лучинин Александр Сергеевич, канд. мед. наук, врач-гематолог, КНИИГиПК, г. Киров. ORCID 0000-0002-5016-210X.

Самарина Светлана Валерьевна, зав. клинко-диагностическим отделением, КНИИГиПК, г. Киров. ORCID 0000-0001-8639-719X.

Кочетов Николай Львович, врач-патологоанатом, КНИИГиПК, г. Киров.

(✉) **Ванеева Елена Викторовна**, e-mail: vaneeva.elena.vic@mail.ru

Поступила в редакцию 14.01.2020

Подписана в печать 25.05.2021

Оценка влияния солей лития на продукцию цитокинов клетками крови в опытах *in vitro*

Ветлугина Т.П.¹, Епимахова Е.В.¹, Савочкина Д.Н.¹, Плотников Е.В.^{1,2}, Бойко А.С.¹,
Иванова С.А.¹, Бохан Н.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

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

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить влияние солей лития на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками в культуре цельной крови больных с алкогольной зависимостью и аффективными расстройствами.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы крови 25 больных с алкогольной зависимостью и 12 пациентов с биполярным аффективным расстройством. В лунки культурального планшета вносили кровь, разведенную 1 : 1 полной средой RPMI-1640 (Gibco, Великобритания), добавляли новые соли лития (сукцинат, фумарат, пируват, аскорбат) и соль сравнения – карбонат лития в конечной концентрации 1,2 ммоль/л в расчете на ион лития, параллельно ставили контрольные пробы без солей лития; пробы инкубировали в течение суток. В супернатантах суточной культуры на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, США) (ЦКП «Медицинская геномика», Томский НИМЦ) определяли концентрацию цитокинов (интерферона γ , интерлейкина (ИЛ) 1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17A, фактора некроза опухоли α) с использованием наборов реагентов Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (Merck, Германия).

Результаты. Все соли лития оказывали однонаправленное действие на продукцию спектра цитокинов иммунокомпетентными клетками (ИКК) за исключением аскорбата лития и ИЛ-8. Концентрации цитокинов в супернатантах нагрузочных и контрольных проб (спонтанная продукция) были сопоставимы, что свидетельствует об отсутствии стимулирующего или супрессирующего действия солей на функциональную активность ИКК в условиях эксперимента. Обнаружен эффект аскорбата лития как индуктора ИЛ-8: индуцированная аскорбатом лития продукция ИЛ-8 в 2,3–2,5 раза превышала его спонтанную продукцию.

Закключение. Полученные результаты, а также выявленные ранее антиоксидантные, цитопротекторные свойства новых солей лития подтверждают их перспективность для разработки фармакологических средств комбинированного действия.

Ключевые слова: соли лития, цитокины, клетки крови, алкоголизм, биполярное аффективное расстройство.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-75-20045), частично (набор пациентов) – в рамках финансирования темы НИР № 0550-2019-0007.

✉ Ветлугина Тамара Парфеновна, e-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 361 от 23.10.2017).

Для цитирования: Ветлугина Т.П., Епимахова Е.В., Савочкина Д.Н., Плотников Е.В., Бойко А.С., Иванова С.А., Бохан Н.А. Оценка влияния солей лития на продукцию цитокинов клетками крови в опытах *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 21–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-21-28>.

Estimation of the effect of lithium salts on cytokine production by blood cells in *in vitro* experiments

Vetlugina T.P.¹, Epimakhova E.V.¹, Savochkina D.N.¹, Plotnikov E.V.^{1,2}, Boiko A.S.¹, Ivanova S.A.¹, Bokhan N.A.¹

¹ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

² National Research Tomsk Polytechnic University 30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the effects of lithium salts on production of cytokines by immunocompetent cells in the whole-blood culture of patients with alcohol dependence and affective disorders.

Materials and methods. The study materials were blood samples from 25 patients with alcohol dependence (AD) and 12 patients with bipolar disorder (BD). Blood diluted 1:1 with complete RPMI-1640 medium (Gibco, UK) was added to the wells of the culture plate, then new lithium salts (succinate, fumarate, pyruvate, ascorbate) and a reference salt – lithium carbonate at a final concentration of 1.2 mmol / l per lithium ion – were added. In parallel, control samples without lithium salts were tested; the samples were incubated for a day. The concentration of cytokines (interferon (IFN) γ , interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, tumor necrosis factor (TNF) α) was determined in the culture supernatants on the MAGPIX multiplex analyzer (Luminex, USA) (Center for Collective Use “Medical Genomics”, Tomsk NRMС) using the Human Cytokine / Chemokine Magnetic Bead Panel (Merck, Germany).

Results. All lithium salts had a unidirectional effect on the production of cytokines by immunocompetent cells (ICC), except for lithium ascorbate and IL-8. The concentrations of cytokines in the supernatants of loaded and control samples (spontaneous production) were comparable, which indicates an absence of stimulating or suppressing effects of salts on the functional activity of ICC under the experimental conditions. The effect of lithium ascorbate as an IL-8 inducer was detected: the production of IL-8 induced by lithium ascorbate was 2.3–2.5 times higher than its spontaneous production.

Conclusion. The obtained results, as well as the previously revealed antioxidant and cytoprotective properties of new lithium salts, confirmed that they are promising for development of pharmacological agents with combined action.

Key words: lithium salts, cytokines, blood cells, alcoholism, bipolar disorder.

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 with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 17-75-20045), partly (recruitment of patients) – within the financing of the research project No. 0550-2019-0007.

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 Mental Health Research Institute of Tomsk NRMС (Protocol No. 361 of 23.10.2017).

For citation: Vetlugina T.P., Epimakhova E.V., Savochkina D.N., Plotnikov E.V., Boiko A.S., Ivanova S.A., Bokhan N.A. Estimation of the effect of lithium salts on cytokine production by blood cells in *in vitro* experiments. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 21–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-21-28>.

ВВЕДЕНИЕ

В терапии больных с аффективными расстройствами и алкогольной зависимостью с аффективными нарушениями в качестве нормотимических средств используют литиевые препараты, чаще всего в форме карбоната [1–3]. Вместе с тем данные биологических исследований свидетельствуют о значимой роли при этих заболеваниях факторов воспаления и окислительного стресса [4–8], что обуславливает актуальность разработки лекарственных средств комбинированного действия, направленного на основные звенья патогенеза расстройств аффективного спектра.

В НИИ психического здоровья Томского НИМЦ ведется поиск солей лития, обладающих сочетанным нормотимическим, нейропротекторным, цитопротекторным и антиоксидантным действием. Для выбора наиболее перспективных соединений, как основы лекарственных средств комбинированного действия, проводятся исследования биологических эффектов спектра новых солей лития, синтезированных на основе аскорбиновой кислоты и субстратов цикла Кребса (сукцинат, фумарат, пируват).

Целью настоящего исследования является изучение влияния солей лития на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками в культуре цельной крови больных с алкогольной зависимостью и аффективными расстройствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы крови 25 мужчин с алкогольной зависимостью (АЗ) по Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя: синдром зависимости – F10.21 и синдром отмены – F10.30») в возрасте 29–60 ($46,82 \pm 9,48$) лет; 12 пациентов (2 мужчин, 10 женщин) с диагнозом по МКБ-10 «Биполярное аффективное расстройство – F31» (БАР) в возрасте 20–59 ($35,61 \pm 13,63$) лет; уровень статистической значимости различий по возрасту между группами $p = 0,0152$.

Пациенты поступали на лечение в отделения аддиктивных и аффективных состояний клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Забор крови у пациентов осуществляли из локтевой вены утром натощак до начала стандартной терапии; использовали систему Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование с участием людей проводилось с соблюдением этических стандартов, разработанных в соответствии с

Хельсинкской декларацией и одобренных локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 361 от 23.10.2017).

Соли лития (лития сукцинат – $\text{Li}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$, лития фумарат – $\text{Li}_2\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_4$, лития пируват – $\text{LiC}_3\text{H}_3\text{O}_3$, лития аскорбат – $\text{LiC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) были синтезированы в Исследовательской школе химических и биомедицинских технологий Национального исследовательского Томского политехнического университета. Лития карбонат – Li_2CO_3 (Sigma-Aldrich, США) использовали в качестве соли сравнения, поскольку она является основой большинства применяемых в медицинской практике препаратов лития. Соли лития растворяли в физиологическом растворе и получали стоковые растворы с удобной концентрацией для дальнейшего внесения в экспериментальные нагрузочные пробы до конечной стандартной концентрации 1,2 ммоль/л в расчете на ион лития (Li^+), соотносящейся с терапевтической дозой лития при лечении расстройств аффективного спектра.

Цельную кровь из вакутейнеров с антикоагулянтом ЭДТА разводили 1 : 1 средой RPMI-1640 (Gibco, Великобритания) с добавлением инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, Великобритания), HEPES (Sigma-Aldrich, США) и гентамицина (Дальхимфарм, Россия). Определенный объем разведенной крови вносили в лунки культурального планшета Cell Culture Plate (24-Well, Eppendorf). В пробы дополнительно вносили стоковые растворы солей лития до конечной концентрации Li^+ 1,2 ммоль/л (нагрузочные пробы); для оценки спонтанной продукции цитокинов иммунокомпетентными клетками (ИКК) крови параллельно к нагрузочным пробам ставили контроль без внесения солей лития.

Пробы инкубировали в течение суток при 37 °С в атмосфере 5%-го углекислого газа в CO_2 -инкубаторе. После инкубации осторожно отбирали супернатанты, разливали по аликвотам и хранили в низкотемпературной камере при –80 °С до определения цитокинов.

Уровень продукции цитокинов оценивали по их концентрации в супернатантах нагрузочных и контрольных проб по технологии Luminex xMAP на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, США) (ЦКП «Медицинская геномика», Томский НИМЦ). Концентрацию цитокинов (интерферона γ (ИФН- γ), интерлейкина (ИЛ) 1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17A и фактора некроза опухолей α (ФНО- α)) определяли с использованием наборов реагентов MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (Merck, Германия); анализ проводили в формате стандартного 96-луночного план-

шета согласно инструкции к наборам, результаты выражали в пг/мл.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета программ Statistica для Windows, версия 12.0. Описательная статистика представлена медианой и межквартильным размахом $Me (LQ-UQ)$. Для межгруппового сравнения использовали критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми различиями считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При культивировании образцов крови больных АЗ большинство исследуемых солей лития не оказывали как стимулирующего, так и тормозящего влияния на продукцию цитокинов, кроме аскорбата лития и ИЛ-8 (табл. 1). Не выявлено статистически значимых различий по уровню цитокинов в нагрузочных и контрольных пробах, что свидетельствует о содержании в пробах с солями лития, включая карбонат лития, спонтанно продуцируемых ИКК цито-

кинов. Наибольшая концентрация в супернатантах культуры клеток крови установлена для противовоспалительного цитокина ИЛ-4, и значения медианы во всех пробах колебались в пределах 19,52–19,85 пг/мл; наименьшие концентрации – для противовоспалительных цитокинов – ИЛ-2 (1,43–1,50 пг/мл) и ИЛ-6 (1,54–1,69 пг/мл).

Вместе с тем внесение в культуру крови аскорбата лития приводило к выраженному усилению продукции ИЛ-8 (см. табл. 1), и его содержание в супернатантах нагрузочных проб превышало соответствующий показатель в пробах с другими солями лития (уровень статистической значимости различий между пробами составил 0,0060–0,0003). Кроме того, концентрация данного цитокина в пробах с аскорбатом лития в 2,5 раза превышала соответствующий показатель его спонтанной продукции в контрольных пробах (25,37 (17,19–36,04) и 10,07 (8,41–15,99) пг/мл соответственно, $p_k = 0,0010$).

Таблица 1

Концентрация цитокинов в супернатантах суточной культуры клеток крови больных с синдромом алкогольной зависимости, пг/мл, $Me (LQ-UQ)$							
Показатель	Нагрузочные пробы, доза Li^+ 1,2 ммоль/л					Контроль 6 ($n = 25$)	p
	1 ($n = 25$)	2 ($n = 23$)	3 ($n = 25$)	4 ($n = 24$)	5 ($n = 24$)		
ИФН- γ	6,62 (5,72–7,59)	6,93 (6,00–7,41)	6,69 (6,02–6,96)	6,92 (6,24–7,41)	6,58 (6,02–7,46)	6,46 (5,94–7,18)	$>0,05$
ИЛ-1 β	4,41 (2,83–6,56)	4,06 (3,24–5,54)	3,78 (2,95–5,28)	3,44 (2,74–4,81)	4,00 (3,10–6,21)	4,10 (3,03–5,08)	$>0,05$
ИЛ-2	1,47 (1,30–1,69)	1,43 (1,27–1,68)	1,45 (1,26–1,60)	1,50 (1,38–1,67)	1,49 (1,29–1,57)	1,46 (1,27–1,60)	$>0,05$
ИЛ-4	19,85 (18,25–21,30)	19,65 (18,25–21,20)	19,65 (18,21–21,50)	19,68 (18,24–21,15)	19,62 (18,23–20,77)	19,52 (18,25–20,28)	$>0,05$
ИЛ-6	1,69 (1,31–2,25)	1,62 (1,36–2,07)	1,54 (1,39–2,13)	1,65 (1,36–2,07)	1,66 (1,34–2,55)	1,64 (1,36–2,33)	$>0,05$
ИЛ-8	12,66 (8,57–20,26)	11,05 (8,66–18,04)	11,01 (8,52–12,64)	11,57 (9,02–17,88)	25,37 (17,19–36,04) $p_k = 0,001$	10,07 (8,41–15,99)	0,006 (между пробами 1 и 5); 0,002 (2 и 5); 0,0003 (3 и 5); 0,004 (4 и 5)
ИЛ-10	7,29 (6,88–8,90)	7,29 (6,59–7,98)	7,27 (6,59–8,35)	7,30 (6,92–8,66)	7,23 (6,80–8,33)	7,29 (6,49–7,94)	$>0,05$
ИЛ-17	5,56 (5,01–6,07)	5,37 (5,16–5,91)	5,56 (5,20–5,88)	5,59 (5,19–6,06)	5,74 (5,21–6,18)	5,64 (5,00–5,95)	$>0,05$
ФНО- α	5,81 (4,7–7,31)	5,52 (4,88–7,33)	5,43 (4,96–7,00)	5,71 (4,91–6,40)	5,81 (4,42–6,54)	5,62 (4,64–7,30)	$>0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 2: 1 – лития сукцинат; 2 – лития фумарат; 3 – лития пируват; 4 – лития карбонат; 5 – лития аскорбат; 6 – контрольные пробы.

Уровень статистической значимости различий: p_k – по отношению к пробе 6 (контроль); p – между пробами 1 и 5; 2 и 5; 3 и 5; 4 и 5.

Близкие результаты получены в серии экспериментов с образцами крови больных БАР (табл. 2), хотя эта группа пациентов и отличалась от группы больных алкоголизмом по половозрастным характе-

ристикам. В супернатантах суточной культуры крови больных БАР, также как и в первой серии экспериментов с образцами крови больных АЗ, не выявлено статистически значимых различий между нагру-

зочными пробами с солями лития (кроме аскорбата и ИЛ-8) и контрольными пробами. Во всех пробах наиболее высокие средние значения содержания ци-

токинов (*Me*) имели ИЛ-4 (18,38–20,09 пг/мл) и ИЛ-17А (14,15–15,12 пг/мл); наиболее низкие – ИЛ-2 (1,70–1,85 пг/мл) и ИЛ-6 (1,47–1,69 пг/мл).

Таблица 2

Концентрация цитокинов в супернатантах суточной культуры клеток крови больных с биполярным аффективным расстройством, пг/мл, <i>Me (LQ–UQ)</i>							
Показатель	Нагрузочные пробы, доза Li^+ 1,2 ммоль/л					Контроль 6 (<i>n</i> = 12)	<i>p</i>
	1 (<i>n</i> = 12)	2 (<i>n</i> = 12)	3 (<i>n</i> = 11)	4 (<i>n</i> = 12)	5 (<i>n</i> = 11)		
ИФН- γ	5,88 (4,50–6,99)	5,16 (4,71–6,41)	5,29 (4,41–6,58)	5,35 (4,75–7,37)	5,77 (4,56–6,93)	5,35 (4,45–8,51)	>0,05
ИЛ-1 β	2,8 (2,37–4,44)	3,12 (2,56–3,49)	2,68 (2,09–2,98)	2,88 (2,32–3,22)	3,22 (2,43–3,44)	2,83 (1,98–3,27)	>0,05
ИЛ-2	1,76 (1,68–1,90)	1,74 (1,64–1,92)	1,74 (1,56–1,81)	1,70 (1,60–1,87)	1,81 (1,60–1,96)	1,85 (1,60–2,02)	>0,05
ИЛ-4	19,89 (18,25–20,10)	18,38 (18,29–20,06)	19,08 (16,51–20,44)	19,14 (18,21–20,03)	20,09 (18,20–21,84)	19,85 (18,25–20,13)	>0,05
ИЛ-6	1,67 (1,47–2,04)	1,61 (1,54–1,96)	1,47 (1,35–1,74)	1,58 (1,47–1,84)	1,67 (1,39–2,24)	1,69 (1,54–1,99)	>0,05
ИЛ-8	10,00 (6,63–13,00)	10,52 (8,33–16,45)	8,83 (6,72–13,30)	10,66 (7,39–20,33)	19,80 (18,84–31,74) $p_k = 0,002$	8,48 (6,66–10,30)	0,002 (между пробами 1 и 5); 0,01 (2 и 5); 0,005 (3 и 5)
ИЛ-10	5,63 (5,32–6,05)	5,42 (5,11–5,85)	5,28 (4,87–5,72)	5,75 (5,21–7,17)	5,58 (5,15–6,43)	5,31 (5,07–5,75)	>0,05
ИЛ-17А	14,62 (13,28–15,34)	14,25 (13,35–15,02)	14,15 (12,84–15,24)	14,69 (13,17–15,32)	15,12 (14,04–15,77)	14,63 (13,60–15,19)	>0,05
ФНО- α	2,96 (2,74–3,17)	3,09 (2,81–3,23)	2,86 (2,61–3,01)	3,16 (2,76–3,19)	2,96 (2,76–3,26)	3,06 (2,50–3,36)	>0,05

Примечание. Уровень статистической значимости различий: p_k – по отношению к пробе 6 (контроль); p – между пробами 1 и 5; 2 и 5; 3 и 5.

В этой серии экспериментов была подтверждена способность аскорбата лития усиливать продукцию иммунокомпетентными клетками ИЛ-8. Концентрация ИЛ-8 в супернатантах нагрузочных проб с аскорбатом лития достоверно превышала соответствующий показатель как в контрольных пробах ($p_k = 0,002$), так и в пробах с другими солями лития (уровень статистической значимости различий – 0,010–0,002). Отношение средних значений (*Me*) уровня индуцированной аскорбатом лития продукции ИЛ-8 и его спонтанной продукции составило 2,33.

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что литий уже более полувека применяется в качестве стабилизатора настроения, он остается золотым стандартом для лечения расстройств аффективного спектра, о чем свидетельствует ряд обзоров последнего десятилетия [9–11]. Наряду с высоким терапевтическим эффектом литиевой терапии определенную проблему представляет риск токсичности, для снижения которой предлагаются различные пути, в частности уменьшение дозы препарата, постоянный мониторинг за уровнем лития в крови пациента.

Одним из подходов к решению данной проблемы, как для снижения токсичности, так и для повышения терапевтического эффекта, является расширение спектра солей лития, синтезированных на основе различных анионных компонентов. Ранее нами на моделях плазмы и клеток крови у отдельных соединений, для синтеза которых в качестве анионных компонентов использованы субстраты цикла Кребса (сукцинат, фумарат, пируват) и аскорбиновая кислота, были выявлены антиоксидантный и цитопротекторный эффекты [12, 13].

Учитывая роль воспаления в патогенезе расстройств аффективного спектра, в настоящем исследовании продолжена оценка биологических эффектов новых солей лития, а также соли сравнения карбоната лития, по их влиянию на продукцию ИКК спектра цитокинов в суточной культуре образцов крови больных АЗ и БАР в полной среде RPMI-1640. Анализ данных показал, что практически все соли оказывали однонаправленное действие на продукцию цитокинов в образцах крови пациентов с разной патологией, за исключением влияния аскорбата лития на продукцию ИЛ-8.

При этом не выявлено статистически значимых различий по уровню цитокинов в супернатантах на-

грузочных и контрольных проб, т.е. анализируемые соли не оказывали негативного влияния на клетки крови, которые в условиях эксперимента сохраняли способность к спонтанной продукции цитокинов. Обнаружено новое свойство аскорбата лития усиливать продукцию ИКК ИЛ-8. Установлено, что уровень ИЛ-8 в нагрузочных пробах с аскорбатом лития в 2,3–2,5 раза превышал уровень его спонтанной продукции независимо от нозологической принадлежности и половозрастной характеристики пациентов, у которых были взяты образцы крови для исследования.

Интерлейкин-8 (CXCL8) относится к группе СХС хемокинов, участвующих в регуляции биологической активности практически всех иммунокомпетентных клеток; основная роль ИЛ-8 – усиление хемотаксиса лейкоцитов в очаг инфекции, ее локализация и удаление. Участие хемокинов в развитии иммунного ответа на внедрение патогена широко освещено в литературе [14–16]. Влияние аскорбата лития на синтез ИЛ-8, выявленное в наших экспериментах, может быть обусловлено уникальными свойствами аскорбата в регулировании окислительно-восстановительных процессов [17, 18].

В культуральной среде крови с аскорбатом лития при наличии ионов железа может создаваться прооксидантная система, что приводит к стимуляции лейкоцитов, экспрессии рецепторов CXCR1 и CXCR2, которые инициируют раннюю фазу неспецифического иммунного ответа и способны связываться с CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL6, CXCL7 и CXCL8 [16, 19]. В какой-то степени полученные результаты могут зависеть от условий эксперимента (доза препарата, время инкубации и пр.). Необходимо отметить, что выявленный эффект аскорбат лития проявлял в дозе Li^+ 1,2 ммоль/л, соответствующей терапевтической при лечении аффективных расстройств.

Высокий уровень ИЛ-8 характерен для широкого круга хронических воспалительных заболеваний [20–22]. Вместе с тем имеются данные о том, что продукция ИЛ-8, связанная с активацией врожденного иммунитета, не ослабляет последующие адаптивные механизмы антиген-специфической иммунной защиты [23]. Напротив, подавление секреции ИЛ-8 на начальных фазах воспаления может привести к снижению притока нейтрофилов в очаги воспаления, нарушению элиминации патогена и переходу инфекционного процесса в хроническое течение вследствие иммунодефицита [24]. Выявленное свойство аскорбата лития позволяет расширить арсенал индукторов ИЛ-8/CXCL8 – регулятора естественного иммунитета, особенно необходимого на начальных фазах воспаления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом можно заключить, что сукцинат лития, фумарат лития, пируват лития, аскорбат лития и соль сравнения – карбонат лития оказывают однонаправленное действие на продукцию иммунокомпетентными клетками спектра цитокинов при суточной инкубации в среде RPMI образцов крови больных с алкогольной зависимостью и биполярным аффективным расстройством. Концентрации цитокинов в супернатантах всех нагрузочных и контрольных проб (спонтанная продукция) были сопоставимы, что свидетельствует об отсутствии как стимулирующего, так и супрессирующего влияния данных соединений на функциональную активность ИКК и может рассматриваться в качестве их позитивной характеристики. Эта характеристика относится также и к аскорбату лития. Кроме того, дополнительно обнаружено свойство аскорбата лития как индуктора ИЛ-8.

Полученные в настоящем исследовании данные и установленные ранее антиоксидантные, цитопротекторные свойства ряда новых солей лития подтверждают целесообразность дальнейшего изучения их биологических эффектов с целью выбора наиболее перспективных соединений для разработки импортозамещающих лекарственных средств комбинированного действия как для лечения расстройств аффективного спектра, так и возможного более широкого применения при других заболеваниях, в патогенез которых вовлечены процессы воспаления и окислительного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мосолов С.Н., Костюкова Е.Г., Федотов Д.Д. Сравнительная эффективность и переносимость профилактической терапии карбонатом лития и вальпроатом натрия у больных биполярным аффективным расстройством после купирования маниакального эпизода. *Психическое здоровье*. 2009; 7 (11): 32–39.
2. Prisciandaro J.J., Brown D.G., Brady K.T., Tolliver B.K. Comorbid anxiety disorders and baseline medication regimens predict clinical outcomes in individuals with co-occurring bipolar disorder and alcohol dependence: Results of a randomized controlled trial. *Psychiatry Res*. 2011; 188 (3): 361–365. DOI: 10.1016/j.psychres.2011.04.030.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 16-е изд. М.: Новая Волна, 2017: 114–116.
4. Прокопьева В.Д., Ярыгина Е.Г., Мандель А.И. Динамика окислительной модификации белков и липидов плазмы крови у больных алкоголизмом в процессе терапии. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2017; 3 (96): 11–15.
5. Бохан Н.А., Прокопьева В.Д., Иванова С.А., Ветлугина Т.П., Епимахова Е.В., Плотников Е.В., Ярыгина Е.Г., Бойко А.С. Окислительный стресс и его коррекция у боль-

- ных алкогольной зависимостью: итоги исследований в НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. *Вопросы наркологии*. 2018; 3 (163): 27–59.
6. Martinez P., Lien L., Zemore S., Bramness J.G., Neupane S.P. Circulating cytokine levels are associated with symptoms of depression and anxiety among people with alcohol and drug use disorders. *J. Neuroimmunol.* 2018; 318: 80–86. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2018.02.011.
 7. Zhao G., Liu X. Neuroimmune advance in depressive disorder. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1180: 85–98. DOI: 10.1007/978-981-32-9271-0_4.
 8. Rossetti A.C., Paladini M.S., Riva M.A., Molteni R. Oxidation-reduction mechanisms in psychiatric disorders: A novel target for pharmacological intervention. *Pharmacol. Ther.* 2020; 2010: 107520. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107520.
 9. R.W. Lithium: still a major option in the management of bipolar disorder. *CNS Neurosci. Ther.* 2012; 18 (3): 219–226. DOI: 10.1111/j.1755-5949.2011.00260.x.
 10. Dell’Osso L., De Grande C., Gesi C., Carmassi C., Musetti L. A. New look at an old drug: neuroprotective effects and therapeutic potentials of lithium salts. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2016; 12: 1687–1703. DOI: 10.2147/NDT.S106479.
 11. Won E., Kim Y.K. An oldie but goodie: lithium in the treatment of bipolar disorder through neuroprotective and neurotrophic mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18 (12): 2679. DOI: 10.3390/ijms18122679.
 12. Епимахова Е.В., Лосенков И.С., Рощина О.В., Плотников Е.В. Оценка цитопротекторного и антиоксидантного действия пирувата лития на мононуклеары периферической крови больных алкоголизмом. *Вопросы наркологии*. 2018; 12 (171): 36–47.
 13. Прокопьева В.Д., Ветлугина Т.П., Ярыгина Е.Г., Плотников Е.В., Бохан Н.А. Роль анионного компонента в проявлении эффектов органических солей лития на окислительную модификацию белков и липидов крови больных депрессивными расстройствами. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64 (2): 13–20. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.13-20.
 14. Sokol C.L., Luster A.D. The chemokine system in innate immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015; 7 (5): a016303. DOI: 10.1101/cshperspect.a016303.
 15. Москалёв А.В., Рудой А.С., Апчел В.Я. Хемокины, их рецепторы и особенности развития иммунного ответа. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2017; 2 (58): 182–187.
 16. Меняйло М.Е., Малащенко В.В., Шмаров В.А., Газатова Н.Д., Мелашенко О.Б., Гончаров А.Г., Селедцов Г.В., Селедцов В.И. Интерлейкин-8 способен поддерживать провоспалительную активность моноцитов (макрофагов) человека. *Гены & Клетки*. 2018; 13 (1): 65–69. DOI: 10.23868/201805007.
 17. Halliwell B., Frei B., England L., Ames B. N. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant *in vivo*? *Free Radic. Res.* 1996; 25 (5): 439–454. DOI: 10.3109/10715769609149066.
 18. Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O., Dorozhko E., Bohan N., Plotnikov S. Lithium-based antioxidants: electrochemical properties and influence on immune cells. *Physiology and Pharmacology*. 2015; 19 (2): 107–113.
 19. De Filippo K., Dudeck A., Hasenberg M., Nye E., van Rooijen N., Hartmann K., Gunzer M., Roers A., Hogg N. Mast cell and macrophage chemokines CXCL1/CXCL2 control the early stage of neutrophil recruitment during tissue inflammation. *Blood*. 2013; 121 (24): 4930–4937. DOI: 10.1182/blood-2013-02-486217.
 20. Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Новицкий В.В., Хардикова С.А. Цитокины как индукторы постперфузионной системной воспалительной реакции у кардиохирургических больных с различной продолжительностью коронарной патологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (4): 260–268. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-260-268.
 21. Shetelig C., Limalanathan S., Hoffmann P., Seljeflot I., Gran J.M., Eritsland J., Andersen G.Ø. Association of IL-8 with infarct size and clinical outcomes in patients with STEMI. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018; 72 (2): 187–198. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.04.053.
 22. Черных В.В., Коненков В.И., Ермакова О.В., Орлов Н.Б., Обухова О.О., Еремина А.В., Трунов А.Н. Содержание цитокинов и факторов роста во внутриглазной жидкости у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (1): 257–265. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-257-265.
 23. Меняйло М.Е., Малащенко В.В., Шмаров В.А., Газатова Н.Д., Тодосенко Н.М., Мелашенко О.Б., Гончаров А.Г., Селедцов В.И. Прямое влияние интерлейкина-8 на активацию Т-клеток. *Российский иммунологический журнал*. 2016; 10 (2): 174–178.
 24. Marks D.J., Segal A.W. Innate immunity in inflammatory bowel disease: a disease hypothesis. *J. Pathol.* 2008; 214 (2): 260–266. DOI: 10.1002/path.2291.

Вклад авторов

Ветлугина Т.П. – разработка технологии эксперимента, дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание рукописи. Епимахова Е.В. – выполнение экспериментальной части исследования, статистический анализ данных. Савочкина Д.Н. – выполнение экспериментальной части исследования. Плотников Е.В. – синтез препаратов лития, редактирование рукописи. Бойко А.С. – определение концентрации цитокинов по технологии Luminex xMAP. Бохан Н.А. – проверка интеллектуального содержания, редактирование рукописи, утверждение рукописи для публикации.

Сведения об авторах

Ветлугина Тамара Парфеновна, д-р биол. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2068-0931.

Епимахова Елена Викторовна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, отделение аддитивных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-9304-4496.

Савочкина Дарья Николаевна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1263-5516.

Плотников Евгений Владимирович, канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ; доцент, Исследовательская школы химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4374-6422.

Бойко Анастасия Сергеевна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2955-9057.

Бохан Николай Александрович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, зав. отделением аддитивных состояний, директор НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1052-855X.

(✉) **Ветлугина Тамара Парфеновна**, e-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru

Поступила в редакцию 01.08.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Гемодинамический статус пациентов с различными вариантами коморбидности ишемической болезни сердца до и после коронарного шунтирования

Гельцер Б.И.¹, Сергеев Е.А.¹, Котельников В.Н.¹, Силаев А.А.¹, Карпов Р.С.²

¹ Дальневосточный федеральный университет (ДВФУ)
Россия, 690091, г. Владивосток, ул. Суханова, 8

² Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить гемодинамический статус методом транспульмональной термодилуции (ТПТД) у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) с различными вариантами коморбидности до и после коронарного шунтирования (КШ).

Материалы и методы. Обследованы 66 больных ИБС (40 мужчин и 26 женщин) в возрасте 53–77 лет, поступивших на плановое КШ, которые были разделены на три группы коморбидности: кардиоваскулярную, респираторную и метаболическую. Первая из них представлена сочетанием ИБС и мультифокального атеросклероза, вторая – ИБС и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), третья – ИБС и метаболического синдрома (МС). Всем больным проведено КШ в условиях искусственного кровообращения (ИК). Показатели гемодинамики регистрировали методом ТПТД с использованием модуля Pulsion Picco Plus (Германия) на трех этапах: после начала искусственной вентиляции легких (I этап), после завершения ИК (II этап) и через 24 ч после КШ (III этап).

Результаты. Больные ИБС с различными вариантами коморбидности отличались характерными признаками гемодинамических изменений. При сочетании ХОБЛ и ИБС после отхода от ИК и через 24 ч после КШ отмечен наиболее высокий индекс системного сосудистого сопротивления, минимальные значения глобальной фракции изгнания, менее заметное по отношению к другим группам больных снижение глобального конечного диастолического объема и легочного объема крови. При респираторной и метаболической коморбидности фиксировались максимальные значения индексов внесосудистой жидкости в легких и проницаемости легочных сосудов. У больных с кардиоваскулярной коморбидностью нарушения гемодинамического и волеического статуса в динамике наблюдения были менее выраженными.

Заключение. Использование метода ТПТД у больных ИБС до и после КШ позволяет детализировать функциональный статус системы кровообращения при различных вариантах коморбидности, что повышает эффективность риск-стратификации и точность прогнозирования возможных осложнений.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, коронарное шунтирование, коморбидность, транспульмональная термодилуция.

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 19-29-01077).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Дальневосточного федерального университета (протокол № 12 от 15.11.2017).

Для цитирования: Гельцер Б.И., Сергеев Е.А., Котельников В.Н., Силаев А.А., Карпов Р.С. Гемодинамический статус пациентов с различными вариантами коморбидности ишемической болезни сердца до и после коронарного шунтирования. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 29–37. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-29-37>.

Hemodynamic status of patients with different comorbidities of ischemic heart disease before and after coronary artery bypass grafting

Geltser B.I.¹, Sergeev E.A.¹, Kotelnikov V.N.¹, Silaev A.A.¹, Karpov R.S.²

¹ Far Eastern Federal University (FEFU)

6, Sukhanova Str., Vladivostok, 690091, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences

111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the hemodynamic status by transpulmonary thermodilution (TPTD) in patients with ischemic heart disease (IHD) with different comorbidities before and after coronary artery bypass grafting (CABG).

Materials and methods. 66 patients with IHD (40 men and 26 women) aged 53 to 77 years who were admitted for planned CABG were examined. The patients were divided into three groups according to the comorbidity: cardiovascular, respiratory, and metabolic. The first comorbidity was represented by a combination of IHD and multifocal atherosclerosis, the second – by IHD and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and the third – by IHD and metabolic syndrome (MS). All patients underwent CABG with the use of cardiopulmonary bypass. Hemodynamic parameters were recorded by the TPTD method using the Pulsion Picco Plus module (Germany) at 3 stages: after the start of mechanical ventilation (stage I), after the completion of cardiopulmonary bypass (stage II), and 24 hours after CABG (stage III).

Results. The patients with IHD with different comorbidities differed in characteristic signs of hemodynamic changes. In IHD with comorbid COPD, after withdrawal from the cardiopulmonary bypass and 24 hours after CABG, the highest index of systemic vascular resistance, the minimum values of the global ejection fraction, and a decrease in the global end-diastolic volume and pulmonary blood volume less noticeable compared with other groups of patients were noted. With comorbid respiratory and metabolic disorders, the maximum values for the indices of extravascular lung water and pulmonary vascular permeability were recorded. In the patients with a comorbid cardiovascular disease, hemodynamic and volume status violations in the dynamic follow-up were less pronounced.

Conclusion. The use of the TPTD method in patients with IHD before and after CABG makes it possible to specify the functional state of the circulatory system in different comorbidities, which increases the effectiveness of risk stratification and the accuracy of predicting possible complications.

Key words: ischemic heart disease, coronary artery bypass grafting, comorbidity, transpulmonary thermodilution.

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 study was carried out within the framework and with financial support of the RFBR grant No. 19-29-01077.

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 Far Eastern Federal University (Protocol No. 12 of 15.11.2017).

For citation: Geltser B.I., Sergeev E.A., Kotelnikov V.N., Silaev A.A., Karpov R.S. Hemodynamic status of patients with different comorbidities of ischemic heart disease before and after coronary artery bypass grafting. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 29–37. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-29-37>.

ВВЕДЕНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) сохраняет одну из лидирующих позиций среди причин смертности населения во всем мире. По данным литературы, у 70% больных ИБС фиксируются различные варианты коморбидной патологии, которые нередко модифицируют клиническую картину основного заболевания и снижают эффективность фармакотерапии [1]. К наиболее распространенным формам коморбидности ИБС относят ее комбинации с другими заболеваниями сердечно-сосудистой системы, а также с метаболическим синдромом (МС) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Так, сочетание атеросклеротической окклюзии сонных и коронарных артерий (КА) имеет место у 75% пациентов, а комбинация ИБС с хронической ишемией нижних конечностей – у 37–78% [2]. МС верифицируют у 24% пациентов, направляемых на коронарное шунтирование (КШ), а ХОБЛ – у 35% [3].

По данным Американского общества торакальных хирургов, при коморбидности ИБС и МС риск послеоперационных осложнений увеличивается в 1,4 раза [3]. Исследование с использованием шкалы SYNTAX-II показало, что вероятность неблагоприятного госпитального периода после КШ при сочетании ХОБЛ и ИБС увеличивается в 2 раза [4]. У больных с сосудистой коморбидностью в зависимости от количества поврежденных атеросклерозом артериальных бассейнов риск послеоперационных сердечно-сосудистых событий возрастает с 1,64 до 10,5 раз по сравнению с изолированным поражением КА.

Высокая вероятность осложнений и неблагоприятного прогноза хирургического вмешательства у больных ИБС с коморбидной патологией определяет необходимость более тщательного контроля за функциональным статусом аппарата кровообращения на всех этапах госпитального периода [5]. В рутинной клинической практике в качестве методов гемодинамического мониторинга используют электрокардиографию, эхокардиографию, пульсоксиметрию, не инвазивное и инвазивное измерение артериального давления, регистрацию центрального венозного давления. Однако общепринятые методы исследования гемодинамики не всегда обеспечивают персонализированный подход к оценке функционального состояния системы кровообращения, что особенно важно в случаях высокого риска осложнений, ассоциированных с различными вариантами коморбидности.

В ряде работ показано, что использование современных технологий волюметрического и гемодинамического мониторинга существенно повышает эффективность ранней диагностики неблагоприятных

сердечно-сосудистых событий. К таким технологиям относят метод транспульмональной термодилуции, применение которого позволяет объективно оценить волемический и гемодинамический статус больных и своевременно осуществлять его коррекцию [6].

Цель настоящего исследования – оценить гемодинамический статус методом транспульмональной термодилуции у больных ИБС с различными вариантами коморбидности до и после КШ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное обсервационное клиническое исследование включены 66 больных ИБС (40 мужчин и 26 женщин) в возрасте 53–77 лет (с медианой 66 лет), поступивших в Медицинский центр Дальневосточного федерального университета для планового КШ. В зависимости от превалирования клинических проявлений сопутствующих заболеваний больные ИБС были разделены на три группы коморбидности: кардиоваскулярную, респираторную и метаболическую. В первую группу вошли 24 пациента с сочетанием ИБС и мультифокального атеросклероза (хронической ишемией нижних конечностей и атеросклеротическим сужением сонных артерий $\geq 50\%$). Вторую группу составили 20 больных с ХОБЛ II–III степени вне обострения. Третья группа была представлена 22 пациентами ИБС с МС, верифицированным согласно клиническим рекомендациям Министерства здравоохранения РФ.

Среди обследованных последней группы индекс массы тела был в диапазоне 31–34 кг/м², что свидетельствовало об ожирении I степени. У больных всех групп диагностирована хроническая сердечная недостаточность (ХСН) II–III функциональных классов по классификации NYHA и контролируемая АГ II–III степени с очень высоким риском. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Дальневосточного федерального университета (протокол № 12 от 15.11.2017) и соответствовало Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266.

Гемодинамические и волемические показатели регистрировали методом транспульмональной термодилуции с использованием монитора Dreger Delta XL и модуля Pulsion PiCCO Plus (Германия) после введения в плечевую артерию катетера из набора PV2015L20. Длительность его нахождения в арте-

риальном русле составляла не более 3 сут. Промывание артериальной линии осуществлялась боллусами 0,9%-го раствора NaCl с добавлением гепарина 1 Ед/мл. При калибровке модуля выполнялись три последовательных термодилюции. Анализ гемодинамических и волевических параметров проводили на трех этапах исследования: непосредственно после интубации трахеи и начала ИВЛ (I этап); после завершения процедуры ИК (II этап); через 24 ч после оперативного вмешательства (III этап).

Регистрировали следующие параметры: ударный индекс (УИ), сердечный индекс (СИ), вариабельность пульсового давления (ВПД), вариабельность ударного объема (ВУО), индекс системного сосудистого сопротивления (ИССС), индекс глобального конечного диастолического объема крови (ИГКДО), глобальную фракцию изгнания (ГФИ), индекс функции сердца (ИФС), внесосудистую воду легких (ВСВЛ) и индекс внесосудистой воды легких (ИВСВЛ). Кроме того, рассчитывали следующие показатели: легочный объем крови (ЛОК) = ГКДО – ВСВЛ, индекс проницаемости легочных сосудов (ИПЛС) = ВСВЛ/ЛОК, индекс динамической артериальной эластичности (Ea_{dyn}) = ВПД/ВУО.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft Inc., США) и Excel (Microsoft Office 2018) в среде операционной системы Microsoft Windows 10. Проверку гипотезы нормальности распределения количественных признаков в анализируемых группах осуществляли с помощью теста Шапиро – Уилка. Анализ данных выполнялся с помощью описательных статистик: медиан (Me) и их 95%-х доверительных интервалов (ДИ). ДИ рассчитывали методом бутстрепа. Межгрупповые различия оценивали с помощью теста Краскела – Уоллиса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные данные демонстрировали, что на I этапе исследования показатели УИ и СИ у больных с кардиоваскулярной и метаболической коморбидностью соответствовали нормативным значениям (40–60 мл/м² и 3–5 л/мин/м²). После отхода от ИК у пациентов с ИБС в сочетании с поражением других артериальных бассейнов фиксировалось снижение УИ на 18% на фоне стабильного уровня СИ. На III этапе у лиц этой группы УИ достигал исходных значений, а СИ на 8,6% превышал их. При метаболической коморбидности на II этапе исследования показатели УИ и СИ снижались более существенно (на 37 и 18% соответственно), а через сутки после операции отмечена тенденция к их увеличению.

У пациентов с сочетанием ИБС и ХОБЛ отход от ИК сопровождался аналогичными изменениями гемодинамики: снижением УИ на 34%, а СИ – на 9%. Вместе с тем через 24 ч после КШ указанная тенденция нарастала, что иллюстрировалось дальнейшим снижением этих показателей.

У пациентов всех групп до операции фиксировалось увеличение ИГКДО и снижение ГФИ по отношению к их нормативным значениям, что указывало на систолодиастолическую дисфункцию миокарда (таблица). Через 24 ч после КШ у пациентов с кардиоваскулярной коморбидностью ИГКДО снизился на 12,7%, а ГФИ увеличился на 2%. При сочетании ИБС с МС динамика этих показателей была более выраженной и составляла 33 и 13,6% соответственно, что свидетельствовало о более значительном снижении преднагрузки и улучшении насосной функции сердца [5]. У пациентов с кардиореспираторной коморбидностью после отхода от ИК снижение ИГКДО от исходного уровня составило только 5%, а через 24 ч после КШ – 11%. При этом показатель ГФИ по отношению к другим группам обследованных на всех этапах исследования имел минимальные значения, что свидетельствовало о более низком кардиальном резерве у этой категории больных.

В нашем исследовании уровень ИФС, который является интегральным показателем производительности миокарда, до оперативного лечения у всех больных был значимо ниже нормативных значений. Через сутки после КШ у пациентов I и III групп отмечался прирост данного показателя до референсного диапазона, а у больных с респираторной коморбидностью он не достигал его. Показатель ИССС до оперативного лечения у пациентов всех групп существенно превышал нормативный уровень, но не имел межгрупповых различий. После КШ у больных с сосудистой и метаболической коморбидностью он снижался на 46–48%, а у лиц с сочетанием ХОБЛ и ИБС не отличался от исходных значений.

Показатели ВУО, ВПД и Ea_{dyn} относятся к предикторам гемодинамического ответа больных на инфузионную нагрузку и являются индикаторами кардиореспираторного взаимодействия в процессе ИВЛ [6]. Уровень ВУО и ВПД зависит от наполнения сосудистого русла и от способности сердца отвечать на внезапное увеличение преднагрузки. При этом повышение данных показателей ассоциируется с гиповолемией, а снижение – с нарастающей сердечной недостаточностью. Установлено, что после отхода от ИК статистически значимые изменения ВУО и ВПД имели место только среди пациентов с респираторной коморбидностью, что выражалось в их увеличении на 28 и 22% соответственно.

Таблица

Показатели системной и легочной гемодинамики у больных ИБС с различными вариантами коморбидности, Ме [95%-й ДИ]										
Показатель	Этап исследования									
	I			II			III		p	
	ИБС + ПАБ, n = 24	ИБС + ХОБЛ, n = 20	ИБС + МС, n = 22	ИБС + ПАБ, n = 24	ИБС + ХОБЛ, n = 20	ИБС + МС, n = 22	ИБС + ПАБ, n = 24	ИБС + ХОБЛ, n = 20		ИБС + МС, n = 22
ИГКДО, мл (680–800)	989,3 ⁵¹ [911,1;1067,5]	948,5 ² [786,2; 1110,8]	1193,56 ³ [993,4; 1393,7]	902,82 ⁴ [824,6; 981,1]	895,2 ⁵ [810,7; 979,7]	917,89 ⁶ [759,2; 1076,5]	899,06 ⁷ [806,94; 991,17]	847,33 ⁸ [745,8; 948,8]	897,56 ⁹ [707,01; 1088,11]	$P_{1-4} = 0,01;$ $P_{4-7} = 0,47;$ $P_{1-7} = 0,02;$ $P_{2-5} = 0,06;$ $P_{3-8} = 0,06;$ $P_{2-8} = 0,024;$ $P_{3-6} = 0,02;$ $P_{6-9} = 0,07;$ $P_{3-9} = 0,037;$ $P_{2-3} = 0,02$
ГФИ, % (25–35)	22 ¹ [20;25]	19 ² [18;22]	22 ³ [20;24]	21 ⁴ [19;24]	18 ⁵ [15;22]	21 ⁶ [18;25]	26 ⁷ [23;30]	19 ⁸ [16;21]	25 ⁹ [22;28]	$P_{1-4} = 0,06;$ $P_{4-7} = 0,053;$ $P_{1-7} = 0,03;$ $P_{2-5} = 0,452;$ $P_{3-8} = 0,07;$ $P_{2-8} = 0,73;$ $P_{3-6} = 0,65;$ $P_{6-9} = 0,073;$ $P_{3-9} = 0,01$
ИФС, л/мин (4,5–6,5)	3,9 ¹ [3,2;4,6]	3,98 ² [3,4;4,6]	3,25 ³ [3,1;3,42]	4,32 ⁴ [3,9;4,7]	3,94 ⁵ [3,66;4,23]	4,44 ⁶ [3,62;5,25]	4,75 ⁷ [4,4;5,1]	3,83 ⁸ [3,6; 4,09]	5 ⁹ [4,2;5,8]	$P_{1-4} = 0,06;$ $P_{4-7} = 0,03;$ $P_{1-7} = 0,001;$ $P_{2-5} = 0,08;$ $P_{3-8} = 0,07;$ $P_{2-8} = 0,06;$ $P_{3-6} = 0,007;$ $P_{6-9} = 0,078;$ $P_{3-9} = 0,0056$
ИССС, дли/сек/см ⁵ / м ² (1 200– 2 000)	2345,6 ¹ [1942,76; 2748,41]	2320,8 ² [1910,3; 2731,36]	2355,89 ³ [1973,08; 2739,4]	1791,5 ⁴ [1499,1; 2084,2]	2359,67 ⁵ [2125,91; 2593,42]	1788,4 ⁶ [1600,28; 1976,83]	1646,4 ⁷ [1466,4; 1826,3]	2294 ⁸ [2070,7; 2517,3]	1589,33 ⁹ [1383,18; 1795,48]	$P_{1-4} = 0,02;$ $P_{4-7} = 0,07;$ $P_{1-7} = 0,002;$ $P_{2-5} = 0,45;$ $P_{3-8} = 0,09;$ $P_{2-8} = 0,06;$ $P_{3-6} = 0,005;$ $P_{6-9} = 0,07;$ $P_{3-9} = 0,015$
ВУО, % (<10)	7,71 ¹ [4,63;10,8]	9,5 ² [7,93;11,1]	7,22 ³ [4,13;10,3]	8,75 ⁴ [5,23;12,3]	11,5 ⁵ [6,57;16,4]	6,33 ⁶ [3,38; 9,39]	12,13 ⁷ [9,4;14,9]	16,8 ⁸ [12,2; 21,5]	14,22 ⁹ [9,8; 18,6]	$P_{1-4} = 0,06;$ $P_{4-7} = 0,043;$ $P_{1-7} = 0,03;$ $P_{2-5} = 0,06;$

Показатель	Окончание таблицы									
	Этап исследования									
	I			II			III			p
	ИБС + ПАБ, n = 24	ИБС + ХОБЛ, n = 20	ИБС + МС, n = 22	ИБС + ПАБ, n = 24	ИБС + ХОБЛ, n = 20	ИБС + МС, n = 22	ИБС + ПАБ, n = 24	ИБС + ХОБЛ, n = 20	ИБС + МС, n = 22	
ВПД, % (<10)	7,76 ¹ [4,8;10,8]	7,67 ² [6,36;8,98]	6,33 ³ [4,34;8,33]	7,94 ⁴ [4,44;11,4]	10 ⁵ [6,35;13,7]	6,33 ⁶ [2,83;9,8]	9,94 ⁷ [7,9;12,3]	16,17 ⁸ [12,9;19,5]	12,22 ⁹ [7,9;16,5]	p ₅₋₈ = 0,04; p ₂₋₈ = 0,03; p ₃₋₆ = 0,06; p ₆₋₉ = 0,026; p ₃₋₉ = 0,03 p ₁₋₄ = 0,47; p ₄₋₇ = 0,065; p ₁₋₇ = 0,06; p ₂₋₅ = 0,07; p ₅₋₈ = 0,03; p ₂₋₈ = 0,018; p ₃₋₆ = 0,16; p ₆₋₉ = 0,02; p ₃₋₉ = 0,03
ИВСВЛ, мл/ кг (3–7)	10 ¹ [8,4;11,6]	13,6 ² [12,2;15,1]	14,2 ³ [13,1;15,4]	11,2 ⁴ [9,1;13,25]	14,3 ⁵ [12,1;17,1]	13,07 ⁶ [11,8;14,3]	7,88 ⁷ [7,16;8,6]	10 ⁸ [9,1;11]	12 ⁹ [10,2;13,8]	p ₁₋₄ = 0,12; p ₄₋₇ = 0,06; p ₁₋₇ = 0,014; p ₂₋₅ = 0,08; p ₅₋₈ = 0,06; p ₂₋₈ = 0,04; p ₃₋₆ = 0,08; p ₆₋₉ = 0,07; p ₃₋₉ = 0,03
ЛОК, мл (170–200)	437,94 ¹ [395,75;480,14]	395,33 ² [369,74;420,92]	487,1 ³ [398,93;574,62]	392,47 ⁴ [359,34;425,6]	376 ⁵ [307,1;444,9]	370,89 ⁶ [315,11;426,67]	396,82 ⁷ [350,1;443,7]	350,83 ⁸ [313,1;389,1]	361,78 ⁹ [293,65;429,91]	p ₁₋₄ = 0,032; p ₄₋₇ = 0,65; p ₁₋₇ = 0,003; p ₂₋₅ = 0,04; p ₅₋₈ = 0,75; p ₂₋₈ = 0,06; p ₃₋₆ = 0,03; p ₆₋₉ = 0,07; p ₃₋₉ = 0,02
ИПЛС, у.е. (1–3)	1,57 ¹ [1,32;1,82]	2,22 ² [1,94;2,5]	1,71 ³ [1,35;2,1]	1,66 ⁴ [1,45;1,87]	2,49 ⁵ [2,22;2,7]	2,52 ⁶ [2,32;2,72]	1,64 ⁷ [1,4;1,8]	1,8 ⁸ [1,7;2]	1,84 ⁹ [1,7;2,0]	p ₁₋₄ = 0,045; p ₄₋₇ = 0,15; p ₁₋₇ = 0,06; p ₂₋₅ = 0,07; p ₅₋₈ = 0,03; p ₂₋₈ = 0,022; p ₃₋₆ = 0,004; p ₆₋₉ = 0,03; p ₃₋₉ = 0,042

Примечание. ПАБ – поражения периферических артериальных бассейнов; ИГКДО – индекс конечного диастолического объема; ГФИ – глобальная фракция изгнания; ИФС – индекс функции сердца; ИССС – индекс системного сосудистого сопротивления; ВУО – вариабельность ударного объема; ВПД – вариабельность пульсового давления; ИВСВЛ – индекс внесосудистой воды легких; ЛОК – легочный объем крови; ИПЛС – индекс проницаемости легочных сосудов; p₁₋₉ – уровень статистической значимости различий между аналогичными вариантами коморбидности на этапе исследования.

Через сутки после КШ фиксировался достоверный рост этих показателей среди больных всех групп, но с максимальным уровнем при сочетании ИБС и ХОБЛ. Показатель динамической артериальной эластичности у пациентов с сосудистой и метаболической коморбидностью до КШ находился выше порогового значения, а после операции он достигал его. При этом у пациентов с ХОБЛ имела место противоположная тенденция, которая выражалась в увеличении данного параметра на II и III этапах исследования.

Индикатор волемического статуса легких ИВСВЛ до операции превышал нормативные значения (3,0–7,0 мл/кг) у больных всех групп, но был наиболее высоким среди лиц с МС и ХОБЛ (см. таблицу). После отхода от ИК уровень ИВСВЛ существенно не изменялся, а через сутки после операции он снижался, но не достигал референсных значений. У больных с МС уровень ИВСВЛ был максимальным, что ассоциировалось с влиянием на легочный кровоток избыточного интраабдоминального давления [7]. До операции показатель ЛОК у больных с ХОБЛ был значимо ниже, чем в группах сравнения. После отхода от ИК у всех обследованных отмечена тенденция к его снижению, которая сохранялась и через 24 ч после КШ. На первом этапе исследования у пациентов с респираторной коморбидностью ИПЛС был значимо выше, чем в других группах. После отхода от ИК у больных с ХОБЛ и МС увеличение ИПЛС было более заметным, что могло свидетельствовать о возрастающей вероятности острого повреждения легких [8].

ОБСУЖДЕНИЕ

Авторами предпринята попытка комплексной оценки гемодинамического и волемического статуса больных ИБС для выяснения фенотипических особенностей кровообращения при различных клинических вариантах коморбидности. Установлено, что наличие исходно сниженных показателей ГФИ и ИФС у больных с кардиоваскулярной и метаболической коморбидностью и их последующий рост до референсного уровня демонстрируют существенное улучшение функционального статуса миокарда уже через сутки после его хирургической реваскуляризации. У пациентов с кардиореспираторной коморбидностью отсутствие положительной динамики этих показателей может быть обусловлено системными эффектами хронической артериальной гипоксемии и персистирующего воспаления, препятствующих восстановлению сократительной функции миокарда даже при возобновлении коронарного кровотока [1].

Результаты измерения ИССС при непрерывном мониторинге существенно дополняют гемодинамический «портрет» больных ИБС. Так, на I этапе исследования у большинства из них отмечалось повышение данного показателя на фоне нормальных или сниженных значений СИ, что характерно для лиц пожилого возраста с АГ [5]. После отхода от ИК у лиц с сосудистой и метаболической коморбидностью снижение ИССС указывало на сокращение постнагрузки на ЛЖ и улучшение его насосной функции. При респираторной коморбидности показатель ИССС в раннем послеоперационном периоде превышал верхнюю границу нормативных значений, что может быть обусловлено более заметным ограничением дилатационного потенциала периферического артериального русла при сочетании ИБС и ХОБЛ.

В настоящее время измерение ИГКДО относят к наиболее точным технологиям оценки статической преднагрузки на сердце [6]. В нашем исследовании до перевода на ИК данный показатель у больных с сочетанием ИБС и ХОБЛ был статистически значимо ниже, чем в других группах. В этих случаях сокращение объема диастолического наполнения камер сердца может быть следствием более заметного ограничения венозного возврата и повышения легочного сосудистого сопротивления, индуцированного ремоделированием легочной ткани. Это подтверждалось результатами оценки динамической преднагрузки с помощью показателей ВУО и ВПД.

Динамика их изменений в процессе ИВЛ свидетельствовала о том, что при респираторной коморбидности имеет место более значительное увеличение внутригрудного давления и снижение венозного возврата к сердцу, чем в группах сравнения. Высокий уровень Ea_{dyn} подтверждал концепцию избыточной артериальной ригидности у больных ХОБЛ [5]. По мнению ряда авторов, ИВСВЛ является одним из наиболее точных параметров, характеризующих объем внесосудистой жидкости в легких. Согласно литературным данным, увеличение этого индекса более 10 мл/кг является предиктором субклинического отека легких [8, 9].

В нашем исследовании наибольшие значения данного показателя были зафиксированы при респираторной и метаболической коморбидности, что может быть обусловлено более выраженными нарушениями легочного кровообращения у этой категории больных. Ранее показано, что увеличение давления в малом круге кровообращения приводит к эффекту «сита» легочных капилляров и провоцирует трансудацию жидкости в интерстиционную ткань [7]. К важным факторам патогенеза внесосудистой легочной гиперволемии относят синдром реперфузии легких.

Согласно рандомизированным клиническим исследованиям, его основной причиной является предшествующая гипоперфузия легких, развивающаяся на фоне ИК [2]. Накоплению внесосудистой жидкости в легких способствует также вскрытие плевральных полостей, системный воспалительный ответ на ИК, избыточная трансфузионная терапия, ателектазирование базальных сегментов легких и микроангиопатия, ассоциированная с МС и сахарным диабетом [3]. Для раннего распознавания кардиогенного и не кардиогенного отека легких важное значение имеет оценка показателя ИПЛС. Последний может значительно повышаться при остром респираторном дистресс-синдроме, но оставаться в пределах референсных значений при кардиогенном отеке легких.

Увеличение ИПЛС свидетельствует о синдроме «капиллярной утечки легких», что требует своевременного ограничения инфузионной терапии и назначения петлевых диуретиков. До оперативного лечения у больных с кардиореспираторной коморбидностью ИПЛС был значимо выше, чем в группах сравнения, что указывало на исходно более высокую проницаемость легочных капилляров, обусловленную влиянием патогенетических факторов ХОБЛ. После отхода от ИК в группах больных ИБС с сочетанием ХОБЛ и МС отмечен рост этого показателя. Полученные результаты свидетельствуют о том, что факторы кардиохирургического стресса, в том числе ИК, являются триггерами патофизиологических реакций, способствующих увеличению проницаемости легочных сосудов и вероятности респираторных осложнений у этой категории больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Детализация циркуляторно-волемического статуса на основе ТПТД повышает эффективность риск-стратификации больных и точность прогнозирования возможных осложнений. Роль этих исследований возрастает при коморбидности ИБС, которая

ассоциируется с фенотипическими особенностями кровообращения, что в случаях её респираторного и метаболического вариантов проявлялось более заметным увеличением внесосудистой жидкости в легких и проницаемости легочных капилляров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лилли Л.С. Патофизиология сердечно-сосудистой системы. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2016: 735.
2. Tennyson C., Lee R., Attia R. Is there a role for HbA1c in predicting mortality and morbidity outcomes after coronary artery bypassgraft surgery? *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2013; 17 (6): 1000–1008. DOI: 10.1093/icvts/ivt351.
3. Raza S., Sabik J.F., Ainkaran P., Blackstone E.H. Coronary artery bypass grafting in diabetics: a growing healthcare cost crisis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2015; 150 (2): 304–312. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2015.03.041.
4. Kurniawan E., Ding F.H., Zhang Q., Yang Z.K., Jian H.U., Shen W.F. Predictive value of SYNTAX score II for clinical outcomes in octogenarian undergoing percutaneous coronary intervention. *Journal of Geriatric Cardiology*. 2016; 13 (9): 733–739. DOI: 10.11909/j.issn.1671-5411.2016.09.014.
5. Киров М.Ю., Ленкин А.И., Кузьков В.В. Применение волюметрического мониторинга на основе транспульмональной термодилуции при кардиохирургических вмешательствах. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (6): 70–79.
6. Hilty M.P., Franzen D.P., Wyss C., Biaggi P., Maggiorini M. Validation of transpulmonary thermodilution variables in hemodynamically stable patients with heart diseases. *Ann. Intensive Care*. 2017; 7 (1): 86. DOI: 10.1186/s13613-017-0307-0.
7. Tagami T., Ong M.E.H. Extravascular lung water measurements in acute respiratory distress syndrome: why, how, and when? *Current Opinion in Critical Care*. 2018; 24 (3): 209–215. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000503.
8. Козлов И.А., Романов А.А. Биомеханика дыхания, внутрилегочная вода и оксигенирующая функция легких во время неосложненных операций с искусственным кровообращением. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (3): 17–22.
9. Hilty M.P., Franzen D.P., Wyss C., Biaggi P., Maggiorini M. Validation of transpulmonary thermodilution variables in hemodynamically stable patients with heart diseases. *Ann. Intensive Care*. 2017; 7 (1): 86 DOI: 10.1186/s13613-017-0307-0.

Вклад авторов

Гельцер Б.И. предложил концепцию исследования, руководил им и подготовкой рукописи. Карпов Р.С., Котельников В.Н. разрабатывали дизайн исследования, анализировали данные и готовила текст публикации. Сергеев Е.А., Силаев А.А. отвечали за сбор данных, интерпретацию результатов, готовили текст рукописи.

Сведения об авторах

Гельцер Борис Израйлевич, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, директор Департамента клинической медицины, ДВФУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-9250-557X.

Сергеев Евгений Александрович, аспирант, врач-анестезиолог, Медицинский центр, Школа биомедицины, ДВФУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-2176-7070.

Котельников Владимир Николаевич, д-р мед. наук, профессор, Департамент клинической медицины, Школа биомедицины, ДВФУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0001-5830-1322.

Силаев Андрей Анатольевич, канд. мед. наук, доцент, Департамент клинической медицины, зав. Центром анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, Медицинский центр, Школа биомедицины, ДВФУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0003-3701-4038.

Карпов Ростислав Сергеевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, науч. руководитель НИИ кардиологии, Томский НИМЦ. ORCID 0000-0002-7011-4316.

(✉) **Котельников Владимир Николаевич**, e-mail: 671235@mail.ru

Поступила в редакцию 04.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Оценка уровня сывороточного BDNF при комплексной реабилитации пациентов с ишемическим инсультом с использованием традиционных подходов к восстановлению моторных функций

Казаков С.Д.¹, Королева Е.С.¹, Бразовская Н.Г.¹, Зайцев А.А.², Иванова С.А.³,
Алифинова В.М.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, Томск, Московский тракт, 2

² Сибирский федеральный научно-клинический центр (СибФНКЦ)
Россия, 636000, г. Северск, ул. Мира, 4

³ Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный
исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить взаимосвязь между изменением уровня сывороточного BDNF, регрессом моторного дефицита и восстановлением функциональной активности у пациентов с ишемическим инсультом после II этапа медицинской реабилитации.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 49 пациентов с ишемическим инсультом в бассейне средней мозговой артерии после I этапа медицинской реабилитации. Группа I ($n = 32$) прошла II этап реабилитации в ранний восстановительный период, группа II ($n = 17$) выписана на амбулаторное наблюдение по месту жительства. Точки наблюдения: 14-е и 90-е сут. Оценочные шкалы: шкала инсульта Национального института здоровья (NIHSS), шкала Фугл – Мейера (FMA), модифицированная шкала Рэнкина (mRS). Уровень BDNF в сыворотке крови определяли на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, США).

Результаты. Сравнительный анализ исследуемой популяции показал, что пациенты, получавшие моторную реабилитацию в раннем восстановительном периоде, имеют больший регресс неврологического дефицита по шкале Δ NIHSS ($p_{гр.I-II} = 0,043$), более выраженное повышение функциональной активности по шкале Δ mRS ($p_{гр.I-II} = 0,047$) и положительную динамику по шкале FMA ($p_{сут14-90} = 0,003$) в сравнении с пациентами, находившимися на амбулаторном наблюдении. Концентрация BDNF значительно снижалась к концу раннего восстановительного периода у пациентов на амбулаторном наблюдении в группе II ($p_{сут14-90_гр.II} = 0,002$). В группе пациентов, проходивших реабилитацию, напротив, снижения уровня фактора не наблюдалось ($p_{сут14-90_гр.I} = 0,613$).

Заключение. Результаты исследования демонстрируют клиническую эффективность II этапа комплексной реабилитации пациентов в ранний восстановительный период инсульта и дают основание предположить, что успех нейрореабилитации тесно связан с повышением BDNF на фоне ее проведения. Это делает мозговой нейротрофический фактор потенциальным маркером оценки эффективности проводимого восстановительного лечения.

Ключевые слова: ишемический инсульт, мозговой нейротрофический фактор, реабилитация, ранний восстановительный период, нейропластичность.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ «Разработка научных основ роботизированной нейромиеореабилитации» (соглашение № 18-15-00082 от 25.04.2018).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 5961 от 18.06.2018).

Для цитирования: Казаков С.Д., Королева Е.С., Бразовская Н.Г., Зайцев А.А., Иванова С.А., Алифиров В.М. Оценка уровня сывороточного BDNF при комплексной реабилитации пациентов с ишемическим инсультом с использованием традиционных подходов к восстановлению моторных функций. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 38–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-38-45>.

Assessment of serum BDNF levels in complex rehabilitation of patients with ischemic stroke using traditional approaches to the restoration of motor functions

Kazakov S.D.¹, Koroleva E.S.¹, Brazovskaya N.G.¹, Zaytsev A.A.², Ivanova S.A.³, Alifirova V.M.¹

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Siberian Federal Scientific Clinical Center of Federal Medicobiological Agency
4, Mira Str., Seversk, 63600, Russian Federation

³ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the relationship between changes in serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) level, regression of motor deficiency, and restoration of functional activity in patients with ischemic stroke after stage II of medical rehabilitation.

Materials and methods. The study included 49 patients with ischemic stroke in the middle cerebral artery after stage I of medical rehabilitation. Group I ($n = 32$) went through stage II of rehabilitation in the early recovery period, group II ($n = 17$) was discharged for outpatient monitoring at the place of residence. Observation points: day 14 and day 90. Evaluation scales: National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS), Fugle – Meyer Scale (FMA), Modified Rankin Scale (mRS). Serum BDNF levels were determined using a MAGPIX multiplex analyzer (Luminex, USA).

Results. A comparative analysis of the studied population showed that patients who underwent motor rehabilitation in the early recovery period had greater regression of neurologic deficit according to the Δ NIHSS scale ($p_{gr.I-II} = 0.043$), a more pronounced increase in the functional activity on the Δ mRS scale ($p_{gr.I-II} = 0.047$), and positive dynamics according to the FMA scale ($p_{day14-90} = 0.003$) in comparison with patients who received outpatient follow-up. The concentration of BDNF was significantly reduced by the end of the early recovery in the group II ($p_{day14-90_gr.II} = 0.002$). On the contrary, there was no decrease in the level of the BDNF ($p_{day14-90_gr.I} = 0.613$) in the group of patients undergoing rehabilitation.

Conclusion. The results of the study demonstrated the clinical effectiveness of stage II of the comprehensive rehabilitation of patients in the early period of stroke recovery. We can suggest that the success of neurorehabilitation is closely associated with an increase of the BDNF level against the background of its performance. This makes BDNF a potential marker of evaluating the effectiveness of ongoing rehabilitation treatment

Key words: ischemic stroke, brain-derived neurotropic factor, rehabilitation, early recovery period, neuroplasticity.

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 Science Foundation (RSF), grant No. 18-15-00082.

Conformity with the principles of ethics. All the participants of the study signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 114 of 22.10.2018).

For citation: Kazakov S.D., Koroleva E.S., Brazovskaya N.G., Zaytsev A.A., Ivanova S.A., Alifirova V.M. Assessment of serum BDNF levels in complex rehabilitation of patients with ischemic stroke using traditional approaches to the restoration of motor functions. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 38–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-38-45>.

ВВЕДЕНИЕ

Ишемический инсульт является значимой медико-социальной проблемой во всем мире [1]. Более 50% пациентов, перенесших ишемический инсульт, не способны вернуться к полноценной жизни ввиду сохранения инвалидизирующего неврологического дефицита, который в большинстве случаев обусловлен двигательными нарушениями [2]. В связи с этим успешная реабилитация пациентов, перенесших инсульт, является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины [3].

Эффективность моторной реабилитации тесно связана с механизмами нейропластичности – способности нейронов головного мозга к функциональной и структурной реорганизации [4, 5]. В настоящее время активно изучается участие BDNF (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) в процессах нейрогенеза, пластичности и нейронного выживания, индуцированных повреждением ткани мозга в условиях церебральной ишемии. BDNF – один из наиболее изученных белков семейства нейротрофинов, способствующий выживанию, росту и дифференцировке клеток коры головного мозга и гиппокампа [5–9]. Кроме того, BDNF вовлечен в процессы, лежащие в основе клеточных механизмов памяти и двигательного обучения [10–12].

Существуют два пути экспрессии BDNF в центральной нервной системе. Первый – нерегулируемый конститутивный путь – ишемический инсульт индуцирует синтез BDNF и экспрессию его рецепторов [13]. Второй – зависимый – экспрессия BDNF возрастает при двигательном обучении в результате многократного повторения, под воздействием сенсорной стимуляции и активации первичной моторной коры. Активно-зависимое высвобождение BDNF играет ключевую роль в синаптической пластичности при моторной реабилитации [5, 14, 15].

Большинство исследований, ставящие перед собой цель изучить взаимоотношение между уровнем BDNF и физическими упражнениями в постинсультном периоде, были проведены на животных. Ряд экспериментальных исследований показал, что различная интенсивность и периодичность физических

нагрузок по-разному влияют на уровень BDNF [16]. Слишком высокая интенсивность и большая частота физических нагрузок могут иметь отрицательный терапевтический эффект после инсульта и замедлять моторное восстановление [17]. Вид физической нагрузки также влияет на концентрацию BDNF. Результаты большинства экспериментальных исследований демонстрируют повышение уровня BDNF на фоне аэробных физических упражнений, в то же время данные о влиянии на уровень BDNF анаэробных функциональных тренировочных сессий противоречивы [18].

Ввиду недостаточности данных об изменении концентрации BDNF на фоне реабилитационных мероприятий после ишемического инсульта, полученных в результате клинических исследований, изучение динамики изменения уровня нейротрофина в зависимости от вида, интенсивности и частоты двигательных тренировок, оценка его влияния на исход инсульта являются актуальными задачами. Решение данных задач позволит ответить на вопросы, возможно ли использовать BDNF для прогнозирования исхода ишемического инсульта и оценки эффективности реабилитационных методик, а также применение каких видов нейрореабилитации является наиболее рациональным.

Цель исследования – оценить взаимосвязь между изменением уровня сывороточного BDNF, регрессом моторного дефицита и восстановлением функциональной активности у пациентов с ишемическим инсультом после II этапа медицинской реабилитации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное нерандомизированное сравнительное параллельное исследование с марта 2018 по декабрь 2019 г. В исследование включены пациенты старше 18 лет, подписавшие добровольное информированное согласие (либо согласие было получено от ближайших родственников). Диагноз ишемического инсульта подтвержден данными компьютерной или магнитно-резонансной томографии головного мозга. Критерии исключения: другие поражения центральной и периферической нервной системы; вирус иммунодефицита человека, сифилис,

вирусный гепатит; онкологические заболевания; транзиторная ишемическая атака, геморрагический или повторный ишемический инсульт.

Для каждого участника исследования были проведены сбор анамнеза жизни, оценка неврологического статуса, а также взятие венозной крови для определения уровня сывороточного BDNF. Традиционные подходы к восстановлению двигательных функций на II этапе медицинской реабилитации в Филиале Томского научно-исследовательского института курортологии и физиотерапии (ТНИИКиФ) ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России включали: локальную воздушную криотерапию на область спастичных мышц, функциональную электростимуляцию мышц, антагонистичных спастичным, ручной классический массаж области паретичных конечностей, лечебную физическую культуру (активно-пассивную гимнастику на столе Bobath, активную гимнастику, ходьбу на беговой дорожке, ходьбу в реабилитационных брусках и по лестнице с регулируемой высотой ступеней).

Специалисты мультидисциплинарной реабилитационной бригады подбирали для пациента адекватную физическую нагрузку, составляя план его мобилизации и реабилитации в зависимости от результатов малонагрузочных функциональных проб, оценки риска падений по шкале Морзе, паттернов постинсультной спастичности, оценки периферической мышечной силы по шкале MRC, спастичности по шкале Ашворта в различных мышечных группах, оценки нарушения иерархического контроля двигательной функции со стороны нервной системы. Продолжительность одной тренировочной сессии – 30 мин, частота – 2 раза/сут с перерывом не менее 2 ч, курс состоял из 20 тренировок. Контроль функционального состояния пациента во время реабилитационных мероприятий проводился по частоте сердечных сокращений, уровню артериального давления, сатурации кислорода в крови.

Период наблюдения – ранний восстановительный (90 сут от начала инсульта). Точки наблюдения: 14-е и 90-е сут. Оценочные шкалы: шкала инсульта Национального института здоровья (NIHSS), шкала Фугл – Мейера (Fugl – Meyer Assessment, FMA), модифицированная шкала Рэнкина (mRS) [19]. Содержание BDNF в сыворотке крови определяли на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, США) с использованием панели HNDG3MAG-36K производства MILLIPLEX® MAP (Merck, Германия). Полученные результаты выражали в пг/мл.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 13.0. Критический уровень значимости при

проверке статистических гипотез принимался равным 0,05 (p – достигнутый уровень значимости). Категориальные признаки описаны в виде абсолютных и относительных (%) частот встречаемости, количественные и порядковые – в виде медианы и интерквартильного размаха Me (Q_1 ; Q_3). Сравнение двух независимых выборок выполнялось при помощи критерия Манна – Уитни. Для анализа различий в показателях между тремя группами применяли непараметрический критерий Краскелла – Уоллиса с последующим попарным сравнением (поправка Бонферрони на множественные сравнения при выявлении различий). Для сравнения качественных показателей между группами использовался χ^2 критерий Пирсона. С целью оценки внутригрупповой динамики показателей применялся критерий Вилкоксона для зависимых переменных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обследовано 49 пациентов (26 мужчин (53,1%) и 23 женщины (46,9%), средний возраст 65 (59; 68) лет) с острым ишемическим инсультом в бассейне средней мозговой артерии, выписанных из Регионального сосудистого центра Томской областной клинической больницы после I этапа медицинской реабилитации. Популяция разделена на две группы.

Группа 1 ($n = 32$) получала восстановительное лечение на II этапе реабилитации в Филиале ТНИИКиФ ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России. Группа 2 ($n = 17$) выписана на амбулаторное наблюдение по месту жительства. После I этапа медицинской реабилитации суммарный балл оценочных шкал в исследуемой популяции свидетельствовал о неврологическом дефиците средней степени тяжести (NIHSS_{сут14} = 4 (3; 8) балла; FMA_{сут14} = 196 (179; 200) баллов) и умеренному нарушению жизнедеятельности (mRS_{сут14} = 3 (2; 4) балла). Для определения нормы сывороточного BDNF для данной возрастной популяции была создана группа сравнения, состоящая из 50 лиц без инсульта, сопоставимых с исследуемой выборкой по полу, возрасту, факторам риска развития цереброваскулярных заболеваний (табл. 1).

Группы I и II на 14-е сут после инсульта были равнозначны по выраженности неврологического дефицита и функциональной независимости (табл. 2). Пациенты группы I после второго этапа медицинской реабилитации с использованием традиционных подходов к восстановлению двигательных функций конечностей демонстрировали выраженный регресс неврологического дефицита по шкалам NIHSS ($p_{сут14-90} = 0,002$) и FMA ($p_{сут14-90} = 0,003$), а также улучшение функциональной независимости по шкале mRS ($p_{сут14-90} = 0,009$).

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика популяции				
Показатель	Группа I	Группа II	Группа сравнения	p
Средний возраст, лет, $Me (Q_1; Q_3)$	62 (57; 67)	66 (61; 68)	63 (56; 65)	0,817
Пол:				
– муж., абс. (%)	17 (53%)	9 (53%)	29 (58%)	0,876
– жен., абс. (%)	15 (47%)	8 (47%)	21 (42%)	0,902
Артериальная гипертензия, абс. (%)	32 (100%)	17 (100%)	37 (74%)	0,914
Длительность АГ, лет, $Me (Q_1; Q_3)$	11 (10; 15)	10 (10; 15)	6 (5; 9)	0,892
Ишемическая болезнь сердца, абс. (%)	15 (47%)	7 (41%)	11 (22%)	0,789
Инфаркт миокарда, абс. (%)	7 (22%)	4 (23%)	0	0,231
Фибрилляция предсердий, абс. (%)	5 (15%)	4 (23%)	0	0,190
Стентирование и искусственные клапаны сердца, абс. (%)	2 (4%)	1 (6%)	0	0,380
Ожирение, абс. (%)	21 (65%)	13 (76%)	28 (56%)	0,785
Дислипидемия, абс. (%)	27 (84%)	13 (76%)	43 (86%)	0,872
Сахарный диабет, абс. (%)	8 (25%)	2 (12%)	14 (28%)	0,638
Длительность СД, лет, $Me (Q_1; Q_3)$	8 (5; 10)	12 (5; 20)	7 (4; 10)	0,742
Курение, абс. (%)	18 (56%)	9 (53%)	32 (64%)	0,823
Уровень BDNF, 14-е сут, $Me (Q_1; Q_3)$	2768,0 (2009,0; 3652,0)	2224,0 (1302,0; 4497,0)	4273,0 (2221,0; 5251,0)	0,072
Уровень BDNF, 90-е сут, $Me (Q_1; Q_3)$	2175,0 (1730,0; 2739,0)	881,1 (231,9; 1483,5) **	4273,0 (2221,0; 5251,0)	0,000
Подтип инсульта в соответствии с критериями TOAST:				
– атеросклероз крупных артерий, абс. (%)	5 (16%)	2 (12%)		0,204
– кардиальная эмболия, абс. (%)	4 (12%)	5 (29%)		
– окклюзия мелких кровеносных сосудов, абс. (%)	0 (0%)	0 (0%)		
– инсульт неопределенной этиологии, абс. (%)	23 (72%)	10 (59%)		
Пораженное полушарие головного мозга:				
– правое, абс. (%)	16 (53%)	11 (65%)		0,401
– левое, абс. (%)	15 (47%)	6 (35%)		

Значимые различия по сравнению: * с группой I; & с группой сравнения

Таблица 2

Анализ клинических показателей по шкалам NIHSS, FMA, mRS между группами I и II, $Me (Q_1; Q_3)$			
Показатель	Группа I	Группа II	$p_{гр. I-II}$
NIHSS _{сут14}	4 (3; 4)	3,5 (2; 9)	0,688
NIHSS _{сут90}	3 (2; 4)	3 (2; 9)	0,176
$p_{сут14-90}$	0,002	0,025	
FMA _{сут14}	191 (177; 201)	201 (169; 203)	0,612
FMA _{сут90}	199 (190; 215)	203 (172; 204)	0,245
$p_{сут14-90}$	0,003	0,406	
mRS _{сут14}	3 (2; 3)	2 (2; 3)	0,351
mRS _{сут90}	2 (1; 2)	2 (1; 3)	0,143
$p_{сут14-90}$	0,009	0,011	
ΔmRS	-1 (-2; 0)	0 (-1; 0)	0,047
$\Delta NIHSS$	-2 (-3; -1)	-1 (-2; 0)	0,043
ΔFMA	8 (6; 14)	3 (1; 4)	0,032
$\Delta FMA_{верхняя_конечность}$	6 (4; 9)	2 (1; 3)	0,041
$\Delta FMA_{нижняя_конечность}$	4 (2; 6)	2 (1; 4)	0,015

У пациентов группы II, выписанных на амбулаторное наблюдение, также выявлено снижение суммарного балла по шкалам NIHSS ($p_{\text{сут}14-90} = 0,025$) и mRS ($p_{\text{сут}14-90} = 0,011$), но значимого увеличения суммарного балла по шкале FMA ($p_{\text{сут}14-90} = 0,406$) не наблюдалось (см. табл. 2).

Сравнительный анализ изменений величин клинических шкал в исследуемых группах между точками наблюдения показал, что прирост баллов по шкале Δ FMA ($p_{\text{гр.I-II}} = 0,032$) и регресс суммарных баллов по шкалам Δ NIHSS ($p_{\text{гр.I-II}} = 0,043$) и Δ mRS ($p_{\text{гр.I-II}} = 0,047$) у пациентов после физической реабилитации значимо превышали таковые у пациентов на амбулаторном наблюдении. При детальной оценке двигательных функций верхней и нижней конечностей по шкале FMA обнаружен более выраженный прирост баллов в группе I по сравнению с группой II ($p_{\text{гр.I-II}} = 0,041$ и $p_{\text{гр.I-II}} = 0,015$ соответственно), (см. табл. 2).

По уровню BDNF не было выявлено значимых различий между сывороточным BDNF у пациентов с ишемическим инсультом в I и II группе на 14-е сут и лиц из группы сравнения (см. табл. 1, рис. 1). При этом концентрация биомаркера пластичности мозга, отвечающего за нейронное выживание и функциональное восстановление после инсульта, значимо снижалась к концу раннего восстановительного периода у пациентов на амбулаторном наблюдении в группе II ($p_{\text{сут}14-90_гр. II} = 0,002$).

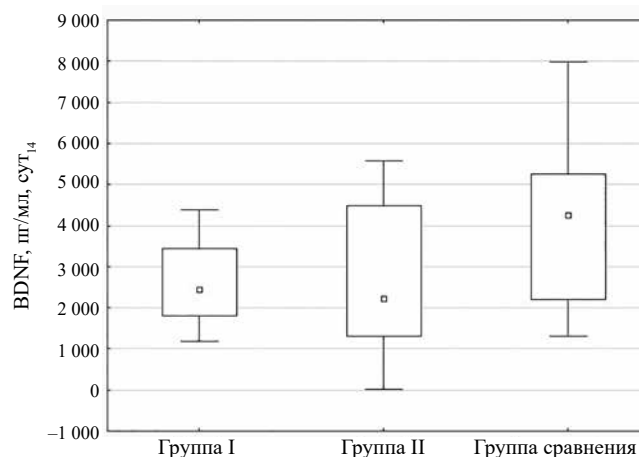


Рис. 1. Уровень BDNF у пациентов группы сравнения и групп I–II на 14-е сут после перенесенного инсульта

В группе пациентов, проходивших реабилитацию, напротив, снижения уровня фактора не наблюдалось ($p_{\text{сут}14-90_гр. I} = 0,613$). В связи с этим на 90-е сут исследования концентрация BDNF в группе II становилась значимо ниже, чем в остальных, которые по-прежнему не отличались между собой (см. табл. 1, рис. 2).

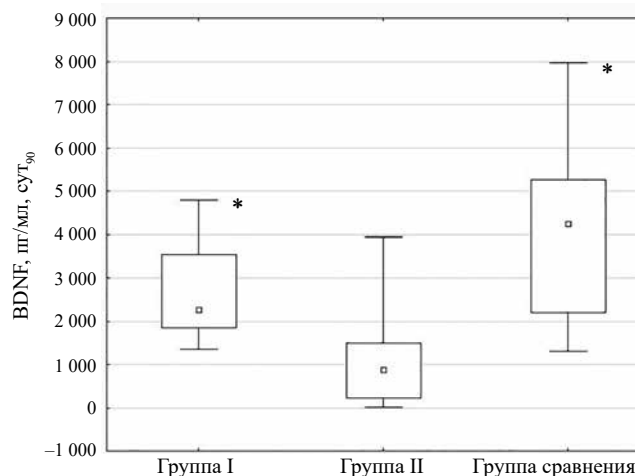


Рис. 2. Уровень BDNF у пациентов группы сравнения и групп I–II на 90-е сут после перенесенного инсульта:

* значимые различия по сравнению с группой II

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что содержание BDNF в сыворотке крови возрастает в ответ на ишемическое повреждение ткани головного мозга и достигает максимальной концентрации в среднем на 14-е сут от начала инсульта [14, 15]. Отсутствие различий между уровнем BDNF в исследуемых группах на 14-е сут болезни и в группе лиц без церебральной ишемии, сопоставимой по полу, возрасту и факторам риска инсульта, можно интерпретировать как фактор благоприятного прогноза для функционального восстановления. Однако сравнительный анализ исследуемой популяции в динамике наблюдения показал, что пациенты, получавшие моторную реабилитацию в раннем восстановительном периоде, имели больший регресс неврологического дефицита по шкале NIHSS и положительную динамику по шкале FMA.

Кроме того, в группе I отмечалось не только лучшее восстановление двигательной функции конечностей, но и более выраженное повышение функциональной активности – Δ mRS ($p_{\text{гр.I-II}} = 0,047$) в сравнении с пациентами группы II. Соответственно, данные свидетельствуют о клинической эффективности реабилитационных мероприятий с использованием традиционных подходов к восстановлению моторных функций конечностей.

Исследование нейробиологических маркеров показало, что концентрация BDNF также меняется в зависимости от проведения реабилитационных процедур или их отсутствия. У пациентов в группе I уровень сывороточного BDNF значимо не изменялся между 14-ми и 90-ми сут инсульта, сохраняя высокую концентрацию и не отличаясь от лиц группы сравнения. Противоположные результаты получили

в группе II, где уровень биомаркера неуклонно снижался и в конце раннего восстановительного периода оказался ниже, чем в группе сравнения.

Многочисленные фундаментальные исследования показали участие BDNF в реализации процессов пластичности головного мозга за счет активации нейрогенеза, миграции нервных клеток, ремиелинизации аксонов, а также препятствия действию провоспалительных цитокинов и снижению апоптоза нейронов [20, 21]. Пр продемонстрирована ключевая роль BDNF в регуляции механизмов памяти и двигательного обучения через эффект долговременной потенциации [22, 23]. В исследованиях на экспериментальных моделях ишемического инсульта на животных показано, что экспрессия данного нейротрофина повышается в ходе физической реабилитации за счет активации моторной коры и улучшает восполнение двигательного дефицита [24].

Нами обнаружено лучшее восстановление моторной функции и функциональной независимости в группе I, которое соответствовало изменениям по шкалам FMA, NIHSS, mRS. Одновременно с этим в группе пациентов, прошедших через II этап медицинской реабилитации, где отмечалась динамика по шкале FMA, а изменения по шкалам NIHSS и mRS были более выражены, показатель BDNF сохранялся на прежнем уровне.

Очевидно, что единственным возможным объяснением улучшения моторной функции и функциональной независимости явилось проведение у этих пациентов физической реабилитации, которая, в свою очередь, также сопровождалась сохранением уровня BDNF. По нашему мнению, это дает основание предполагать, что индукция активно-зависимого пути экспрессии BDNF и поддержание его относительно высокой концентрации в ходе II этапа медицинской реабилитации являются основным механизмом, предопределившим благоприятный клинический и функциональный исход.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования демонстрируют клиническую эффективность II этапа комплексной реабилитации пациентов в ранний восстановительный период инсульта и дают основание предположить, что успех нейрореабилитации тесно связан с повышением BDNF на фоне ее проведения. Это делает мозговой нейротрофический фактор потенциальным маркером оценки эффективности проводимого восстановительного лечения. Применение методов реабилитации, повышающих уровень BDNF, является перспективным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kim J., Thayabaranathan T., Donnan G.A., Howard G., Howard V.J., Rothwell P.M., Feigin V., Norrving B., Owolabi M., Pandian J., Liping L., Cadilhac D.A., Thrift A.G. Global stroke statistics 2019. *Int. J. Stroke*. 2020; 15 (8): 819–838. DOI: 10.1177/1747493020909545.
2. Hatem S.M., Saussez G., della Faille M., Prist V., Zhang X., Dispa D., Bleyenheuft Y. Rehabilitation of motor function after stroke: a multiple systematic review focused on techniques to stimulate upper extremity recovery. *Front Hum. Neurosci.* 2016; 10: 442. DOI: 10.3389/fnhum.2016.00442.
3. Bernhardt J., Hayward K.S., Kwakkel G., Ward N.S., Wolf S.L., Borschmann K., Krakauer J., Boyd L., Carmichael S.T., Corbett D., Cramer S.C. Agreed definitions and a shared vision for new standards in stroke recovery research: the stroke recovery and rehabilitation roundtable taskforce. *Int. J. Stroke*. 2017; 12 (5): 444–450. DOI: 10.1177/1747493017711816.
4. Johansson B.B. Current trends in stroke rehabilitation. A review with focus on brain plasticity. *Acta Neurol. Scand.* 2011; 123 (3): 147–159. DOI: 10.1111/j.1600-0404.2010.01417.x.
5. Mang C.S., Campbell K.L., Ross C.J.D., Boyd L.A. Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: considering the effects of aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor. *Phys. Ther.* Dec. 2013; 93 (12): 1707–1716. DOI: 10.2522/ptj.20130053.
6. Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Костенко Е.В. и др. Эффективность семакса при лечении больных на разных стадиях ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018; 118 (2-3): 61–68. DOI: 10.17116/jnevro20181183261-68.
7. Рославцева В.В., Салмина А.Б., Прокопенко С.В., Кобаненко И.В., Резвицкая Г.Г. Возможности применения нейротрофического фактора головного мозга в качестве маркера эффективности терапии при дегенеративном, травматическом, ишемическом поражении головного мозга. *Неврологический журнал*. 2015; 20 (2): 38–46.
8. Chen S.-D., Wu C.-L., Hwang W.-C., Yang D.-I. More Insight into BDNF against neurodegeneration: anti-apoptosis, anti-oxidation, and suppression of autophagy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 18 (3): 545. DOI: 10.3390/ijms18030545.
9. Guo W., Nagappan G., Lu B. Differential effects of transient and sustained activation of BDNF-TrkB signaling. *Developmental Neurobiology*. 2018; 78 (7): 647–659. DOI: 10.1002/dneu.22592.
10. Liu P.Z., Nusslock R. Exercise-mediated neurogenesis in the hippocampus via BDNF. *Front. Neurosci.* 2018; 12: 52. DOI: 10.3389/fnins.2018.00052.
11. Park H., Poo M. Neurotrophin Regulation of neural circuit development and function. *Nat. Rev. Neurosci.* 2013; 14 (1): 7–23. DOI: 10.1038/nrn3379.
12. Zagrebelsky M., Korte M. Form follows function: BDNF and its involvement in sculpting the function and structure of synapses. *Neuropharmacology*. 2014; 76: 628–638. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.05.029.
13. Голубев А.М., Петрова М.В., Гречко А.В., Захарченко В.Е., Кузовлев А.Н., Ершов А.В. Молекулярные маркеры ишемического инсульта. *Общая реаниматология*. 2019; 15 (5): 11–22. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-5-11-22.

14. Coleman E.R., Moudgal R., Lang K., Hyacinth H.I., Awosika O.O., Kissela B.M., Feng W. Early rehabilitation after stroke: a narrative review. *Current Atherosclerosis Reports*. 2017; 19 (12): 59. DOI: 10.1007/s11883-017-0686-6.
15. Королева Е.С., Алифорова В.М., Бразовская Н.Г., Плотников Д.М., Левчук Л.А., Бойко А.С., Запекин С.П., Семенов А.В., Катаева Н.Г., Иванова С.А. Клинико-лабораторная оценка эффективности ранней реабилитации пациентов с инсультом с применением вспомогательных роботизированных механизмов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (4): 55–62. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-4-55–62.
16. Walsh J.J., Bentley R.F., Gurd B.J., Tschakovsky M.E. Short-duration maximal and long-duration submaximal effort forearm exercise achieve elevations in serum brain-derived neurotrophic factor. *Front. Physiol.* 2017; 8: 746. DOI: 10.3389/fphys.2017.00746.
17. Mackay C.P., Kuys S.S., Brauer S.G. The effect of aerobic exercise on brain-derived neurotrophic factor in people with neurological disorders: a systematic review and meta-analysis. *Neural Plast.* 2017; 2017: 4716197. DOI: 10.1155/2017/4716197.
18. Alcantara C.C., García-Salazar L.F., Silva-Couto M.A., Santos G.L., Reisman D.S., Russo T.L. Post-stroke BDNF concentration changes following physical exercise: a systematic review. *Frontiers in Neurology*. *Front. Neurol.* 2018; 9: 637. DOI: 10.3389/fneur.2018.00637.
19. Супонева Н.А., Юсупова Д.Г., Жирова Е.С., Мельченко Д.А., Таратухина А.С., Бутковская А.А., Ильина К.А., Зайцев А.Б.З., Зимин А.А., Клочков А.С., Люкманов Р.Х., Калинкина М.Э., Пирадов М.А., Котов-Смоленский А.М., Хижникова А.Е. Валидация модифицированной шкалы Рэнкина (The Modified Rankin Scale, MRS) в России. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2018; 10 (4): 36–39. DOI: 10.14412/2074-2711-2018-4-36-39.
20. Himi N., Takahashi H., Okabe N., Nakamura N., Shiromoto T., Narita K., Koga T., Miyamoto O. Exercise in the early stage after stroke enhances hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression and memory function recovery. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2016; 25 (12): 2987–2994. DOI: 10.1016/j.strokcerebrovasdis.2016.08.017.
21. Leal G., Bramham C.R., Duarte C.B. BDNF and hippocampal synaptic plasticity. *Neurotrophins*. 2017; 104: 153–195. DOI: 10.1016/bs.vh.2016.10.004.
22. Kotłęga D., Peda B., Zembroń-Łacny A., Gołab-Janowska M., Nowacki P. The role of brain-derived neurotrophic factor and its single nucleotide polymorphisms in stroke patients. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*. 2017; 51 (3): 240–246. DOI: 10.1016/j.pjnns.2017.02.008.
23. Walsh J.J., Tschakovsky M.E. Exercise and circulating BDNF: Mechanisms of release and implications for the design of exercise interventions. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2018; 43 (11): 1095–1104. DOI: 10.1139/apnm-2018-0192.
24. Gandolfi M., Smania N., Vella A., Picelli A., Chirumbolo S. Assessed and emerging biomarkers in stroke and training-mediated stroke recovery: state of the art. *neural plasticity*. *Neural Plast.* 2017; 2017: 1389475. DOI: 10.1155/2017/1389475.

Вклад авторов

Казаков С.Д. – сбор данных для анализа, написание текста статьи. Королева Е.С. – разработка дизайна исследования. Бразовская Н.Г. – статистическая обработка данных. Зайцев А.А. – анализ или интерпретация результатов работы. Иванова С.А. – критический пересмотр, содержания статьи. Алифорова В.М. – утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Сведения об авторах

Казаков Станислав Дмитриевич, аспирант, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9818-5549.

Королева Екатерина Сергеевна, канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1911-166X.

Бразовская Наталья Георгиевна, канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0706-9735.

Зайцев Алексей Александрович, канд. мед. наук, директор филиала ТНИИКиФ ФГБУ СибФНКЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2601-1739.

Иванова Светлана Александровна, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7078-323X.

Алифорова Валентина Михайловна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4140-3223.

(✉) **Казаков Станислав Дмитриевич**, e-mail: docstastomsk@gmail.com

Поступила в редакцию 24.01.2021

Подписана в печать 25.05.2021

Влияние варианта развития меланомы B16/F10 на содержание Bcl-2 в митохондриях клеток различных органов самок мышей

Кит О.И., Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Черярина Н.Д., Шихлярова А.И., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Немашкалова Л.А.

Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить содержание Bcl-2 в митохондриях различных органов самок мышей при стандартном и стимулированном росте экспериментальной меланомы B16/F10.

Материалы и методы. Работа выполнена на самках мышей линии C57BL/6 ($n = 168$), которых разделили на группы: интактную ($n = 21$), группу с воспроизведением модели хронической нейрогенной боли (ХНБ) ($n = 21$), группу «М» – меланома B16/F10 ($n = 63$), группу «ХНБ + М» ($n = 63$). В митохондриальных образцах методом иммуноферментного анализа определяли концентрацию Bcl-2 в нг/мг белка (Thermo Fisher Scientific, Австрия). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0.

Результаты. По сравнению со значениями Bcl-2 у интактных животных, ХНБ способствовала снижению данного показателя в митохондриях сердца в 1,3 раза, а в митохондриях кожи, напротив, повышала в 5,9 раз. В динамике стандартного роста меланомы содержание Bcl-2 изменялось относительно соответствующих интактных величин в митохондриях мозга, сердца, кожи, при этом не менялось в печени и почках. В митохондриях меланомы уровень Bcl-2 по сравнению с интактной кожей был высоким на всем протяжении стандартного роста опухоли. Стимулированный рост меланомы при ХНБ вовлекал в патологический процесс органы, количество которых увеличивалось по мере развития опухоли. Так, по сравнению со значениями в группе ХНБ изменение уровня Bcl-2 на 1-й нед роста фиксировали в митохондриях сердца, на 2-й – в сердце и коже, на 3-й нед – в сердце, коже и мозге. Не изменялся показатель в митохондриях печени и почек. В митохондриях меланомы, стимулированной ХНБ, уровень Bcl-2 на протяжении всего роста опухоли был ниже, чем в митохондриях кожи при ХНБ.

Заключение. Выявлено, что митохондрии клеток печени и почек обладают определенной стабильностью по Bcl-2 как при стандартном развитии опухолевого процесса, так и при стимулированном. Полагаем, что различная динамика Bcl-2 в митохондриях клеток меланомы в зависимости от варианта развития опухоли свидетельствует о модулирующем эффекте ХНБ и способности менять уровень показателя в зависимости от фазы роста.

Ключевые слова: митохондрии клеток, Bcl-2, хроническая нейрогенная боль, экспериментальная меланома B16/F10, самки мышей.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено биоэтическим комитетом по работе с животными ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол № 2 от 31.05.2018).

Для цитирования: Кит О.И., Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Черярина Н.Д., Шихлярова А.И., Сурикова Е.И., Каплиева И.В., Немашкалова Л.А. Влияние варианта развития меланомы B16/F10 на содержание

Bcl-2 в митохондриях клеток различных органов самок мышей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 46–53. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-46-53>.

Influence of a B16/F10 melanoma variant on the Bcl-2 levels in mitochondria in various organs of female mice

Kit O.I., Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Cheryarina N.D., Shikhlyarova A.I., Surikova E.I., Kaplieva I.V., Nemashkalova L.A.

National Medical Research Center for Oncology (NMRCO)
63, 14 Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Rostov-on-Don, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the Bcl-2 level in mitochondria of various organs in female mice with standard and stimulated growth of an experimental B16/F10 melanoma.

Materials and methods. The study included C57BL/6 female mice ($n = 168$). The experimental animals were divided into the following groups: an intact group ($n = 21$), a group with modelled chronic neuropathic pain (CNP) ($n = 21$), an M group with B16/F10 melanoma ($n = 63$), and a CNP + M group ($n = 63$). The Bcl-2 concentration (ng / mg protein) in mitochondrial samples was determined by ELISA (Thermo Fisher Scientific, Austria). Statistical analysis of the results was carried out using Statistica 10.0.

Results. Compared to the Bcl-2 levels in the intact animals, CNP decreased this parameter in the cardiac mitochondria by 1.3 times, while increasing it by 5.9 times in the skin mitochondria. In the dynamics of standard melanoma growth, the Bcl-2 content changed compared with the corresponding intact values in the mitochondria of the brain, heart, and skin, but did not change in the liver and kidneys. In the mitochondria in melanoma, the Bcl-2 levels were high throughout the entire period of standard tumor growth in comparison with the intact skin. The stimulated melanoma growth in CNP was involving more organs into the pathological process as the tumor was growing. Thus, in comparison with the values in the CNP group, the mitochondrial Bcl-2 levels changed in the heart at week 1; in the heart and skin – at week 2; in the heart, skin, and brain – at week 3. The Bcl-2 levels did not change in the liver and kidney mitochondria. In the mitochondria in the CNP-stimulated melanoma, the Bcl-2 levels were lower than in the skin mitochondria in CNP throughout the entire tumor growth period.

Conclusion. The liver and kidney mitochondria are somewhat Bcl-2 stable in both standard and stimulated tumor growth. It is assumed that different Bcl-2 dynamics in the mitochondria in melanoma depending on the variant of tumor development reflects the modulating effect of CNP and the ability to change the Bcl-2 levels according to the growth phase.

Key words: cell mitochondria, Bcl-2, chronic neuropathic pain, experimental B16/F10 melanoma, female mice.

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 carried out as part of the state assignment.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Bioethics Committee for Working with Animals of the NMRCO of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 2 of 31.05.2018).

For citation: Kit O.I., Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Cheryarina N.D., Shikhlyarova A.I., Surikova E.I., Kaplieva I.V., Nemashkalova L.A. Influence of a B16/F10 melanoma variant on the Bcl-2 levels in mitochondria in various organs of female mice. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 46–53. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-46-53>.

ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость к апоптозу является установленным признаком рака. То, как различается чувствительность опухолей и нормальных тканей к апоптозу, является более сложной проблемой, чем просто

то, что раковые клетки устойчивее к гибели. Углубленное понимание апоптоза, которое развилось в последние десятилетия, теперь позволяет открывать новые возможности для выявления агентов, способных запускать процесс апоптоза при канцерогенезе [1].

Концепция избирательной активации гибели клеток в злокачественных опухолях имеет давнюю историю. Программированная гибель клеток может происходить с помощью ряда механизмов, включая апоптоз и некроптоз, регулируемых различными сигнальными путями, в том числе и через митохондриальный путь апоптоза. Некоторые из этих путей передачи сигналов гибели клеток использовались с переменным успехом в качестве потенциальных терапевтических целей и с неутешительными ранними клиническими результатами из-за неполного понимания основ биологии [2, 3]. Еще более осторожно продвигаются поиск и применение агентов селективного воздействия на митохондрии, поскольку необходимо учитывать специфику перестройки как самих митохондрий, так и митохондриального метаболизма трансформированной клетки и (или) активации энергетического метаболизма перепрограммированными митохондриями [4].

Осознание того, что сверхэкспрессия белка Bcl-2 способствовала онкогенезу путем ингибирования запрограммированного запуска гибели клеток, привело к идентификации семейства регуляторов апоптоза и установило отклонение от апоптоза как центрального признака рака [5]. В настоящее время у позвоночных найдено около 20 членов семейства белков Bcl-2 с про- и антиапоптотическими свойствами и определено, что множество взаимодействий между этими белками играет центральную роль в реакции нормальных и злокачественных клеток на цитотоксическое повреждение [6].

Апоптотическое праймирование в нормальных клетках и тканях динамически меняется на нескольких уровнях. Это изменение можно наблюдать между различными тканями взрослого человека, в пределах одной и той же ткани на разных стадиях развития, между отдельными клетками в ткани и в одной и той же клетке в разное время, так как клетка подвергается повреждению или изменениям в передаче сигналов. Существующие колебания уровней про- и антиапоптотических белков создают определенные трудности при воздействии на неопластические клетки, к тому же одновременно необходимо свести к минимуму повреждение клеток здоровых тканей [1].

Во время эмбрионального развития, когда происходит активация апоптоза, изменения в функции белка Bcl-2 связаны с различными временными периодами развития. Так, в развивающейся нервной системе мышей нейрональные уровни Bcl-2 значительно снижаются к 5 мес. Члены семейства Bcl-2 – Bcl-XL и Mcl-1 играют ключевую роль в выживании незрелых В-клеток во время развития, тогда как

Bcl-2 необходим для выживания зрелых В-клеток [7]. Недавнее исследование показало, что незначительные изменения в балансе про- и антиапоптотических белков Bcl-2 имеют глубокие эффекты во время черепно-лицевого развития [8]. Многие из сигнальных путей, которые контролируют пролиферацию клеток и функцию белка Bcl-2, также определяют гетерогенность отдельных клеток их активности [9].

Следовательно, не должен быть удивительным тот факт, что апоптоз зависит от межклеточной гетерогенности. Отдельные клетки могут быстро сдвигать свой апоптотический порог в ответ на изменения внутренних и внешних сигналов [10]. Один из способов, при котором это может происходить, связан с фактом непрерывного перемещения белков Bcl-2 между цитозолем и митохондриями. При стрессе происходит передача сигналов, которые ведут к буферизации клетки белком Bcl-2 выше допустимых уровней [10]. Апоптотический порог отдельных клеток является динамическим, клеточная популяция достигает равновесия между чувствительностью и устойчивостью к проапоптотическим стимулам [11]. Уровень стимуляции апоптотического сигнала значительно варьирует внутри и между популяциями клеток [12]. Таким образом, воздействие на злокачественные клетки через процесс апоптоза посредством нарушения белковых взаимодействий Bcl-2 митохондрий является сложным, современные знания на данный момент не раскрывают всех тонкостей этого взаимодействия, что требует дальнейших изысканий в обозначенном направлении.

Цель настоящего исследования – изучить содержание Bcl-2 в митохондриях различных органов самок мышей при стандартном и стимулированном росте экспериментальной меланомы B16/F10.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование выполнено на самках мышей линии C57BL/6 ($n = 168$), возраст – 8 нед, начальная масса – 21–22 г. Животные были распределены методом случайной выборки на следующие экспериментальные группы: интактная группа «К» ($n = 21$), группа «Кб» с воспроизведением модели хронической нейрогенной боли (ХНБ) ($n = 21$), группа «М» – меланома B16/F10 ($n = 63$), стандартная подкожная трансплантация меланомы B16/F10, группа «ХНБ + М» ($n = 63$), меланому B16/F10 трансплантировали через 3 нед после создания модели ХНБ.

Экспериментальные животные были получены из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (филиал «Андреевка», Московская область), также использовали штамм мышины ме-

ланомы B16/F10 из ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных и приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Манипуляции с животными производили в боксе с соблюдением общепринятых правил асептики и антисептики. Исследование одобрено этическим комитетом по работе с животными ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол № 2 от 31.05.2018).

Меланому B16/F10 животным трансплантировали путем стандартного подкожного введения под правую лопатку в объеме по 0,5 мл опухолевой взвеси клеток в разведении 1 : 10 в физиологическом растворе. Модель ХНБ воспроизводили наложением лигатуры на седалищный нерв с двух сторон под ксила-золетилловым наркозом [13]. Наркоз: ксила-золетилловый, за 10 мин до основного наркоза; премедикация: ксилазин (препарат «Ксила») внутримышечно в дозе 0,05 мл/кг массы тела (по инструкции), затем через 10 мин вводили золетил-50 в дозе 10 мг на 100 г массы.

Животных декапитировали на гильотине, в группе «М» и в группе «ХНБ + М» после трансплантации меланомы B16/F10 в сроки: 1-я нед – 7-е сут роста меланомы, 2-я нед – 14-е сут роста меланомы и 3-я нед – 21-е сут роста меланомы. Мышей группы «ХНБ» выводили из эксперимента через 3 нед после воспроизведения модели ХНБ, одновременно декапитировали интактных животных. После декапитации у животных иссекали кожу, опухоль, а так-

же извлекали мозг, печень, почки и сердце. Условно здоровую кожу иссекали на максимально удаленном расстоянии от опухолевого узла. Митохондрии выделяли по методу М.В. Егоровой и С.А. Афанасьева [14] (с применением хладагентов и дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге Avanti J-E (Becman Coulter, США).

Полученные митохондриальные образцы (концентрация белка 4–6 г/л) до анализа хранили при – 80 °С в среде выделения. В митохондриальных образцах методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли концентрацию Bcl-2 в нг/мг белка (Thermo Fisher Scientific, Австрия) на ИФА-анализаторе (Infinite F50 Tecan, Австрия) и биохимическим методом – концентрацию белка в мг/мл (биуретовый метод (Ольвекс Диагностикум, Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell (Awareness Technology INC, США)).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0. Полученные данные подвергали анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка (для малых выборок). Сравнение количественных данных в группах (независимые выборки) проводили с использованием критерия Краскела – Уоллиса (множественные сравнения). Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего, за уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$. Полученные результаты статистически обрабатывали с соблюдением общих рекомендаций для медицинских исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты эксперимента по изучению уровня Bcl-2 в митохондриях клеток различных органов и меланомы B16/F10 представлены в таблице.

Т а б л и ц а

Динамика уровня Bcl-2 в митохондриях органов самок мышей при стандартном и стимулированном росте меланомы B16/F10, нг/мг белка, $M \pm m$

Показатель	Орган					Опухоль
	мозг	печень	сердце	почки	кожа	
Интактные (К)	82,937 ± 2,455	96,335 ± 4,561	62,00 ± 2,85	103,079 ± 4,033	5,56 ± 0,203	–
ХНБ (Кб)	107,391 ± 3,738 ¹ $p^1 = 0,00014$	107,348 ± 3,806	46,66 ± 3,87 ¹ $p^1 = 0,00008$	103,573 ± 3,712	32,69 ± 1,37 ¹ $p^1 = 0,00000$	–
М, 1-я нед	107,392 ± 3,787 ¹ $p^1 = 0,00015$	112,189 ± 4,405	36,85 ± 1,92 ¹ $p^1 = 0,00000$	108,786 ± 4,136	49,61 ± 1,71 ¹ $p^1 = 0,00000$	24,22 ± 1,51 ¹ $p^1 = 0,00000$
М, 2-я нед	49,476 ± 2,689 ^{1,3} $p^1 = 0,00000$ $p^3 = 0,00000$	103,349 ± 3,766	21,38 ± 1,56 ^{1,3} $p^1 = 0,00000$ $p^3 = 0,00004$	109,584 ± 4,129	15,46 ± 1,41 ^{1,3} $p^1 = 0,00001$ $p^3 = 0,00000$	28,58 ± 1,95 ¹ $p^1 = 0,00000$

Окончание табл.

Показатель	Орган					Опухоль
	мозг	печень	сердце	почки	кожа	
М, 3-я нед	31,688 ± 3,172 ^{1,3} $p^1 = 0,00000$ $p^3 = 0,00107$	103,384 ± 3,413	21,6 ± 1,55 ¹ $p^1 = 0,00000$	113,318 ± 5,042	1,35 ± 0,11 ^{1,3} $p^1 = 0,00000$ $p^3 = 0,00000$	13,88 ± 1,36 ^{1,3} $p^1 = 0,00005$ $p^3 = 0,00004$
ХНБ + М, 1-я нед	104,265 ± 3,849	102,353 ± 3,805	80,99 ± 1,6 ² $p^2 = 0,00000$	113,928 ± 4,982	27,28 ± 1,77	11,02 ± 1,18 ² $p^2 = 0,00000$
ХНБ + М, 2-я нед	98,069 ± 5,023	98,077 ± 3,501	24,03 ± 1,38 ^{2,3} $p^2 = 0,00000$ $p^3 = 0,00000$	86,933 ± 13,574	19,08 ± 1,38 ² $p^2 = 0,00001$	20,83 ± 1,42 ^{2,3} $p^2 = 0,00006$ $p^3 = 0,00018$
ХНБ + М, 3-я нед	44,994 ± 3,833 ^{2,3} $p^2 = 0,00000$ $p^3 = 0,00000$	89,653 ± 10,933	19,35 ± 1,09 ^{2,3} $p^2 = 0,00000$ $p^3 = 0,00207$	103,412 ± 3,715	14,92 ± 1,38 ² $p^2 = 0,00000$	21,65 ± 1,68 ² $p^2 = 0,00026$

Примечание. К – интактная группа; КБ – группа с воспроизведением модели ХНБ; М – группа с меланомой B16/F10; ХНБ + М – группа с меланомой B16/F10, которую трансплантировали через 3 нед после создания модели ХНБ. Статистически значимо по отношению к показателю: ¹ – в интактной группе; ² – в соответствующей контрольной группе КБ; ³ – на предыдущем сроке исследования.

При изучении Bcl-2 в митохондриях клеток органов интактных мышей найдено, что минимальный уровень был в митохондриях кожи, затем следовали митохондрии сердца – в 11,2 раза больше, чем в коже, далее митохондрии мозга, печени и почек, уровень Bcl-2 в которых был примерно равным и в среднем в 16,9 раз выше, чем в митохондриях кожи.

Установлено, что у самок мышей ХНБ не оказывала значимого действия на изменение уровня Bcl-2 в митохондриях печени и почек относительно соответствующих значений в митохондриях органов интактных животных (группа «К»). Вместе с тем в митохондриях клеток сердца ХНБ вызывала снижение Bcl-2 в 1,3 раза, а в митохондриях мозга и кожи, напротив, повышение в 1,3 ($p < 0,05$) и 5,9 раза соответственно.

Через 1 нед роста меланомы (группа «М») изменения уровня Bcl-2 зарегистрированы в митохондриях сердца, мозга и кожи: в митохондриях сердца показатель снизился в 1,7 раза ($p < 0,05$), а в митохондриях мозга и кожи, напротив, повысился в 1,3 раза ($p < 0,05$) и 8,9 раза относительно значений в митохондриях соответствующих органов интактных животных (группа «К»). Не найдено статистически значимых изменений в митохондриях печени и почек. Через 2 нед опухолевого роста в митохондриях мозга отмечено падение уровня Bcl-2 в 1,7 раза ($p < 0,05$) относительно соответствующего показателя у интактных животных и в 2,2 раза относительно предыдущего срока исследования.

В этот срок исследования найдено снижение уровня Bcl-2 в митохондриях сердца и кожи в 1,7 раза ($p < 0,05$) и 3,2 раза относительно соответствующего показателя в предыдущий срок. Не было статистически значимых изменений в митохондриях печени и почек. Через 3 нед роста меланомы содержа-

ние Bcl-2 в митохондриях мозга снизилось в 1,5 раза ($p < 0,05$) относительно предыдущего срока и было в 2,6 раза ниже показателя у интактных мышей. В этот срок исследования в митохондриях сердца содержание Bcl-2 не отличалось от значений в предыдущий срок исследования и было в 2,9 раза ниже значений у интактных животных. Резкое падение содержания Bcl-2 относительно предыдущего срока исследования найдено в митохондриях кожи через 3 нед роста опухоли – в 11,5 раза и стало в 4,1 раза ниже, чем у интактных мышей. Не изменялся показатель в митохондриях печени и почек.

В митохондриях меланомы этой группы животных содержание Bcl-2 на протяжении 1, 2 и 3-й нед было в 4,4; 5,1 и 2,5 раза соответственно выше, чем в митохондриях кожи интактных мышей. Через 1 нед роста меланомы на фоне ХНБ (группа «ХНБ + М») изменения уровня Bcl-2 найдены только в митохондриях сердца – увеличение в 1,7 раза ($p < 0,05$) относительно соответствующего контроля (группа «КБ»). В этот срок исследования не найдено изменения уровня Bcl-2 в митохондриях мозга, печени, почек и кожи. Через 2 нед роста меланомы при ХНБ содержание Bcl-2 в митохондриях сердца становилось в 1,9 раза, а в митохондриях кожи в 1,7 раза ($p < 0,05$) ниже соответствующего КБ.

Относительно предыдущего срока исследования найдено снижение показателя в митохондриях сердца в 3,4 раза. Через 3 нед роста меланомы на фоне ХНБ найдено снижение уровня Bcl-2 в митохондриях мозга в 2,2 раза, сердца в 1,24 раза ($p < 0,05$) относительно предыдущего срока исследования. Не найдено изменения уровня Bcl-2 в митохондриях печени и почек. В митохондриях меланомы, растущей на фоне ХНБ, содержание Bcl-2 через 1 нед развития опухоли было в 3 раза ниже, чем в митохондриях кожи кон-

трольных мышей группы «Кб», через 2 и 3 нед – в среднем в 1,5 раза ниже контрольных величин.

Таким образом, показано, что ХНБ, рост меланомы в самостоятельном варианте и рост меланомы на фоне ХНБ не оказывали влияния на уровень Bcl-2 в митохондриях печени и почек самок мышей. Вместе с тем значимые изменения найдены в содержании Bcl-2 в митохондриях мозга, сердца, не пораженной злокачественным процессом коже и меланоме.

ОБСУЖДЕНИЕ

Семейство белков Bcl-2 определяет чувствительность клеток к апоптозу, древней программе самоубийств, которая необходима для развития организма, гомеостаза тканей и иммунитета. Низкий апоптоз может приводить к развитию рака и аутоиммунным заболеваниям, высокий – усиливать дегенеративные состояния органов, в том числе способствовать возникновению нейродегенерации. Исследования с использованием трансгенных мышей прояснили функции многих членов семейства Bcl-2 как в нормальной физиологии, так и при различных патологических состояниях. Нет сомнений в том, что эти белки контролируют выживание всех клеток млекопитающих.

Некоторые биохимические находки привели к предположению, что члены семейства Bcl-2 также участвуют в неапоптотических процессах, включая деление и слияние митохондрий, аутофагию [15], но физиологические доказательства остаются ограниченными. Было показано, что белки семейства Bcl-2 регулируют проницаемость внешней мембраны митохондрий, что позволяет высвобождать проапоптотические белки, включая цитохром C, из межмембранного пространства в цитоплазму [16].

В данном исследовании при традиционной перевивке опухоли в митохондриях мозга было отмечено снижение уровня Bcl-2 после 2 нед роста опухоли, а при развитии меланомы на фоне ХНБ – только после 3 нед. В митохондриях сердца в случае традиционного роста опухоли не обнаружено ни в один срок исследования повышение уровня Bcl-2, напротив, в динамике роста опухоли его содержание в митохондриях сердца прогрессивно снижалось. При росте меланомы на фоне ХНБ через 1 нед после перевивки в митохондриях сердца обнаружено повышение уровня Bcl-2 и дальнейшее его падение в динамике роста опухоли.

Возможно, этот факт можно рассматривать как контроль проницаемости наружной митохондриальной мембраны для регулирования уровня кальция и активации митохондрий в результате стресса, вызванного опухолевым ростом, так как именно мозг и

сердце являются органами, наиболее подверженные стрессу [17, 18]. Предполагается, что наряду с изменением проницаемости наружной митохондриальной мембраны Bcl-2 опосредует сигналы стресса [19]. Показано, что различные внутриклеточные стрессовые сигналы действуют через белки семейства Bcl-2, вызывая активацию эффекторных каспаз [20].

Вместе с тем мы не обнаружили изменения уровня Bcl-2 в митохондриях печени и почек. В митохондриях кожи, непораженной злокачественным процессом, в динамике самостоятельного и индуцированного ХНБ роста меланомы уровень Bcl-2 имел как общие, так и отличительные черты. Так, на начальном и логарифмическом этапах развития опухоли (1–2-я нед) в митохондриях кожи при самостоятельном росте опухоли уровень изучаемого показателя был повышен относительно соответствующего контроля. При стимулированном росте, напротив, сначала (1-я нед) не имел значимых отличий от контрольных значений, а затем (2-я нед) снижался относительно показателя в соответствующем контроле. И только 3-я нед – терминальный этап роста опухоли – характеризовалась снижением показателя, т.е. однонаправленными изменениями, но при стандартном варианте роста опухоли значения Bcl-2 были существенно ниже.

В многоклеточных организмах рост, деление и гибель клеток регулируются множеством сигнальных путей, которые интегрируют состояние и функции клетки. В здоровых тканях существует баланс между этими процессами, что позволяет существовать тканевому гомеостазу [21]. Семейство белков Bcl-2 объединяет сигналы, которые запускают либо выживание клеток, либо апоптоз. Баланс между этими процессами важен для развития тканей и гомеостаза, в то время как нарушенный апоптоз способствует развитию нескольких патологий, в том числе рака. В дополнение к апоптотической и антиапоптотической функции члены семейства Bcl-2 играют неапоптотическую роль в регуляции миграции и инвазии клеток через различные сигнальные пути [22].

Семейство Bcl-2 контролирует целостность наружной митохондриальной мембраны (ОММ) и функционально делится на анти- и проапоптотические белки. Антиапоптотические члены Bcl-2 (например, Bcl-2/Bcl-xL/MCL-1) сохраняют целостность ОММ, напрямую связывая проапоптотические белки, которые взаимодействуют и образуют поры в ОММ. Регуляция ОММ является сложной из-за множества белков и путей, сходящихся в семействе Bcl-2. Более того, существуют специфические паттерны экспрессии и функциональности, зависящие от типа клеток и состояния дифференцировки [21].

В митохондриях опухоли, растущей самостоятельно или на фоне ХНБ, была несколько иная динамика, чем в коже, не пораженной злокачественным процессом. Это выражалось в том, что в митохондриях клеток меланомы, растущей стандартно, уровень Bcl-2 на протяжении всего срока исследования был значимо повышен по сравнению с показателями контрольной кожи, а в митохондриях меланомы, стимулированной ХНБ, напротив, снижен относительно соответствующего контроля. Следовательно, ХНБ способствует изменению накопительной способности митохондрий по Bcl-2 как в клетках органа опухоленосителя, так и в опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя в целом полученные результаты, следует заключить, что не только митохондрии клеток меланомы реагируют на сопутствующую хроническую нейрогенную боль, но и кожи, не пораженной злокачественным процессом, как органа-мишени злокачественного роста. Найденные различия по уровню Bcl-2 являются тому подтверждением.

Полагаем, что различная динамика Bcl-2 в митохондриях клеток меланомы в зависимости от варианта развития опухоли свидетельствует о модулирующем эффекте ХНБ и способности менять уровень показателя в зависимости от фазы роста. Из всех исследованных внутренних органов наиболее ярко на стандартный и стимулированный рост экспериментальной меланомы отреагировали митохондрии клеток мозга и сердца. Вместе с тем обнаружено, что митохондрии клеток двух органов – печень и почки, обладают определенной стабильностью по Bcl-2 как при стандартном развитии опухолевого процесса, так и при стимулированном.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gilmore A., King L. Emerging approaches to target mitochondrial apoptosis in cancer cells. *F1000Research*. 2019; 8 (1000): 1793. DOI: 10.12688/f1000research.18872.1.
2. Fulda S. Smac mimetics to therapeutically target IAP proteins in cancer. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2017; 330: 157–169. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2016.09.004.
3. Von Karstedt S., Montinaro A., Walczak H. Exploring the TRAILs less travelled: TRAIL in cancer biology and therapy. *Nat. Rev. Cancer*. 2017; 17 (6): 352–366. DOI: 10.1038/nrc.2017.28.
4. Badrinath N., Yoo S.Y. Mitochondria in cancer: in the aspects of tumorigenesis and targeted therapy. *Carcinogenesis*. 2018; 39 (12): 1419–1430. DOI:10.1093/carcin/bgy148.
5. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000; 100 (1): 57–70. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
6. Youle R.J., Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2008; 9 (1): 47–59. DOI: 10.1038/nrm2308.
7. Vikström I.B., Slomp A., Carrington E.M., Moesbergen L.M., Chang C., Kelly G.L., Glaser S.P., Jansen J.H., Leusen J.H., Strasser A., Huang D.C., Lew A.M., Peperzak V., Tarlinton D.M. MCL-1 is required throughout B-cell development and its loss sensitizes specific B-cell subsets to inhibition of BCL-2 r BCL-XL. *Cell Death Dis.* 2016; 7 (8): 2345. DOI: 10.1038/cddis.2016.237.
8. Grabow S., Kueh A.J., Ke F., Vanyai H.K., Sheikh B.N., Dengler M.A., Chiang W., Eccles S., Smyth I.M., Jones L.K., De Sauvage F.J., Scott M., Whitehead L., Voss A.K., Strasser F. Subtle changes in the levels of BCL-2 proteins cause severe craniofacial abnormalities. *Cell Rep.* 2018; 24 (12): 3285–3295. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.08.048.
9. Ankers J.M., Awais R., Jones N.A., Boyd J., Ryan S., Adamson A.D., Harper C.V., Bridge L., Spiller D.G., Jackson D.A., Paszek P., Sée V., White M.R. Dynamic NF-κB and E2F interactions control the priority and timing of inflammatory signalling and cell proliferation. *eLife*. 2016; 5: 10473. DOI: 10.7554/eLife.10473.
10. Schellenberg B., Wang P., Keeble J.A., Rodriguez-Enriquez R., Walker S., Owens T.W., Foster F., Tanianis-Hughes J., Brennan K., Streuli C.H., Gilmore A.P. Bax exists in a dynamic equilibrium between the cytosol and mitochondria to control apoptotic priming. *Mol. Cell*. 2013; 49 (5): 959–971. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.12.022.
11. Flusberg D.A., Roux J., Spencer S.L., Sorger P.K. Cells surviving fractional killing by TRAIL exhibit transient but sustainable resistance and inflammatory phenotypes. *Mol. Biol. Cell*. 2013; 24 (14): 2186–2200. DOI: 10.1091/mbc.e12-10-0737.
12. Gascoigne K.E., Taylor S.S. Cancer cells display profound intra- and interline variation following prolonged exposure to antimetabolic drugs. *Cancer Cell*. 2008; 14 (2): 111–122. DOI: 10.1016/j.ccr.2008.07.002.
13. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., и др. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей. *Российский журнал боли*. 2017; 2 (53): 14–20.
14. Егорова М.В., Афанасьев С.А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 26 (1-1): 22–28.
15. Czabotar P.E., Lessene G., Strasser A., Adams J.M. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014; 15 (1): 49–63. DOI: 10.1038/nrm3722.
16. Nakazawa M., Matsubara H., Matsushita Y., Watanabe M., Vo N., Yoshida H., Yamaguchi M., Kataoka T. The human Bcl-2 family member Bcl-rambo localizes to mitochondria and induces apoptosis and morphological aberrations in drosophila. *PloS One*. 2016; 11 (6): 0157823. DOI: 10.1371/journal.pone.0157823.
17. Cenini G., Lloret A., Cascella R. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from a mitochondrial point of view. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019; 2019: 2105607. DOI: 10.1155/2019/2105607.

18. Yin X., Xin H., Mao S., Wu G., Guo L. The role of autophagy in sepsis: protection and injury to organs. *Frontiers in Physiology*. 2019; (10): 1071. DOI: 10.3389/fphys.2019.01071.
19. Edlich F. BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018; 500 (1): 26–34. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.06.190.
20. Wang J., Feng W., Yuan Z., Weber J.D., Zhang Y. DHX33 Interacts with AP-2 β to regulate Bcl-2 gene expression and promote cancer cell survival. *Molecular and Cellular Biology*. 2019; 39 (17): 17–19. DOI: 10.1128/MCB.00017-19.
21. Elkholi R., Renault T.T., Serasinghe M.N., Chipuk J.E. Putting the pieces together: How is the mitochondrial pathway of apoptosis regulated in cancer and chemotherapy? *Cancer & Metabolism*. 2014; 2: 16. DOI: 10.1186/2049-3002-2-16.
22. Hartman M.L., Czyz M. BCL-w: apoptotic and non-apoptotic role in health and disease. *Cell Death & Disease*. 2020; 11 (4): 260. DOI: 10.1038/s41419-020-2417-0.

Вклад авторов

Кит О.И. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Франциянц Е.М. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение для публикации рукописи. Нескубина И.В., Немашкалова Л.А. – анализ и интерпретация данных. Черярина Н.Д., Сурикова Е.И., Каплиева И.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Шихлярова А.И. – обоснование рукописи.

Сведения об авторах

Кит Олег Иванович, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАМН, генеральный директор НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-3061-6108.

Франциянц Елена Михайловна, д-р биол. наук, профессор, зам. генерального директора по научной работе, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-3618-6890.

Нескубина Ирина Валерьевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-7395-3086.

Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант, лаборатория «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-3711-8155.

Шихлярова Алла Ивановна, д-р биол. наук, профессор, ст. науч. сотрудник, лаборатория «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-2943-7655.

Сурикова Екатерина Игоревна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-4318-7587.

Каплиева Ирина Викторовна, д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-3972-2452.

Немашкалова Людмила Анатольевна, науч. сотрудник, лаборатория «Изучение патогенеза злокачественных опухолей», НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-2713-8598.

(✉) Сурикова Екатерина Игоревна, e-mail: sunsur2000@mail.ru

Поступила в редакцию 19.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Нейровизуализационные особенности строения головного мозга у детей с детским церебральным параличом, полученные методом магнитно-резонансной трактографии

Клюев Е.А.¹, Шейко Г.Е.¹, Дунаев М.Г.², Лобанова Е.В.¹, Растеряева М.В.¹,
Шарабрин Е.Г.¹

*Приволжский исследовательский медицинский университет (ПИМУ)
Россия, 603950, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1*

*² ООО «Лечебно-диагностический центр Международного института биологических систем – Нижний Новгород» (ООО «ЛДЦ МИБС-НН»)
Россия, 603005, г. Нижний Новгород, ул. Нестерова, 34а*

РЕЗЮМЕ

Цель. Количественная оценка степени нарушений развития проводящих путей головного мозга у детей со спастическими формами детского церебрального паралича (ДЦП) методами магнитно-резонансной (МР) трактографии для определения тяжести заболевания, а также оценка динамики эффективности лечения.

Материалы и методы. Обследованы 46 детей 4–7 лет (средний возраст $(5,4 \pm 1,1)$ лет), из них 14 девочек (33%) и 32 мальчика (66%). Пациенты разделены на две группы. Исследуемую группу составили 23 пациента со спастическими формами ДЦП. В контрольную группу вошли 23 ребенка без неврологического дефицита. Исследование головного мозга проводилось на МР-томографе Siemens Essenza 1,5 T (Siemens, Германия) и включало метод МР-трактографии. Были рассчитаны и обработаны: количество волокон, средний показатель фракционной анизотропии, коэффициент диффузии, коэффициент миелинизации основных проводящих путей головного мозга.

Результаты. Выявлена достоверная разница указанных выше показателей между пациентами исследуемой и контрольной групп. У детей с ДЦП отмечалось снижение абсолютного количества волокон в области центральных и заднего сегментов мозолистого тела, кортикоспинальных трактов и левого нижнего продольного пучка. Также определялось снижение показателя фракционной анизотропии волокон в области 2–5-го сегментов мозолистого тела, правого кортикоспинального тракта; повышение коэффициента диффузии в области 2, 4, 5-го сегментов и левого кортикоспинального тракта; снижение коэффициента миелинизации во всех исследуемых трактах, за исключением верхних продольных пучков. Выявлена положительная корреляция между выраженностью моторного дефицита и коэффициентом миелинизации в области переднего сегмента мозолистого тела и нижних продольных пучков.

Заключение. МР-трактография является информативным методом объективной оценки организации проводящих путей головного мозга, уровня и степени поражения моторных трактов. Наиболее информативными характеристиками организации проводящих путей являются абсолютное количество волокон в тракте, показатель фракционной анизотропии, а также расчетный показатель – коэффициент миелинизации. Некоторые из выявленных изменений коррелировали с выраженностью моторного дефицита, что позволяет рассматривать их как потенциальные предикторы реабилитационного прогноза.

Ключевые слова: диффузионно-тензорный имиджинг, трактография, фракционная анизотропия, коэффициент миелинизации, детский церебральный паралич, нейровизуализация, моторный дефицит.

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

✉ Клюев Евгений Александрович, e-mail: eugenekluev@yandex.ru

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Исследование проводилось с обязательного письменного информированного согласия родителей. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 4 от 29.03.2017).

Для цитирования: Ключев Е.А., Шейко Г.Е., Дунаев М.Г., Лобанова Е.В., Растеряева М.В., Шарабрин Е.Г. Нейровизуализационные особенности строения головного мозга у детей с детским церебральным параличом, полученные методом магнитно-резонансной трактографии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 54–61. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-54-61>.

Neurovisualization features of brain anatomy in children with spastic cerebral palsy revealed by magnetic resonance tractography

Klyuev E.A.¹, Sheiko G.E.¹, Dunaev M.G.², Lobanova E.V.¹, Rasteryaeva M.V.¹, Sharabrin E.D.¹

¹ *Privolzhsky Research Medical University
10/1, Minin and Pozharsky square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation*

² *“Medical and Diagnostic Center of the Dr. Berezin Medical Institute – Nizhny Novgorod” LLC (“MDC MIBS-NN” LLC)
34a, Nesterova Str., Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To perform quantitative evaluation of the degree of white matter tract abnormalities in children with spastic cerebral palsy by magnetic resonance tractography to determine severity of the disease, as well as to carry out a dynamic assessment of treatment effectiveness.

Materials and methods. The study included 46 children (32 males, 14 females; average age 5.4 ± 1.1 years). The participants were divided into two groups. The experimental group consisted of 23 children with spastic cerebral palsy. The control group included 23 children without any neurological disorder. Examination of the brain was performed on the Siemens Essenza 1,5 T system (Siemens, Germany) and included magnetic resonance tractography to reconstruct the major white matter tracts. The number of fibers, average fractional anisotropy value, apparent diffusion coefficient, and coefficient of myelination of major white matter tracts in the brain were calculated and analyzed.

Results. We found a significant difference in the above-stated parameters between the groups. The experimental group showed a decrease in the absolute number of fibers at the central and posterior segments of the corpus callosum, corticospinal tracts, and left inferior longitudinal fasciculus. Besides, we detected a decrease in fractional anisotropy at 2–5 segments of the corpus callosum and right lateral corticospinal tract, an increase in the apparent diffusion coefficient at 2, 4, and 5 segments of the corpus callosum and left lateral corticospinal tract, and a decrease in the myelination coefficient in all the examined tracts, except for superior longitudinal fasciculus. We revealed a positive correlation between the intensity of the motor disturbance and the coefficient of myelination at the anterior corpus callosum and inferior longitudinal fasciculus.

Conclusion. Magnetic resonance tractography is an informative technique for unbiased evaluation of white matter tract anatomy, as well the level and degree of motor tract damage. The most useful characteristics of white matter tract anatomy are the absolute number of fibers in the tract, fractional anisotropy, and coefficient of myelination. Some of them correlated with the intensity of motor disturbance, so they can be regarded as potential predictors of rehabilitation potential.

Key words: cerebral palsy, diffusion tensor imaging, tractography, fractional anisotropy, coefficient of myelination, neuroimaging, motor disturbance.

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.

Conformity with the principles of ethics. A written informed consent was obtained from parents of the children who participated in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Privolzhsky Research Medical University (Protocol No. 4 of 29.03.2017).

For citation: Klyuev E.A., Sheiko G.E., Dunaev M.G., Lobanova E.V., Rasteryaeva M.V., Sharabrin E.D. Neurovisualization features of brain anatomy in children with spastic cerebral palsy revealed by magnetic resonance tractography. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 54–61. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-54-61>.

ВВЕДЕНИЕ

Детский церебральный паралич (ДЦП) – это неврологический синдром, включающий в себя группу перманентных расстройств моторного развития и удержания позы [1]. Распространенность этого заболевания достаточно высока и, по данным различных авторов, составляет 2,2–3,3 случая на 1 000 новорожденных [2, 3]. В силу выраженности клинической картины, ранней инвалидизации, социальной дезадаптации своевременная диагностика, лечение и реабилитация пациентов с ДЦП приобретают важное социальное значение.

Большинство авторов считают, что диагноз ДЦП устанавливается на основании совокупности клинических и нейровизуализационных данных, таких как нейросонография (в перинатальный период) и магнитно-резонансная томография (МРТ) [2, 4]. С помощью этих базовых методик оценивают характер и локализацию патологических изменений в головном мозге, а именно: поражение белого вещества в виде перивентрикулярной лейкомаляции, поражения базальных ядер, фокальных инсультов и различные виды церебральной дисплазии [5]. Применение новых методик МРТ, таких как морфометрия, трактография, спектроскопия, функциональная МРТ, значительно увеличили массив диагностической информации [6]. Диффузионно-тензорный имиджинг (ДТИ) и МР-трактография позволили точно визуализировать проводящие пути головного мозга, которые, как полагают некоторые авторы, чаще всего поражаются у пациентов с ДЦП [7].

Эта технология представляет собой математическую трехмерную реконструкцию трактов на основании направления диффузии в каждом вокселе мозга. Одним из основных аспектов исследования головного мозга методом ДТИ является определение значения фракционной анизотропии (ФА), т.е. степени сонаправленного движения молекул воды внутри проводящих путей. Данный показатель характеризует степень миелинизации проводящих путей головного мозга.

На основании карт ФА программно выполняется трехмерная реконструкция проводящих путей [8]. В результате реконструкции оценивается симметричность, протяженность трактов и их направление, что позволяет выявить преобладающую сторону нару-

шения функции даже при симметричном поражении белого вещества по данным структурной МРТ [9].

Цель исследования – изучение нарушений организации проводящих путей головного мозга методом МР-трактографии у пациентов с ДЦП дошкольного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 46 детей 4–7 лет (средний возраст $5,4 \pm 1,1$ лет), из них 14 девочек (30%) и 32 мальчика 32 (70%). Пациенты разделены на две группы. Первую группу составили 23 пациента со спастическими формами ДЦП: девочек – 7 (30%), мальчиков – 16 (70%). Средний возраст составил $5,4 \pm 1,1$ лет. Диагноз ДЦП был установлен детям в возрасте от 9 мес до 2,5 лет.

Спастическая диплегия (G80.1 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра) отмечена у 13 (56%) детей, гемиплегическая форма (G80.2) – у 10 (44%). Средний уровень двигательных нарушений у пациентов с ДЦП по Международной шкале классификации глобальных моторных функций (Global Motor Function Classification System, GMFCS) [10] составил $1,83 \pm 0,5$.

Вторую (контрольную) группу составили 23 ребенка: девочек – 7 (30%), мальчиков – 16 (70%). Средний возраст составил $5,6 \pm 1,3$ лет. Дети находились на лечении в отделениях клиники с соматической патологией, не имели моторного дефицита и органической патологии нервной системы и, следовательно, отсутствовал неврологический дефицит. Показаниями для проведения МРТ, согласно направлению невролога, были головные боли (6 пациентов), а также задержка речевого развития (17 человек).

Всем пациентам первой группы (с ДЦП) выполнено полное физикальное обследование, а также специализированное клиничко-неврологическое обследование, включающее оценку состояния по неврологическим опросникам и шкалам: модифицированная шкала спастичности Эшворта, визуально-аналоговая шкала (ВАШ), шкала оценки глобальных моторных функций (Gross motor function measure 88, GMFM-88), система классификации мануальных способностей для детей с церебральным параличом (Manual Ability Classification System, MACS).

МРТ проводили на томографе Siemens Essenza 1,5T (Siemens, Германия), с применением восьмика-

нальной поверхностной катушки для головы. Были получены структурные изображения головного мозга в стандартных режимах T1, T2, FLAIR в трех взаимоперпендикулярных плоскостях. Для проведения МР-трактографии использовались последовательно T1 MPR (multiplanar reconstruction) в сагиттальной плоскости и эхо-планарная диффузионно-тензорная импульсная последовательность в аксиальной плоскости, количество направлений диффузии – 20, факторы диффузии – 0,1000 с/мм².

Полученные данные обрабатывались с помощью программы BrainEx 2.2.0 (NordicNeuroLab, Норвегия). В программе автоматически применялась коррекция движений и вихревых токов. Эхо-планарные изображения были скорректированы со структурными для выполнения трехмерной реконструкции проводящих путей по анатомическим ориентирам.

Выделены основные проводящие пути: сегменты мозолистого тела (пять сегментов) (МТ 1–5), кортикоспинальные тракты правый (КСТп) и левый (КСТл), продольные пучки верхние левые (ВППл) и правые (ВППп) и нижние левые (НППл) и правые (НППп) – всего 11 локализаций. Реконструкция проводилась по методике детерминированной трактографии [10].

С целью реконструкции сегментов мозолистого тела область интереса устанавливали на соответствующий сегмент, исходя из схемы S. Hofer и J. Frahm [11]; для кортикоспинальных трактов область интереса определяли в проекции прецентральных извилин, для верхних и нижних продольных пучков – в области лобных и теменных, височных и затылочных долей соответственно. Для реконструкции проводящих путей установлены следующие параметры: порог показателя фракционной анизотропии – 0,15, минимальная длина волокон – 20 мм.

Для каждого выделенного пучка получены следующие параметры: количество волокон, показатель фракционной анизотропии, коэффициент диффузии. Рассчитывались также производные показатели – процентное содержание количества волокон в сегментах мозолистого тела относительно общего количества волокон в нем, индекс латерализации (для волокон парных трактов), а также коэффициент миелинизации, представляющий собой произведение количества волокон изучаемого тракта на средний показатель фракционной анизотропии в нем.

Статистический анализ полученных количественных параметров проводящих трактов осуществлялся с помощью лицензионных программ IBM SPSS v21 statistical software (IBM SPSS, США). Проводилось сравнение средних для независимых выборок с расчетом критерия Стьюдента или Манна – Уитни, в за-

висимости от нормальности распределения показателей внутри выборок, для выявления статистически важных различий между исследуемой и контрольной группами. Для оценки закономерностей распределения показателей внутри группы испытуемых в зависимости от клинической формы ДЦП и степени двигательных нарушений были рассчитаны критерии корреляции Пирсона (балл GMFCS, GMFM 88).

Исследование выполнено на базе Университетской клиники ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России в период с 2017 по 2019 г., одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 4 от 29.03.2017) и проводилось с обязательного письменного информированного согласия родителей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам МРТ-исследования у пациентов группы 1 (с ДЦП) выявлен симптомокомплекс, включающий три вида структурных изменений. К первому виду мы отнесли глиозные изменения белого вещества головного мозга преимущественно перивентрикулярной локализации. Такие изменения выявлены у 19 (83%) из 23 пациентов, в том числе: минимально выраженные зоны перивентрикулярного глиоза – у 9 (40%); умеренно выраженные зоны перивентрикулярного глиоза, распространяющиеся на соседние структуры, – у 2 (8%); выраженные кистозно-глиозные изменения – у 7 (30%); обширные зоны кистозно-атрофически-глиозных изменений – у 1 (4%). Порэнцефалические кисты наблюдались у 2 пациентов (8%). Второй вид – изменения желудочков мозга – выявлены у 16 (70%) пациентов с ДЦП.

Латероventрикулоасимметрия, связанная с перивентрикулярной лейкомаляцией, обнаружена у 6 пациентов; умеренное расширение боковых желудочков – у 10, в том числе преимущественно задних рогов у – 7. Признаки глиозных изменений белого вещества головного мозга и патологии желудочков мозга сочетались у 16 (70%) пациентов. Третий вид выявленных изменений – нарушение организации проводящих путей структур головного мозга. В процессе постобработки были реконструированы основные проводящие пути головного мозга (рис. 1). У детей из контрольной группы отмечается достаточно равномерное распределение волокон по сегментам мозолистого тела (рис. 2, *b*), а также симметричность количества волокон кортикоспинальных трактов, верхних и нижних продольных пучков (рис. 2, *a*).

У пациентов с ДЦП абсолютное количество волокон было уменьшено во всех отделах мозолистого тела за исключением переднего; кортикоспинальных трактах, а также в левом нижнем продольном пучке.

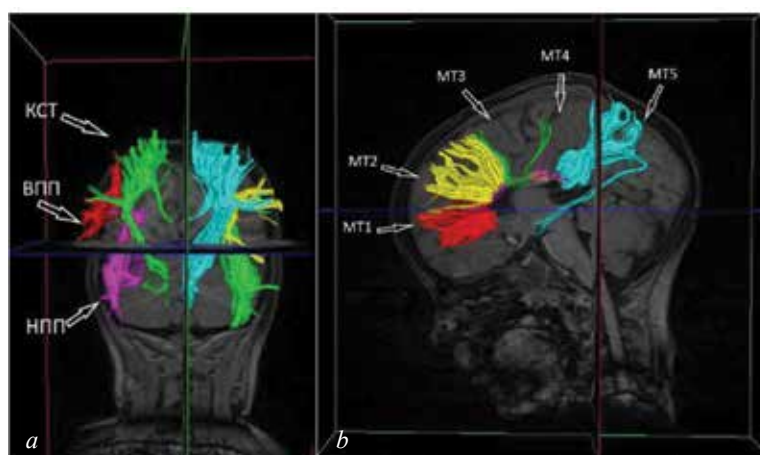


Рис. 1. Типичные изменения основных проводящих путей, выявленные у пациентов с ДЦП: КСТ – кортикоспинальный тракт; ВПП – верхний продольный пучок; НПП – нижний продольный пучок; МТ 1, 2, 3, 4, 5-й – сегменты мозолистого тела (здесь и на рис. 2). Визуально отмечается асимметричное уменьшение количества волокон кортикоспинального тракта и верхнего продольного пучка на стороне поражения (рис. 1, *a*), а также уменьшение количества волокон в центральном и задне-центральных сегментах мозолистого тела (рис. 1, *b*).

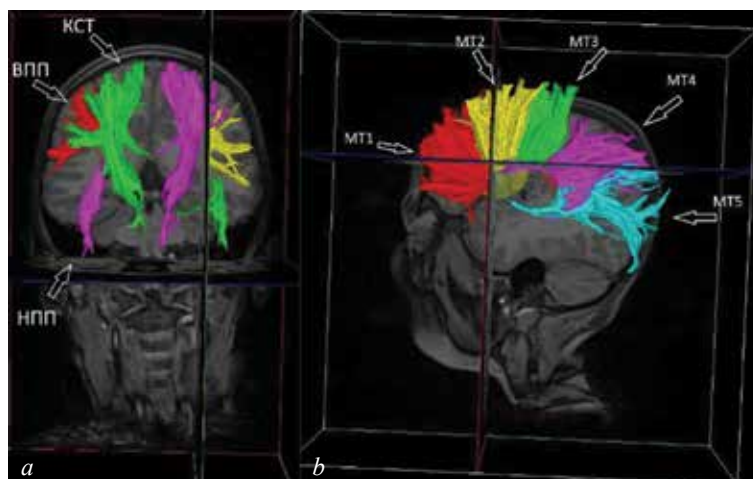


Рис. 2. Реконструированные основные проводящие пути головного мозга пациентов из группы контроля: *a* – волокна кортикоспинальных трактов, верхних и нижних продольных пучков; *b* – распределение волокон по сегментам мозолистого тела

Таблица

Сравнение характеристик проводящих путей между исследуемыми группами										
Тракт	Количество волокон, шт.	<i>p</i>	Содержание волокон, % (индекс латерализации)	<i>p</i>	Значение показателя ФА	<i>p</i>	Коэффициент миелинизации	<i>p</i>	ИКД	<i>p</i>
MT1	1594,2 (148,3)	0,052 (М–У)	0,393 (0,023)	0,000 (Ст)	0,409 (0,009)	0,07 (М–У)	670,3 (69,8)	0,040 (М–У)	92,0 (1,6)	0,799 (Ст)
	2028,4 (144,7)		0,280 (0,013)		0,432 (0,007)		886,5 (66,7)		91,4 (1,2)	
MT2	729,4 (102,1)	0,024 (М–У)	0,164 (0,015)	0,258 (М–У)	0,385 (0,01)	0,047 (М–У)	292,1 (43,1)	0,017 (М–У)	101,9 (2,9)	0,036 (Ст)
	1101,9 (115,4)		0,143 (0,009)		0,413 (0,007)		463,1 (50,5)		94,8 (1,6)	
MT3	440,9 (99,5)	0,014 (М–У)	0,088 (0,013)	0,362 (М–У)	0,368 (0,013)	0,036 (М–У)	173,2 (40,5)	0,016 (М–У)	112,6 (4,8)	0,052 (М–У)
	817,3 (124,9)		0,097 (0,011)		0,406 (0,009)		344,9 (54,7)		101,8 (2,4)	
MT4	228,7 (56,9)	0,000 (Ст)	0,041 (0,007)	0,000 (Ст)	0,332 (0,013)	0,00 (М–У)	86,5 (23,2)	0,000 (Ст)	129,4 (4,6)	0,000 (Ст)
	872,7 (140,6)		0,102 (0,012)		0,418 (0,012)		384,6 (66,5)		104,6 (2,8)	
MT5	1408,3 (157,1)	0,000 (М–У)	0,311 (0,022)	0,027 (М–У)	0,411 (0,012)	0,00 (Ст)	609,1 (73,5)	0,000 (М–У)	112,1 (2,9)	0,000 (Ст)
	2678,1 (159,1)		0,375 (0,015)		0,470 (0,006)		1268,6 (81,4)		97,9 (0,96)	

Тракт	Количество волокон, шт.	<i>p</i>	Содержание волокон, % (индекс латерализации)	<i>p</i>	Значение показателя ФА	<i>p</i>	Коэффициент миелинизации	<i>p</i>	ИКД	<i>p</i>
КСТл	1559,5 (87,6)	0,000	–0,030 (0,859) ¹	0,089	0,381 (0,011)	0,147	598,8 (40,4)	0,000	90,9 (3,4)	0,015
	2314,3 (130,2)	(M–Y)	0,008 (0,091) ¹	(M–Y)	0,391 (0,006)	(M–Y)	897,9 (45,9)	(M–Y)	82,2 (0,6)	(Ст)
КСТп	1590,1 (112, 2)	0,001	–0,030 (0,859) ¹	0,089	0,379 (0,006)	0,039	608,8 (45,5)	0,000	87,9 (3,0)	0,052
	2251,4 (131,5)	(M–Y)	0,008 (0,091) ¹	(M–Y)	0,400 (0,004)	(M–Y)	899,5 (52,5)	(M–Y)	81,6 (0,6)	(Ст)
ВППл	382,1 (44,3)	0,448	0,570 (0,279) ¹	0,102	0,320 (0,016)	0,209	131,2 (16,3)	0,489	79,5 (3,7)	0,582
	421,3 (38,9)	(M–Y)	0,683 (0,158) ¹	(M–Y)	0,343 (0,004)	(Ст)	144,8 (13,6)	(M–Y)	81,6 (0,7)	(M–Y)
ВППп	432,7 (64,8)	0,083	0,570 (0,279) ¹	0,102	0,346 (0,009)	0,059	153,6 (23,9)	0,077	82,0 (1,3)	0,422
	543,9 (54,9)	(M–Y)	0,683 (0,158) ¹	(M–Y)	0,359 (0,005)	(Ст)	196,5 (20,4)	(M–Y)	80,8 (0,9)	(M–Y)
НППл	455,3 (47,8)	0,002	–0,125 (0,400) ¹	0,116	0,354 (0,017)	0,067	172,0 (18,8)	0,001	92,3 (4,3)	0,854
	685,8 (40,9)	(M–Y)	–0,079 (0,289) ¹	(M–Y)	0,390 (0,005)	(M–Y)	268,3 (16,7)	(M–Y)	93,1 (0,8)	(M–Y)
НППп	463,8 (51,6)	0,073	–0,125 (0,400) ¹	0,116	0,369 (0,007)	0,052	175,8 (21,3)	0,049	96,1 (1,2)	0,012
	585,8 (52,9)	(M–Y)	–0,079 (0,289) ¹	(M–Y)	0,390 (0,005)	(M–Y)	229,1 (20,8)	(M–Y)	92,3 (0,7)	(Ст)

Примечание. Курсивом выделены средние значения показателей в группе пациентов с ДЦП; в скобках указано значение стандартной ошибки среднего; (Ст) – применялся критерий Стьюдента, (M–Y) – критерий Манна – Уитни.

¹ медиана выборки, в скобках – интерквартильный размах.

Показатель фракционной анизотропии был достоверно снижен в центральных и заднем сегментах мозолистого тела, правом кортикоспинальном тракте и левом нижнем продольном пучке. Коэффициент диффузии достоверно увеличен в группе пациентов с ДЦП лишь в пяти из 11 локализаций. Из расчетных показателей коэффициент миелинизации был достоверно снижен во всех исследуемых трактах кроме верхних продольных пучков. Процентное содержание волокон (%), или индекс латерализации (для симметричных трактов), достоверно различалось в трех сегментах мозолистого тела. Результаты статистической обработки представлены в таблице.

Глиозные изменения и изменения желудочков мозга достаточно хорошо проанализированы многими авторами [5, 12, 13]. Единое мнение о диагностическом значении структурных изменений вещества головного мозга у пациентов с ДЦП в литературе отсутствует [14]. Немногочисленными авторами выявлены и описаны изменения в области кортикоспинальных (моторных) трактов, проявляющиеся как в уменьшении количества волокон, так и в снижении показателя фракционной анизотропии [15]. Изменение характеристик кортикоспинальных трактов, в частности снижение ФА, авторы связывают с двигательными нарушениями [6]. Однако степень поражения кортикоспинальных трактов, устанавливаемая на основании снижения показателя фракционной анизотропии, не всегда соответствует выраженности клинических проявлений у пациентов с ДЦП [15]. Подобной корреляции не обнаружено и в нашем исследовании.

Согласно полученным нами данным, нарушения организации проводящих путей у пациентов с ДЦП выявлялись чаще, чем это описано в литературе [15]. Изменения в мозолистом теле (во всех пяти сегментах) наблюдались у всех пациентов с ДЦП, независимо от поражения других структур головного мозга. Изменение мозолистого тела у пациентов с ДЦП описано в литературе. В частности, исследовано отставание его развития, проявляющееся в истончении и уменьшении объема у пациентов с ДЦП, по сравнению со здоровыми ровесниками [16].

Кроме того, по результатам системного обзора L. Mailleux и соавт. (2020), были выявлены отдельные работы, демонстрирующие снижение фракционной анизотропии у пациентов с ДЦП, преимущественно в центральных отделах [7], схожие данные получены и в нашем исследовании. Характер изменений мозолистого тела еще недостаточно изучен, и их роль в патогенезе ДЦП неясна. Однако связь с нарушением двигательной функции прослеживается достаточно четко, ведь комиссуральные пути центрального сегмента мозолистого тела соединяют именно моторные зоны коры.

Среди пациентов группы ДЦП была изучена взаимосвязь между данными МР-трактографии и нарушением двигательной функции. Выявлена умеренная положительная корреляция, значимая на уровне достоверности $p < 0,05$, между баллом GMFM 88 и коэффициентом миелинизации в области переднего сегмента мозолистого тела (коэффициент корреляции Пирсона – 0,51), а также коэффициентом

миелинизации нижних продольных пучков (коэффициент корреляции Пирсона – 0,46 с правым пучком и 0,47 – с левым). Коэффициент миелинизации, по нашему мнению, более точно характеризовал нарушения организации проводящих путей, так как формула его расчета учитывает взаимное изменение двух показателей: количество волокон и показатель фракционной анизотропии.

Среди пациентов с ДЦП есть группа пациентов, у которых признаки изменения головного мозга методом структурной МРТ не определяются, а незначительные и (или) симметричные поражения белого вещества не могут полностью объяснить клиническую картину заболевания [14]. В нашем исследовании при МРТ исследовании изменения белого вещества отсутствовали у 4 пациентов (17%) при клинической картине ДЦП. Нарушения организации проводящих трактов мозолистого тела выявлено у всех этих пациентов вне зависимости от состояния белого вещества и желудочков головного мозга. Таким образом, при отсутствии МРТ-признаков поражения белого вещества МР-трактография является единственным объективным методом, подтверждающим ДЦП у ребенка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МР-трактография является информативным методом объективной оценки организации проводящих путей головного мозга, уровня и степени поражения моторных трактов. Наиболее информативными характеристиками организации проводящих путей являются абсолютное количество волокон в тракте, показатель фракционной анизотропии, а также расчетный показатель – коэффициент миелинизации. Среди пациентов группы ДЦП была выявлена взаимосвязь между данными МР-трактографии и нарушением двигательной функции. Разработан метод оценки состояния трактов путем расчета коэффициента миелинизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Appleton R.E., Gupta R. Cerebral palsy: not always what it seems. *Arch. Dis. Child.* 2019; 104 (8): 809–814. DOI: 10.1136/archdischild-2018-315633.
2. Michael-Asalu A., Taylor G., Campbell H., Lelea L.-L., Kirby R.S. Cerebral palsy. *Advances in Pediatrics.* 2019; 66: 189–208. DOI: 10.1016/j.yapd.2019.04.002.
3. Stavsky M., Mor O., Mastrolia S.A., Greenbaum S., Than N.G., Erez O. Cerebral palsy – trends in epidemiology and recent development in prenatal mechanisms of disease, treatment, and prevention. *Front. Pediatr.* 2017; 5: 21. DOI: 10.3389/fped.2017.00021.
4. Morgan C., Fahey M., Roy B., Novak I. Diagnosing cerebral palsy in full-term infants: cerebral palsy in infants. *Journal of Paediatrics and Child Health.* 2018; 54 (10): 1159–1164. DOI: 10.1111/jpc.14177.
5. Dan B., Mayston M., Paneth N., Rosenbloom L. Cerebral palsy. London; Somerset: Mac Keith Press John Wiley & Sons, Incorporated, 2015: 241–250.
6. Staudt M. Imaging cerebral palsy. In: Handbook of clinical neurology. Elsevier; 2013: 177–181.
7. Mailleux L., Franki I., Emsell L., Peedima M.-L., Fehrenbach A., Feys H., Ortibus E. The relationship between neuroimaging and motor outcome in children with cerebral palsy: A systematic review – Part B diffusion imaging and tractography. *Research in Developmental Disabilities.* 2020 Feb.; 97: 103569. DOI: 10.1016/j.ridd.2019.103569.
8. Ganepola T., Nagy Z., Ghosh A., Papadopoulou T., Alexander D.C., Sereno M.I. Using diffusion MRI to discriminate areas of cortical grey matter. *NeuroImage.* 2018; 182: 456–468. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2017.12.046.
9. Cho H.K., Jang S.H., Lee E., Kim S.Y., Kim S., Kwon Y.H., Son S.M. Diffusion tensor imaging –demonstrated differences between hemiplegic and diplegic cerebral palsy with symmetric periventricular leukomalacia. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2013; 34 (3): 650–654. DOI: 10.3174/ajnr.A3272.
10. Palisano R., Rosenbaum P., Walter S., Russell D., Wood E., Galuppi B. Development and reliability of a system to classify grossmotor function in children with cerebral palsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 1997; 39 (4): 214–223 DOI: 10.1111/j.1469-8749.1997.tb07414.x.
11. Hofer S., Frahm J. Topography of the human corpus callosum revisited – comprehensive fiber tractography using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *NeuroImage.* 2006; 32 (3): 989–994. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.05.044.
12. Basser P.J., Pajevic S., Pierpaoli C., Duda J., Aldroubi A. 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.
13. Johnston M.V., Hoon A.H. Cerebral palsy. *NMM.* 2006; 8 (4): 435–450. DOI: 10.1385/NMM:8:4:435.
14. Franki I., Mailleux L., Emsell L., Peedima M.-L., Fehrenbach A., Feys H., Ortibus E. The relationship between neuroimaging and motor outcome in children with cerebral palsy: A systematic review – Part A. Structural imaging. *Research in Developmental Disabilities.* 2020 May; 100: 103606. DOI: 10.1016/j.ridd.2020.103606.
15. Nemanich S.T., Mueller B.A., Gillick B.T. Neurite orientation dispersion and density imaging quantifies corticospinal tract microstructural organization in children with unilateral cerebral palsy. *Hum. Brain Mapp.* 2019; 40 (17): 4888–4900. DOI:10.1002/hbm.24744.
16. Зыкин П.А., Ялфимов А.Н., Александров Т.А., Краснощекова Е.И., Ткаченко Л.А., Середа В.М., Насыров Р.А. Особенности развития мозолистого тела мозга детей по данным МРТ. *Педиатрия.* 2018; 9 (1): 37–48. DOI: 10.17816/PED9137-48.

Вклад авторов

Клюев Е.А. – разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка результатов исследования, написание текста. Шейко Г.Е. – сбор и обработка материала, участие в написании текста, редактирование. Дунаев Г.Е. – сбор и обработка материала, участие в написании текста. Лобанова Е.В., Растеряева М.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Шарабрин Г.Е. – участие в разработке концепции и дизайна исследования, написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Сведения об авторах

Клюев Евгений Александрович, аспирант, кафедра лучевой диагностики ФДПО, ПИМУ, г. Нижний Новгород. ORCID 0000-0003-2069-1710.

Шейко Геннадий Евгеньевич, канд. мед. наук, ассистент, кафедра медицинской реабилитации, ПИМУ, г. Нижний Новгород. ORCID 0000-0003-0402-7430.

Дунаев Максим Геннадьевич, врач-рентгенолог, ООО «ЛДЦ МИБС-НН», г. Нижний Новгород. ORCID 0000-0003-4172-7444.

Лобанова Елена Витальевна, врач-рентгенолог, Университетская клиника, ПИМУ, г. Нижний Новгород. ORCID 0000-0002-9429-5350.

Растеряева Марина Вячеславовна, канд. мед. наук, зав. отделением рентгенологии, Университетская клиника, ПИМУ, г. Нижний Новгород. ORCID 0000-0002-8462-3824.

Шарабрин Евгений Георгиевич, д-р мед. наук, профессор кафедры лучевой диагностики ФДПО, ПИМУ, г. Нижний Новгород. ORCID 0000-0001-5326-7233.

(✉) **Клюев Евгений Александрович**, e-mail: eugenekluev@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Влияние sTNFSF14 на митохондриальную динамику в печени у пациентов с ожирением

Комар А.А.¹, Скуратовская Д.А.¹, Вульф М.А.¹, Ву Х.К.¹, Даринская А.² Газатова Н.Д.¹, Тодосенко Н.М.¹, Затолокин П.А.¹, Кириенкова Е.В.¹, Литвинова Л.С.¹

¹ Балтийский федеральный университет (БФУ) им. И. Канта
Россия, 236016, г. Калининград, ул. А. Невского, 14

² Институт онкологии, Вильнюсский университет
Литовская республика, 01513, г. Вильнюс, ул. Университето, 3

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Патогенез неалкогольной жировой болезни печени, формирующейся при ожирении и сахарном диабете (СД) 2-го типа, опосредован воздействием многочисленных воспалительных факторов на паренхиму этого органа, а также развивающейся митохондриальной дисфункцией гепатоцитов.

Цель – определение роли растворимой формы sTNFSF14 в регуляции биогенеза митохондрий в печени у больных ожирением с сахарным диабетом СД 2-го типа и без него.

Материалы и методы. В исследование включены 263 больных ожирением с СД 2-го типа и без него и 42 условно здоровых донора. Количественное определение цитокинов в плазме крови проводили методом проточной флуориметрии. Уровень относительной экспрессии генов в биоптатах печени исследовали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Полуколичественное определение белков в биоптатах печени проведено методом иммуноблоттинга.

Результаты. Показано, что уровни sTNFSF14, интерлейкина (IL) 10, gp130/sIL-6Rb и sIL-6Ra в плазме крови у больных ожирением без СД 2-го типа значительно превышали аналогичные значения контроля и больных ожирением с СД 2-го типа. В биоптатах печени, полученных у больных ожирением с СД 2-го типа с индексом массы тела более 40 кг/м², уровень экспрессии гена белка, подобного динамину 1 (*DRP1/DNM1L*), был ниже в сравнении с группой контроля, а уровень экспрессии гена митофузина 2 (*MFN2*) имел тенденцию к увеличению. В печени у всех больных ожирением регистрировалось повышение (в сравнении с контролем) уровня экспрессии белка НАДН-убихинона оксидоредуктазы цепи 4 (MT-ND4) и, напротив, снижение количества митохондриальной ДНК (мтДНК).

Заключение. Таким образом, sTNFSF14, взаимодействуя с IL-10 и gp130/sIL-6Rb в циркуляции, оказывает положительное воздействие на печень у больных ожирением без СД 2-го типа. Низкий уровень sTNFSF14 в плазме крови, регистрируемый у больных ожирением с СД 2-го типа, приводит к снижению деления митохондрий и увеличению клеточного дыхания у этой категории больных.

Ключевые слова: ожирение, СД 2-го типа, sTNFSF14, IL-6, gp130/sIL-6Rb, sIL-6Ra.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке РФФИ и Правительства Калининградской области (№ 19- 415-393004-г_мол_а, 19-44-390005- г_а); в рамках Государственного задания в области научной деятельности (№ FZWM-2020-0010); при государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации (№ 2495.2020.7).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом БФУ им. И. Канта (протокол № 2 от 06.03.2017).

✉ Комар Александра Андреевна, e-mail: alexandkomar@gmail.com

Для цитирования: Комар А.А., Скуратовская Д.А., Вульф М.А., Ву Х.К., Даринскас А., Газатова Н.Д., Тодосенко Н.М., Затолокин П.А., Кириенкова Е.В., Литвинова Л.С. Влияние sTNFSF14 на митохондриальную динамику в печени у пациентов с ожирением. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 62–71. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-62-71>.

The role of sTNFSF14 in the liver mitochondrial dynamics in obese patients

Komar A.A.¹, Skuratovskaia D.A.¹, Vulf M.A.¹, Vu H.Q.¹, Darinskas A.², Gazatova N.D.¹, Todosenko N.M.¹, Zatolokin P.A.¹, Kirienkova E.V.¹, Litvinova L.S.¹

¹ Immanuel Kant Baltic Federal University (IKBFU)
14, A. Nevskogo Str., Kaliningrad, 236016, Russian Federation

² National Cancer Institute, Vilnius University
3, Universiteto Str., Vilnius, 01513, Republic of Lithuania

ABSTRACT

Background. The pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), which develops in obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM), is associated with the effects of inflammatory factors on the liver parenchyma and liver mitochondrial dysfunction.

Aim. To determine the role of sTNFSF14 in the regulation of liver mitochondrial biogenesis in obese patients with and without T2DM.

Materials and methods. The study included 263 obese patients with and without T2DM and 42 apparently healthy donors. Quantitative determination of cytokines in the blood plasma was performed by fluorescence flow cytometry. The level of relative gene expression in the liver biopsy samples was investigated by real-time PCR. Semi-quantitative determination of proteins in the liver biopsy samples was studied by western blotting.

Results. The study showed that the levels of sTNFSF14, interleukin (IL)-10, gp130 / sIL-6Rb, and sIL-6Ra in the blood plasma of the obese patients without T2DM significantly exceeded the similar values in the control patients and obese patients with T2DM. In the liver biopsy samples of the obese patients with T2DM and a body mass index (BMI) > 40 kg / m², the expression level of the dynamin-1-like protein (DRP1 / DNM1L) gene was lower than in the control group, and the expression level of the mitofusin 2 (MFN2) gene tended to be higher. Compared with the control group, an increase in the expression level of the NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (MT-ND4) gene was recorded in the liver of all the obese patients. The patients with obesity showed a decrease in the amount of mitochondrial DNA (mtDNA) compared with the control group.

Conclusion. Thus, sTNFSF14, interacting with IL-10 and gp130 / sIL-6Rb in the circulation, positively effects the liver in the obese patients without T2DM. A low level of sTNFSF14 in the blood plasma of the obese patients with T2DM results in decreased mitochondrial division and increased cellular respiration.

Key words: obesity, type 2 diabetes mellitus, sTNFSF14, IL-6, gp130 / sIL-6Rb, sIL-6Ra.

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 research was supported by the Russian Foundation for Basic Research and Kaliningrad regional government (No. 19-415-393004-r_mol_a, 19-44-390005-r_a); the study was carried out as part of the state assignment in the field of scientific activity (No. FZWM-2020-0010) under the state support of the leading scientific schools of the Russian Federation (No. 2495.2020.7).

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 IKBFU (Protocol No. 2 of 06.03.2017).

For citation: Komar A.A., Skuratovskaia D.A., Vulf M.A., Vu H.Q., Darinskas A., Gazatova N.D., Todosenko N.M., Zatolokin P.A., Kirienkova E.V., Litvinova L.S. The role of sTNFSF14 in the liver mitochondrial dynamics in obese patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 62–71. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-62-71>.

ВВЕДЕНИЕ

Ожирение – многофакторное заболевание, от которого страдает более 1/3 населения по всему миру [1]. Ожирение значительно увеличивает риск развития хронических заболеваний, таких как сахарный диабет (СД) 2-го типа, сердечно-сосудистые заболевания (атеросклероз, гипертония), неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), некоторые виды рака [1]. Осложнения при ожирении нередко приводят к инвалидизации и смерти. Так, в 2017 г. 8% смертей в мире было связано с ожирением [1]. НАЖБП является одним из самых распространенных осложнений, формирующихся при ожирении, и занимает лидирующую позицию в гепатологии [2, 3].

Изменения функций и структуры митохондрий являются отличительной чертой при формировании НАЖБП. Гиперактивный цикл трикарбоновых кислот способствует созданию излишней нагрузки на электрон-транспортную цепь в митохондриях гепатоцитов и, таким образом, приводит к интенсификации продукции активных форм кислорода (АФК) [4]. На экспериментальных моделях НАЖБП (с дефицитом холина) было показано, что на ранних этапах развития заболевания включаются компенсаторные механизмы с участием митохондрий, но со временем резервы истощаются [5]. Несмотря на актуальность проблематики и большое количество работ, касающихся изучения этиологических факторов и аспектов патогенеза НАЖБП, в современной литературе сведения о факторах, играющих протекторную роль в развитии стеатоза и воспаления в печени при ожирении, носит крайне ограниченный характер.

Член суперсемейства фактора некроза опухоли (TNFSF) 14, также известный как LIGHT, обладает положительным эффектом при терапии различных заболеваний [6, 7]. В частности, высокий уровень sTNFSF14 в циркуляции способствует формированию противоопухолевого иммунитета при раке толстой кишки [6] и печени [7].

В настоящее время активно обсуждается роль TNFSF14 в развитии компонентов метаболического синдрома. Исследования J. Bassols и соавт. (2010) продемонстрировали более высокий уровень TNFSF14 в плазме крови у пациентов с ожирением в сравнении со здоровыми донорами [8].

У мышей с нокдауном гена *Tnfsf14* $-/-$, в условиях диеты с высоким содержанием жиров, развивается ожирение, непереносимость глюкозы, нарушение чувствительности к инсулину [9]. Кроме того, дефицит TNFSF14 у экспериментальных животных приводил к дизрегуляции митохондриального дыхания в печени, способствуя увеличению потребления кис-

лорода для дыхательной цепи переноса электронов в митохондриях [9]. Учитывая тот факт, что митохондрии играют важную роль в развитии НАЖБП при ожирении [4], изменение митохондриальной динамики (деление и слияние) и их биогенеза могут вносить существенный вклад в прогрессирование стеатоза при ожирении.

Таким образом, целью исследования явилось определение роли растворимой формы sTNFSF14 в регуляции биогенеза митохондрий в печени у больных ожирением с СД 2-го типа и без него.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Группу исследования составили 263 пациента с ожирением алиментарно-конституционального характера с абдоминальным типом локализации гиперτροφическим по морфологии. Из них 44 пациента с ожирением без СД 2-го типа с индексом массы тела (ИМТ) менее 40 кг/м² (группа 2) и 88 – с ожирением без СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м² (группа 3). К группам 4 и 5 относились больные ожирением с СД 2-го типа – 42 пациента с ИМТ < 40 кг/м² и 89 пациентов с ИМТ > 40 кг/м² соответственно (таблица).

Материалом для оценки плазменных факторов (TNFSF14/LIGHT, IL-6, gp130/sIL-6Rb, sIL6-Ra и IL-10) являлась кровь, полученная путем пункции локтевой вены, взятая утром натощак в вакуумные пробирки Vacuette (Greiner-bio-one, Австрия) с ЭДТА (BD Vacutainer, Россия). Материалом для исследования уровней экспрессии мРНК генов, подсчета абсолютного числа копий митохондриальной ДНК и исследования белковой продукции служили биоптаты печени в объеме 1,0 мл каждый, полученные в ходе выполнения плановых лапароскопических операций.

Согласно ранее опубликованным нами данным, по результатам гистологического анализа, у 72,7% больных ожирением без СД 2-го типа был диагностирован стеатоз; у больных ожирением с СД 2-го типа – в 93,3%. У больных без СД 2-го типа морфологические проявления стеатогепатита обнаружены в 63,6%, у больных с СД 2-го типа – в 86,6% [10].

Группу контроля (группа 1) составили 42 условно здоровых доноров с нормальными антропометрическими и биохимическими показателями. Основные клинические характеристики изучаемых групп представлены в таблице. Данные группы были сопоставимы по возрастным и гендерным характеристикам.

Количественное определение факторов – TNFSF14/LIGHT, IL-6, gp130/sIL-6Rb, sIL6-Ra и IL-10 в плазме крови было проведено методом проточной флуориметрии с использованием коммерческих тест-систем (Bio-Plex Pro Human Inflammation Panel 1, 37-Plex, Bio-Rad, США) на двухлучевом

лазерном автоматизированном анализаторе (Bio-Plex 200 Systems, Bio-Rad, США) и программы Bio-PlexManager (Bio-Rad, США).

Выделение тотальной РНК из биоптатов печени осуществлено с использованием реагента ExtractRNA (Евроген, Россия). Выделение митохондрий для анализа гена белка НАДН-убихинона оксидоредуктазы цепи 4 (*MT-ND4*) было проведено в буфере, содержа-

щем сахарозу, с последующим центрифугированием. Для определения уровня относительной экспрессии генов белка, подобного динамину 1 (*DRP1/DNM1L*), митофузина 2 (*MFN2*), *MT-ND4*, была проведена количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени (quantitative PCR) с использованием реагентов qPCRMix-HS (Евроген, Россия) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США).

Таблица

Основные клинические показатели исследуемых групп					
Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
Мужчины/женщины	17/25	11/33	18/70	18/24	21/68
Возраст, лет, $M \pm SD$	38,69 $\pm$ 7,57	41,59 $\pm$ 8,72	44,19 $\pm$ 9,11	45,1 $\pm$ 9,13	48,47 $\pm$ 8,17
ИМТ, кг/м ² , $M \pm SD$	23,11 $\pm$ 3,33	35,69 $\pm$ 2,62	48,38 $\pm$ 7,31	36,1 $\pm$ 2,73	49,53 $\pm$ 7,59

Выделение белковых молекул из биоптатов печени осуществлялось с использованием буфера RIPA (RIPA Buffer, ThermoFisher, США) с последующим измерением концентрации образца методом Бредфорда (BCA Protein Assay Kit, ThermoFisher, США). Для подтверждения результатов экспрессии генов был проведен полуколичественный анализ белковой продукции в биоптатах печени методом иммуноблоттинга. Полуколичественное измерение белков проведено с использованием специфических моноклональных антител DNM1L (Invitrogen, США), MFN2 (Invitrogen, США), GAPDH (Thermo Fisher, США) и систем для блоттинга (Mini-PROTEAN Tetra Systems, Trans-Blot Turbo, Bio-Rad, США). Детекция целевых белков осуществлялась на приборе ChemiDoc MP Imaging System (BioRad, США).

Для детального исследования процессов митохондриального биогенеза в образцах печени была проведена оценка абсолютного числа копий митохондриальной ДНК (мтДНК) методом цифровой капельной ПЦР (Droplet Digital PCR, ddPCR) с использованием системы QX200 Droplet Digital PCR System (BioRad, США).

Данные были проанализированы на предмет нормального распределения с использованием критерия Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении различия оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента (две группы, параметрический тест), при ненормальном распределении использовали критерий Манна – Уитни (две группы, непараметрический тест). Количественные переменные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$), медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_{25}-Q_{75})$. Анализ взаимосвязи двух величин проводили с использованием корреляционного метода Спирмена. Статистическая значимость была установлена на уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови. В группе больных ожирением без СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м² значения sLIGHT/TNFSF14 в плазме крови значительно превышали аналогичные параметры контроля и больных ожирением без СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² ($p = 0,0408$), больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² ($p = 0,0017$) и больных ожирением с СД 2-го типа ИМТ > 40 кг/м² ($p < 0,0001$). Уровень sLIGHT/TNFSF14 в плазме крови был ниже в группе пациентов с ожирением и СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м², чем в группе контроля ($p = 0,0003$) и группе больных ожирением без СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² ($p < 0,0001$) (рис. 1, а).

В группе больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м² уровень IL-10 в плазме крови был значительно выше аналогичных значений контроля ($p = 0,0002$) и ниже параметров больных ожирением без СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² ($p < 0,0001$) и ИМТ > 40 кг/м² ($p < 0,0001$). В группе больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² уровень IL-10 в плазме крови был значительно ниже в сравнении с группами больных ожирением без нарушений углеводного обмена с ИМТ < 40 кг/м² ($p = 0,0019$) и с ИМТ > 40 кг/м² ($p = 0,0003$). Содержание плазменного уровня IL-10 в обеих группах больных ожирением без СД 2-го типа значительно превышало аналогичные параметры контрольной группы ($p < 0,0001$) (рис. 1, б).

Во всех исследуемых группах значения плазменного уровня IL-6 были выше относительно группы контроля ($p < 0,05$). В группе больных ожирением с СД 2-го с ИМТ > 40 кг/м² уровень IL-6 в плазме крови значительно уменьшался относительно группы больных ожирением без нарушений углеводного обмена с ИМТ < 40 кг/м² ($p = 0,0416$) (рис. 1, в).

Значения gp130/sIL-6Rb в плазме крови во всех исследуемых группах значительно отличались от группы контроля. Так, в обеих группах больных ожирением без СД 2-го типа уровень gp130/sIL-6Rb в плазме крови был значительно выше относительно группы контроля ($p = 0,0079$ и $p < 0,0001$). Напротив, в обеих группах больных ожирением с СД 2-го типа значения плазменного gp130/sIL-6Rb были ниже относительно группы контроля ($p < 0,0001$) (рис. 1, d).

Были найдены различия в уровне gp130/sIL-6Rb в плазме крови между исследуемыми группами с и без СД 2-го типа. Уровень плазменного gp130/sIL-6Rb значительно уменьшался в группе больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² относительно групп больных ожирением без СД 2-го типа ($p < 0,0001$); аналогичные отличия были обнаружены с группой больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м²

в сравнении с группами больных ожирением без СД 2-го типа ($p < 0,0001$) (рис. 1, d).

В группах больных ожирением без СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² и ИМТ > 40 кг/м² плазменный уровень sIL-6Ra превышал аналогичные значения в группе контроля ($p = 0,0026$ и $0,0002$ соответственно). Однако в группе больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м² значения sIL-6Ra в плазме крови были ниже в сравнении с группой контроля ($p = 0,0024$) и обеими группами больных с ожирением без СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² ($p < 0,0001$) и с ИМТ > 40 кг/м² ($p < 0,0001$). У больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² значения плазменного sIL-6Ra были значительно ниже относительно групп больных ожирением без СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м² ($p = 0,0005$) и с ИМТ > 40 кг/м² ($p < 0,0001$) (рис. 1, e).

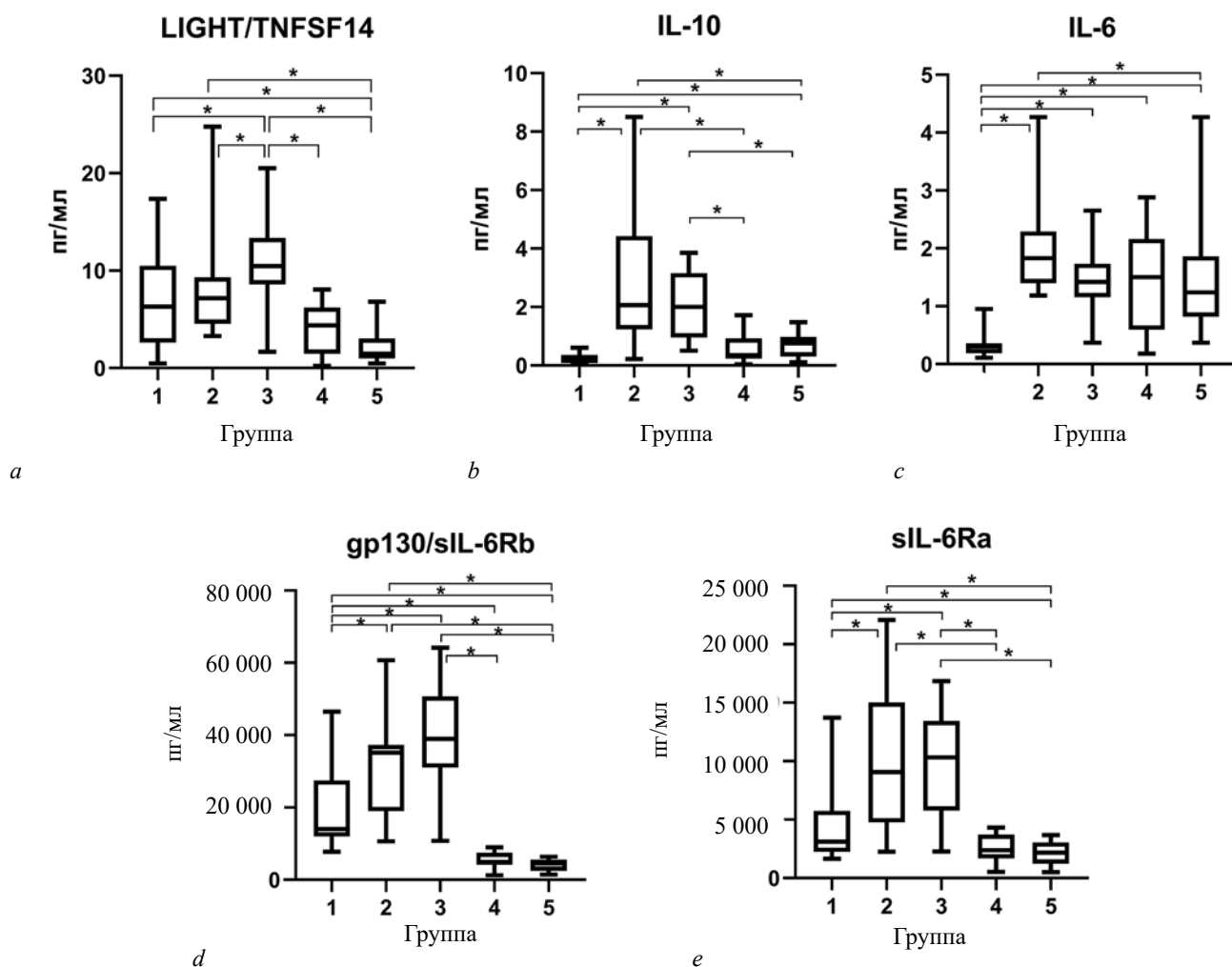


Рис. 1. Изменения уровня про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови. 1 – группа контроля; группа больных ожирением: 2 – без СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м²; 3 – без СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м²; 4 – с СД 2-го типа с ИМТ < 40 кг/м²; 5 – с СД 2-го типа с ИМТ > 40 кг/м². Уровень в плазме крови: а – sLIGHT/TNFSF14; б – IL-6; в – gp130/sIL-6Rb; д – sIL-6Ra; е – IL-10. Здесь и на рис. 2: * значимые различия между группами ($p < 0,05$)

Продукция компонентов митохондриальной динамики и биогенеза митохондрий в биоптатах печени. В группе больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ $> 40 \text{ кг/м}^2$ было выявлено снижение уровня экспрессии *DRP1* в печени по сравнению с контролем ($p = 0,04$) (рис. 2, а). Измерение относительного количества окрашивания белка DNM1L с помощью денситометрии в группе контроля составило 0,47 у.е.; в группе больных ожирением без СД 2-го типа – 0,2, в группе больных ожирением с СД 2-го типа – 0,14 у.е.

Различий в уровне экспрессии гена *MFN2* в биоптатах печени между группами найдено не было. Несмотря на отсутствие значимой разницы регистрировалась тенденция к повышению экспрессии гена *MFN2* в биоптатах печени в группах больных ожирением с и

без СД 2-го типа с ИМТ $< 40 \text{ кг/м}^2$ относительно контроля (рис. 2, с). Измерение относительного количества окрашивания белка MFN2 в контрольной группе составило 0,18 у.е.; в группе больных ожирением без СД 2-го типа – 0,23 у.е.; в группе больных ожирением с СД 2-го типа – 0,35 у.е. (рис. 2, d).

Уровень экспрессии гена *MT-ND4* в биоптатах печени во всех группах значимо превышал аналогичные параметры контроля относительно контроля ($p = 0,0094$; $p < 0,0001$; $p = 0,0001$; $p = 0,0023$), (рис. 2, e). Количество мтДНК в биоптатах печени в группе больных ожирением без нарушений углеводного обмена с ИМТ $> 40 \text{ кг/м}^2$ было значимо ниже по сравнению с группой контроля и группами больных ожирением с СД 2-го типа с ИМТ $< 40 \text{ кг/м}^2$ ($p = 0,0045$) и с ИМТ $> 40 \text{ кг/м}^2$ ($p = 0,0007$) (рис. 2, f).

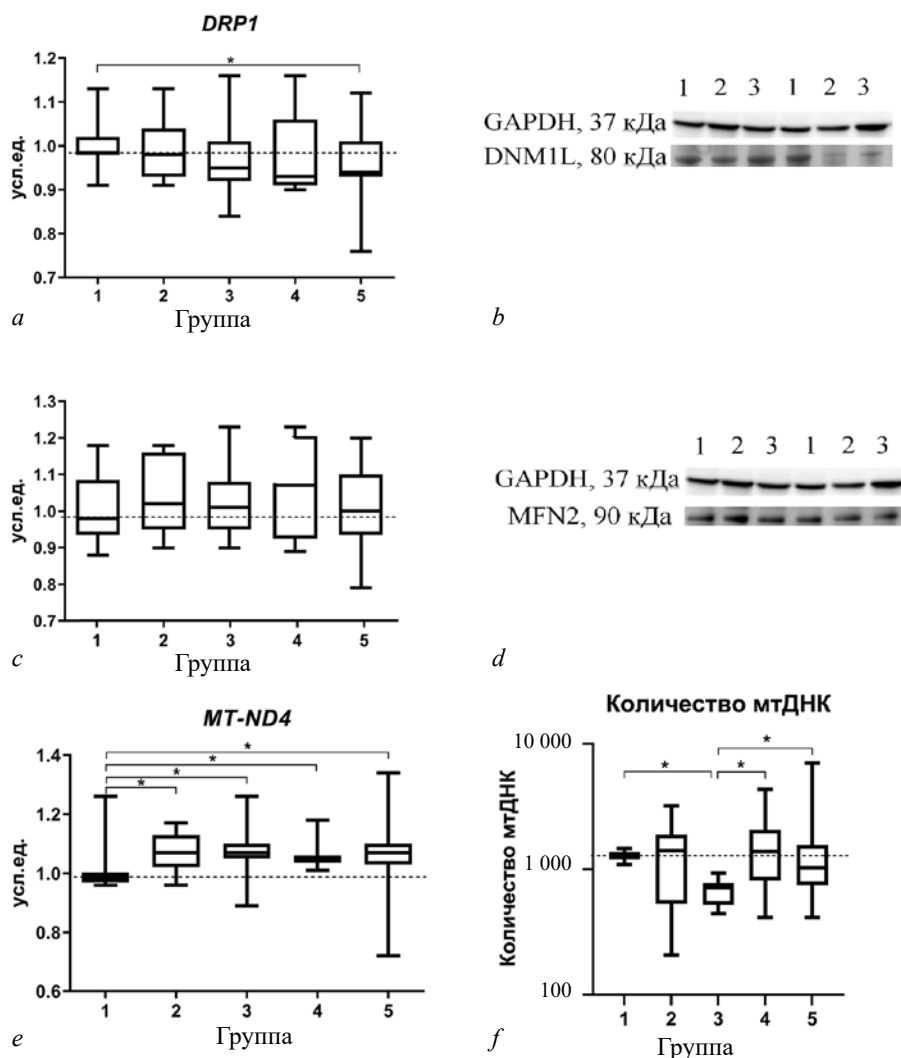


Рис. 2. Изменения уровней экспрессии генов и соответствующих белков динамики и биоэнергетики митохондрий в печени: а – уровень экспрессии гена *DRP1*; б – изображение хемилюминисценции белка DNM1L относительно референсного белка GAPDH; с – уровень экспрессии гена *MFN2*; д – белок MFN2; е – уровень экспрессии гена *MT-ND4*; ф – количество митохондриальной ДНК. а, с, е, ф: 1 – группа контроля; группа больных ожирением: 2 – без СД 2-го типа с ИМТ $< 40 \text{ кг/м}^2$; 3 – без СД 2-го типа с ИМТ $> 40 \text{ кг/м}^2$; 4 – с СД 2-го типа с ИМТ $< 40 \text{ кг/м}^2$; 5 – с СД 2-го типа с ИМТ $> 40 \text{ кг/м}^2$; б, д: 1 – группа контроля; группа больных ожирением: 2 – без СД 2-го типа; 3 – с СД 2-го типа

ОБСУЖДЕНИЕ

При ожирении в печень поступает избыточное количество триглицеридов, в результате чего развивается стеатоз [11]. Прогрессированию последнего способствует увеличение секреции провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1 α и β) иммунными клетками [12]. Попадая в воротную вену печени, провоспалительные цитокины способны усугублять уже имеющийся высокий уровень АФК в гепатоцитах [4]. Повышенный процесс β -окисления в митохондриях приводит к накоплению токсичных липидных интермедиаторов (керамидов и диацилглицерола) [4].

В совокупности эти токсины и высокий уровень АФК запускают продукцию провоспалительных цитокинов иммунными клетками печени [4, 12]. Хроническое воспаление печени усугубляет прогрессирование НАЖБП до фиброза и цирроза [4]. В связи с этим большую актуальность приобретает поиск протекторных молекул, действие которых направлено на снижение воспаления в печени и предотвращение осложнений стеатоза.

Как уже упоминалось ранее, в патогенез ожирения и инсулинорезистентности вовлечен ряд секретруемых факторов [4, 11, 12], одним из которых является LIGHT/TNFSF14. Полученные нами данные, свидетельствующие о повышении плазменного уровня sTNFSF14 у всех пациентов с ожирением без СД 2-го типа относительно значений условно здоровых доноров и пациентов с ожирением и СД 2-го типа, согласуются с другими исследованиями [8].

Однако однозначная причина повышения уровня sLIGHT/TNFSF14 при ожирении не выяснена. Известно, что TNFSF14 продуцируется многими иммунными клетками, включая покоящиеся и активированные Т-, В-клетки, моноциты и макрофаги [13]. TNFSF14 передает сигнал через рецепторы – лимфотоксин- β (LT β R) и медиатор проникновения вируса герпеса (HVEM). Последний высоко экспрессируется в висцеральной жировой ткани и наряду с LT β R – в β -клетках поджелудочной железы [13].

В исследовании G. Tiller и соавт. (2011), проведенном на линиях клеток преадипоцитов 3T3-L1 и первичных преадипоцитах человека, показано, что LIGHT/TNFSF14 препятствует дифференцировке преадипоцитов мышей и человека в адипоциты без изменения их метаболических функций [14]. Существуют предположения, что sTNFSF14 потенциально может вносить определенный вклад в патогенез осложнений при ожирении.

Ранее было показано, что эффекты sTNFSF14 могут быть опосредованы его взаимодействием с другими цитокинами, в частности IL-6 и IL-10. Выявлено,

что IL-10 способствует подавлению воспаления, ингибируя синтез и действие провоспалительных цитокинов, в том числе TNF α , IL-1 β и IL-6, а также снижая активацию макрофагов [15]. В.М. Saunders и соавт. (2018) показали, что в печени мышей с нокдауном *Tnfsf14* $-/-$, получавших диету с высоким содержанием жиров, развивалась инсулинорезистентность и резко увеличивалась продукция IL-10, в сравнении с мышами дикого типа [9]. Такое увеличение медиатора авторы связали с компенсаторным механизмом, направленным на уменьшение воспаления в ткани печени.

В подтверждение вышесказанному нами было обнаружено значимое увеличение плазменного IL-10 у больных с ожирением без СД 2-го типа и, напротив, значительное его уменьшение у больных ожирением с СД 2-го типа (см. рис. 1, b). Кроме того, нами была выявлена положительная взаимосвязь sTNFSF14 и IL-10 у больных ожирением без и с СД 2-го типа ($r = 0,43$ и $0,4$ соответственно). Вероятно, снижение TNFSF14 и IL-10 в плазме крови у больных ожирением с СД 2-го типа играет критическую роль в прогрессировании осложнений при ожирении.

Цитокины семейства IL-6 регулируют процессы повреждения/регенерации печени, поддерживают баланс между регуляторными и эффекторными Т-клетками [16]. IL-6, один из основных игроков хронического субклинического воспаления, способствует формированию резистентности к инсулину и ухудшает гомеостаз глюкозы [16]. Так, в нашем исследовании выявлено увеличение IL-6 в плазме крови у всех пациентов с ожирением в сравнении с группой условно здоровых доноров. В группе пациентов с ожирением и СД 2-го типа нами найдена положительная взаимосвязь между IL-6 и sTNFSF14 ($r = 0,43$).

Известно, что IL-6 на поверхности клетки связывается с рецепторным комплексом, который содержит две субъединицы сигнального рецептора gp130 [17]. Нами выявлено значимое повышение содержания sIL-6Ra и gp130/sIL-6Rb в плазме крови пациентов с ожирением без СД 2-го типа в сравнении с группой контроля и пациентами с ожирением с СД 2-го типа.

Основными источниками sIL-6R являются гепатоциты и иммунные клетки [16]. IL-6, связываясь с IL-6R или sIL-6R, инициирует последующую сигнализацию через взаимодействие с gp130 [17]. Комплекс IL-6/sIL-6R действует как агонист gp130-опосредованной передачи сигналов IL-6 и называется транспередачей сигналов [17]. Данный тип передачи сигнала расширяет спектр потенциальных мишеней IL-6 практически для любого типа клеток из-за повсеместной экспрессии gp130. Однако gp130 тоже может быть в растворимой форме, из-за этого про-

исходит ингибирование транспердачи сигнала IL-6, одновременно не влияя на классический тип передачи [17]. Растворимый gp130 (sgp130) обнаруживается в кровотоке здоровых людей, сдерживая системный ответ на циркулирующий IL-6 [17]. IL-6R может иметь растворимую форму sIL-6Ra и образовывать комплекс с IL-6.

Такой комплекс IL-6 с sIL-6Ra реализует эффекты по трансигналингу, связываясь с поверхностными рецепторами gp130 [15, 16]. Так, gp130 активирует пути yes-ассоциированного белка 1 (YAP) и Notch и контролирует рост и регенерацию ткани независимо от эффективного белка преобразователя сигналов и активатора транскрипции 3 (STAT3) [18]. Обнаруженная нами положительная взаимосвязь между sIL-6Ra и gp130/sIL-6Rb в группах больных ожирением без СД 2-го типа ($r = 0,88$) и с СД 2-го типа ($r = 0,94$) может указывать на протекторную роль этих рецепторов в отношении осложнений при ожирении. Плазменное содержание sTNFSF14 в обеих группах пациентов с ожирением с СД 2-го типа и без него, независимо от ИМТ, положительно коррелировало с sIL-6Ra ($r = 0,34$ и $0,43$ соответственно) и с gp130/sIL-6Rb ($r = 0,37$ и $0,44$ соответственно). Стоит отметить, что в группе больных ожирением и СД 2-го типа была найдена положительная корреляционная взаимосвязь gp130/sIL-6Rb и IL-10 ($r = 0,3$).

Некоторые исследования продемонстрировали, что TNFSF14 непосредственно индуцирует IL-6 [16], что подтверждает предположение о регуляции продукции IL-6 посредством TNFSF14. Так, мыши с нокдауном *Tnfsf14* -/- имели низкий уровень продукции IL-6 в печени по сравнению с мышами дикого типа [9]. Исходя из вышесказанного, можно предположить, что снижение продукции sTNFSF14 и IL-6 может быть одним из ключевых факторов, участвующих в прогрессировании НАЖБП при ожирении.

Митохондрии в печени контролируют энергетический метаболизм посредством синтеза АТФ и окисления жирных кислот [4]. Ранее было показано, что инсулинорезистентность связана с нарушением функций митохондрий в печени [4]. Так, дефицит TNFSF14 у мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров, способствовал значительному увеличению потребления кислорода в печени с использованием субстратов для комплекса I, II и III по сравнению с мышами дикого типа [9].

Проведенное нами исследование митохондриальной динамики в печени при ожирении, в зависимости от отсутствия/наличия СД 2-го типа, позволило выявить следующие закономерности. Так, экспрессия гена *DRP1*, ответственного за деление митохондрий, была значимо ниже у больных ожирением с

СД 2-го типа по сравнению с контрольной группой. Что касается гена *MFN2*, ответственного за слияние митохондрий, различий между группами найдено не было, однако выявлена тенденция к увеличению данного показателя у больных ожирением с СД 2-го типа относительно контрольной группы. Это согласуется с данными количественного определения мтДНК: уменьшение (относительно контроля) количества мтДНК в печени у больных ожирением с СД 2-го типа и без него с ИМТ < 40 кг/м². Однако такое увеличение количества мтДНК приводит к интенсификации процессов дыхания в митохондриях гепатоцитов, а значит, к росту продукции АФК.

В подтверждение вышесказанному в биоптатах печени, полученных у больных ожирением с СД 2-го типа и без него, нами обнаружен более высокий (относительно контроля) уровень экспрессии гена *MT-ND4*, кодирующего субъединицу комплекса I дыхательной цепи, необходимой для окислительного фосфорилирования. Комплекс I отвечает за первый этап процесса переноса электронов от НАДН к убихинону. Затем электроны передаются от убихинона через II, III и IV комплексы для обеспечения энергии во время синтеза АТФ. Была найдена отрицательная взаимосвязь между уровнем sTNFSF14 в плазме крови и экспрессией гена *MT-ND4* ($r = -0,3$) в печени у больных ожирением без СД 2-го типа. Таким образом, уровень sTNFSF14 в плазме крови может оказывать влияние на биогенез митохондрий в печени, через взаимодействие с генами деления (*DRP1*), слияния (*MFN2*) и митохондриального дыхания печени (*MT-ND4*).

Выводы

Таким образом, учитывая вышеизложенное, можно сделать следующие выводы:

1. Высокое содержание sTNFSF14 в плазме крови у больных ожирением без СД 2-го типа (по сравнению с контролем и больными ожирением с СД 2-го типа) оказывает протекторное действие на печень через взаимодействие gp130/sIL-6Rb и IL-10.

2. Однонаправленное снижение уровня sTNFSF14 и IL-6 в плазме крови больных ожирением с СД 2-го типа является одним из ключевых факторов, участвующих в прогрессировании НАЖБП при ожирении.

3. У больных ожирением с СД 2-го типа пониженный (по сравнению с контролем и больными ожирением без СД 2-го типа) уровень sTNFSF14 в плазме крови опосредует снижение экспрессии гена *DRP1* в печени и, напротив, увеличение экспрессии гена *MT-ND4*, что приводит к уменьшению деления митохондрий и компенсаторному увеличению митохондриального дыхания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hruby A., Hu F.B. The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*. 2015; 33 (7): 673–689. DOI: 10.1007/s40273-014-0243-x.
2. Byrne C.D., Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J. Hepatol.* 2015; 62 (Suppl. 1): S47–64. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.12.012.
3. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., Маев И.В., Трухманов А.С., Блинов Д.В., Пальгова Л.К., Цуканов В.В., Ушакова Т.И. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени у пациентов амбулаторно-поликлинической практики в Российской Федерации: результаты исследования DIREG 2. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2015; 25 (6): 31–41.
4. Simões I.C.M., Fontes A., Pinton P., Zischka H., Wiekowski M.R. Mitochondria in non-alcoholic fatty liver disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2018; 95: 93–99. DOI: 10.1016/j.biocel.2017.12.019.
5. Ikawa-Yoshida A., Matsuo S., Kato A., Ohmori Y., Higashida A., Kaneko E., Matsumoto M. Hepatocellular carcinoma in a mouse model fed a choline-deficient, L-amino acid-defined, high-fat diet. *Int. J. Exp. Pathol.* 2017; 98 (4): 221–233. DOI: 10.1111/iep.12240.
6. Qiao G., Qin J., Kunda N., Calata J.F., Mahmud D.L., Gann P., Fu Y.X., Rosenberg S.A., Prabhakar B.S., Maker A.V. LIGHT Elevation enhances immune eradication of colon cancer metastases. *Cancer Res.* 2017; 77 (8): 1880–1891. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1655.
7. Zhang H., Chen X., Li D., Cui L., Li X., Ye X., Wan X. DcR3 promotes hepatoma cell migration by downregulating E-cadherin expression. *Oncol. Rep.* 2017; 38 (1): 377–383. DOI: 10.3892/or.2017.5685.
8. Bassols J., Moreno-Navarrete J.M., Ortega F., Ricart W., Fernandez-Real J.M. LIGHT is associated with hypertriglyceridemia in obese subjects and increased cytokine secretion from cultured human adipocytes. *Int. J. Obes.* 2010; 34 (1): 146–156. DOI: 10.1038/ijo.2009.199.
9. Saunders B.M., Rudnicka C., Filipovska A., Davies S., Ward N., Hricova J., Schlaich M.P., Matthews V.B. Shining LIGHT on the metabolic role of the cytokine TNFSF14 and the implications on hepatic IL-6 production. *Immunol. Cell Biol.* 2018; 96 (1): 41–53. DOI: 10.1111/imcb.1002.
10. Вульф М.А., Кириенкова Е.В., Скуратовская Д.А., Левада Е.В., Волкова Л.В., Затолокин П.А., Газатова Н.Д., Литвинова Л.С. Факторы, способствующие развитию неалкогольной жировой болезни печени и инсулинорезистентности при ожирении. *Биомедицинская химия*. 2018; 64 (5): 444–450. DOI: 10.18097/PBMC20186405444.
11. Kaila B., Raman M. Obesity: a review of pathogenesis and management strategies. *Can. J. Gastroenterol.* 2008; 22 (1): 61–68. DOI: 10.1155/2008/609039.
12. Tzanavari T., Giannogonas P., Karalis K.P. TNF-alpha and obesity. *Curr. Dir. Autoimmun.* 2010; 11: 145–156. DOI: 10.1159/000289203.
13. Kwon B.S., Tan K.B., Ni J., Oh K.O., Lee Z.H., Kim K.K., Kim Y.J., Wang S., Gentz R., Yu G.L., Harrop J., Lyn S.D., Silverman C., Porter T.G., Trunch A., Young P.R. A newly identified member of the tumor necrosis factor receptor superfamily with a wide tissue distribution and involvement in lymphocyte activation. *J. Biol. Chem.* 1997; 272 (22): 14272–14276. DOI: 10.1074/jbc.272.22.14272.
14. Tiller G., Laumen H., Fischer-Posovszky P., Finck A., Skurk T., Keuper M., Brinkmann U., Wabitsch M., Link D., Hauner H. LIGHT (TNFSF14) inhibits adipose differentiation without affecting adipocyte metabolism. *Int. J. Obes.* 2011; 35 (2): 208–216. DOI: 10.1038/ijo.2010.126.
15. de Waal Malefyt R., Abrams J., Bennett B., Figdor C.G., de Vries J.E. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J. Exp. Med.* 1991; 174 (5): 1209–1220. DOI: 10.1084/jem.174.5.1209.
16. Rose-John S. Interleukin-6 Family Cytokines. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2018; 10 (2): a028415. DOI: 10.1101/cshperspect.a028415.
17. Reeh H., Rudolph N., Billing U., Christen H., Streif S., Bullinger E., Findeisen R., Schaper F., Huber H.J., Ditttrich A. Response to IL-6 trans- and IL-6 classic signalling is determined by the ratio of the IL-6 receptor α to gp130 expression: fusing experimental insights and dynamic modelling. *Cell Commun. Signal.* 2019; 17 (1): 46. DOI: 10.1186/s12964-019-0356-0.
18. Garbers C., Aparicio-Siegmund S., Rose-John S. The IL-6/gp130/STAT3 signaling axis: recent advances towards specific inhibition. *Curr Opin. Immunol.* 2015; 34: 75–82. DOI: 10.1016/j.coi.2015.02.008.

Вклад авторов

Комар А.А., Даринская А. – анализ и интерпретация данных, разработка концепции и дизайна. Скуратовская Д.А., Вульф М.А., Газатова Н.Д. – обоснование рукописи, анализ и интерпретация данных. Тодосенко Н.М., Ву Х.К. – анализ данных. Затолокин П.А. – предоставление материалов для исследования. Кириенкова Е.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Литвинова Л.С. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Комар Александра Андреевна, аспирант, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0002-1922-3592.

Скуратовская Дарья Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0002-8679-1135.

Вульф Мария Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0002-4989-045X.

Ву Хунг Куанг, аспирант, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0002-4067-4718.

Даринскас Адамас, д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория иммунологии, отдел тонкой хирургии, Институт онкологии, Вильнюсский университет, г. Вильнюс. ORCID 0000-0002-1916-7535.

Газатова Наталья Динисламовна, канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальных препаратов крови, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID i0000-0002-4646-3436.

Тодосенко Наталья Михайловна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0001-7468-4861.

Затолюкин Павел Анатольевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0002-8631-7361.

Кириенкова Елена Витальевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0002-5980-3321.

Литвинова Лариса Сергеевна, д-р мед. наук, директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград. ORCID 0000-0001-5231-6910.

(✉) **Комар Александра Андреевна**, e-mail: alexandkomar@gmail.com

Поступила в редакцию 10.02.2021

Подписана в печать 25.05.2021

Маркеры фиброза и эхокардиографические параметры у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа в зависимости от уровня альбуминурии

Лебедев Д.А., Лаевская М.Ю., Бабенко А.Ю.

Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова
Россия, 194156, г. Санкт-Петербург, пр. Пархоменко, 15

РЕЗЮМЕ

Введение. Наличие диабетической нефропатии (ДН) у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД2) ассоциировано с риском развития хронической сердечной недостаточности (ХСН). Степень альбуминурии является маркером прогрессирования ДН и связана с повышенным риском ХСН.

Цель. Оценка биомаркеров фиброза и эхокардиографических параметров у пациентов с СД2 без ХСН в зависимости от экскреции альбумина с мочой.

Материалы и методы. В исследование были включены 42 пациентов с СД2 без установленного диагноза ХСН. Пациенты были разделены на группы: с нормальной альбуминурией и с умеренным повышением альбуминурии (альбумин/креатининовое соотношение 30–300 мг/г). Пациентам была выполнена эхокардиография, определялась концентрация галектина-3, ST-2, P1CP, MMP-9 и TIMP-1.

Результаты. Группы не различались между собой по возрасту, полу, индексу массы тела (ИМТ), значениям гликированного гемоглобина (HbA1c), скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Концентрации галектина-3 были значимо выше в группе с умеренным повышением альбуминурии – 13,6 (11,2; 15,1) нг/мл и 7,4 (6,7; 7,9) нг/мл соответственно, $p = 0,002$. Группы также не различались между собой по значениям таких биомаркеров, как P1CP, TIMP-1 и MMP-9. Кроме того, группа с нормоальбуминурией имела меньшие значения E/e' , чем группа с умеренным повышением альбуминурии – 8 (7; 9) и 10 (9; 12,5), $p = 0,02$.

Заключение. Пациенты с СД2 и умеренным повышением альбуминурии имеют большие значения галектина-3 и более выраженное нарушение диастолической функции сердца, чем пациенты с нормоальбуминурией. Выявленные изменения могут отражать более высокий риск развития хронической сердечной недостаточности в данной группе пациентов.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, хроническая сердечная недостаточность, альбуминурия, фиброз, галектин-3.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 17–75–30052 «Разработка персонализированной терапии ожирения и сахарного диабета 2-го типа в целях снижения сердечно-сосудистых рисков»).

Соответствие принципам этики. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова (протокол № 020419 от 08.04.2019).

Для цитирования: Лебедев Д.А., Лаевская М.Ю., Бабенко А.Ю. Маркеры фиброза и эхокардиографические параметры у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа в зависимости от уровня альбуминурии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 72–78. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-72-78>.

Fibrosis biomarkers and echocardiographic parameters in patients with type 2 diabetes depending on the degree of albuminuria

Lebedev D.A., Laevskaya M.Yu., Babenko A.Yu.

Almazov National Medical Research Center
15, Parkhomenko Str., 194156, Saint Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Diabetic nephropathy (DN) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) is associated with a risk of developing chronic heart failure (CHF). The degree of albuminuria is a marker of DN and is associated with an increased risk of chronic heart failure (CHF).

Aim. To evaluate fibrosis biomarkers and echocardiographic parameters in patients with T2DM without CHF, depending on urinary albumin excretion.

Materials and methods. The study included 42 patients with T2DM without verified CHF. The patients were divided into two groups: 1) a group with normoalbuminuria and 2) a group with a moderate increase in albuminuria (albumin / creatinine ratio of 30–300 mg / g). Echocardiography was performed and galectin-3, ST-2, PICP, MMP-9, and TIMP-1 concentrations were measured.

Results. The groups did not differ by age, sex, body mass index (BMI), glycated hemoglobin (HbA1c), and glomerular filtration rate (GFR). Galectin-3 concentrations were significantly higher in the group with a moderate increase in albuminuria than in the group of patients without albuminuria – 13.6 (11.2; 15.1) ng / ml and 7.4 (6.7; 7.9) ng / ml, respectively, $p = 0.002$. The groups also did not differ in the values of biomarkers, such as PICP, TIMP-1, and MMP-9. Besides, the group with normoalbuminuria had lower E/e' values than the group with a moderate increase in albuminuria – 8 (7; 9) and 10 (9; 12.5), $p = 0.02$.

Conclusion. The patients with type 2 diabetes and a moderate increase in albuminuria have higher values of galectin-3 and a more pronounced diastolic dysfunction. The identified changes may reflect a higher risk of chronic heart failure in this group of patients.

Key words: type 2 diabetes mellitus, chronic heart failure, albuminuria, fibrosis, galectin-3.

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 financed by the Russian Science Foundation grant No. 17–75–30052 “Development of personalized therapy for obesity and type 2 diabetes mellitus in order to decrease cardiovascular risks”.

Conformity with the principles of ethics. All the participants signed an informed consent to take part in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Almazov National Medical Research Center (Protocol No. 020419 of 08.04.2019).

For citation: Lebedev D.A., Laevskaya M.Yu., Babenko A.Yu. Fibrosis biomarkers and echocardiographic parameters in patients with type 2 diabetes depending on the degree of albuminuria. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 72–78. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-72-78>.

ВВЕДЕНИЕ

Заболеваемость сахарным диабетом 2-го типа (СД2) увеличивается во всем мире [1]. Растет также и количество пациентов, имеющих микрососудистые осложнения СД2, в том числе диабетическую нефропатию (ДН), которая является одной из основных причин терминальной почечной недостаточности (ТПН) у пациентов с СД2 [2]. Для ДН характерно не

только снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), но и развитие альбуминурии, которое может наблюдаться даже при сохранной СКФ. У пациентов с СД2 и альбуминурией выше риск хронической сердечной недостаточности (ХСН) по сравнению с пациентами с нормальной экскрецией альбумина [3]. Наличие СД2 ассоциировано с развитием структурных и функциональных изменений сердца, включая увеличение массы левого желудочка (ЛЖ), концен-

трическое ремоделирование ЛЖ и развитие диастолической дисфункции [3].

ХСН при СД2 имеет общие патогенетические механизмы с ДН, заключающиеся в развитии системного воспаления низкой интенсивности и акселерации процессов фиброза. В последнее время был открыт ряд биомаркеров, вовлеченных в данные процессы. Среди таких биомаркеров можно выделить галектин-3, ST-2, С-терминальные фрагменты проколлагена I типа (PICP), а также матриксные металлопротеиназы (ММР) и их тканевые ингибиторы (TIMP) [4–7]. Целью данного исследования явилась оценка биомаркеров фиброза и эхокардиографических параметров у пациентов с СД2 без ХСН в зависимости от экскреции альбумина с мочой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

До проведения всех процедур исследования пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании. В исследование были включены 42 пациента с СД2 без установленного диагноза ХСН, получавших стабильную сахароснижающую и антигипертензивную терапию в течение 3 мес до включения в исследование. Для исключения диагноза хронической сердечной недостаточности анализировалась медицинская документация включенных пациентов, а также проводился осмотр кардиолога. Критерии включения: женщины или мужчины в возрасте 40–75 лет с СД2, длительность СД2 больше 1 года, гликированный гемоглобин (HbA1c) 7,0–11,0%, стабильная сахароснижающая терапия, по крайней мере, в течение 12 нед до включения в исследование, терапия ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) или антагонистами рецепторов ангиотензина II (АРАП), длительность артериальной гипертензии (АГ) больше 1 года.

В исследование не включались пациенты с хронической болезнью почек недиабетического генеза, снижением СКФ <60 мл/мин/1,73 м², альбумин/креатининовым соотношением (АКС) в разовой порции мочи >300 мг/г, значимой кардиоваскулярной патологией (гемодинамически значимые заболевания клапанов, ишемическая болезнь сердца, врожденные пороки сердца) и патологией печени, артериальной гипертензией с цифрами артериального давления (АД) $>140/90$ мм рт. ст., ожирением III степени. Пациенты были разделены в соответствии с АКС на группы: с нормальной альбуминурией (АКС <30 мг/г; $n = 24$) и с умеренным повышением альбуминурии (АКС = 30–300 мг/г; $n = 18$). В ходе исследования регистрировались подробные клинические данные исследуемой популяции: возраст, пол, продолжительность СД, АД, масса тела, рост с рас-

четом индекса массы тела (ИМТ). Пациентам выполнялась трансторакальная эхокардиография на аппарате Vivid 7 (GE, США) с использованием датчика 3,25 МГц в М-модальном и двухмерном режимах в стандартных эхокардиографических позициях.

Оценивались такие параметры, как фракция выброса по Симпсону (ФВ), конечно-диастолический объем левого желудочка (КДО), конечно-систолический объем левого желудочка (КСО), индекс массы миокарда левого желудочка (ИММ ЛЖ). Анализировалось отношение пиковых скоростей раннего трансмитрального кровотока и раннего диастолического движения митрального кольца (E/e') как показателя, отражающего наличие диастолической дисфункции. Образцы венозной крови и мочи собирались натощак. Для образцов венозной крови на биомаркеры использовались пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой. Проводилась оценка концентрации гликированного гемоглобина (HbA1c), С-реактивного белка (СРБ), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов (ТГ), креатинина с расчетом СКФ по формуле СКД-EPI. В образце мочи определялось АКС. HbA1c измерялся методом афинной хроматографии (Bio-Rad, США), норма – менее 6%; биохимические показатели (креатинин: норма – 53–106 мкмоль/л), липидный спектр (ЛПНП: норма – менее 3,0 ммоль/л, ЛПВП: норма – более 1,2 ммоль/л, ТГ: норма – менее 1,77 ммоль/л, СРБ: норма – менее 5,0 мг/л) – с использованием реактивов и анализатора Cobas Integra 400 plus (Roche, Франция). Иммуноферментным методом определялись галектин-3, ММР-9, TIMP-1, ST-2 с использованием реактивов R&D System (США), PICP – с помощью реактивов Cloud-Clone Corporation. Для определения галектина-3, ST-2, PICP, ММР-9 и TIMP-1 образцы крови центрифугировали в течение 10 мин при 2 000g после периода ожидания 30 мин. Образцы плазмы затем хранили при -80 °С до момента проведения определения концентрации биомаркеров в течение 3 мес.

Для статистического анализа данных использовалось программное обеспечение SPSS (версия 21.0, IBM Corp., Нью-Йорк, США). Расчет размера выборки осуществлялся по формуле $n = [A+B]^2 \times 2 \times SD^2/DIFF^2$. В качестве основной переменной был выбран галектин-3, поскольку имеются данные о его изменении у пациентов с альбуминурией. Для выявления различий на 5%-м уровне значимости с 80%-й мощностью, принимая стандартное отклонение равным 1,5, потребовалось 16 человек в каждую группу. Сравнение количественных переменных между выборками проводилось с использованием критерия

Манна – Уитни. Для оценки связи между изучаемыми переменными проводился корреляционный анализ с использованием критерия Спирмена. Количественные переменные представлены в виде медианы и межквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$, номинальные переменные – в виде $n (\%)$. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследовании проведен анализ данных 42 пациентов: 24 пациента с нормальной экскрецией альбумина и 18 пациентов с умеренным повышением экскреции альбумина. Все пациенты получали терапию метформином в комбинации с иДПП-4 и (или) препаратами сульфонилмочевины. Демографические, клинические характеристики и лабораторные данные пациентов представлены в таблице. Не получено значимых различий между группами по возрасту,

полу, ИМТ, значениям гликированного гемоглобина, СКФ и липидов. Группы также не различались между собой по значениям таких биомаркеров, как P1CP, TIMP-1 и MMP-9. Концентрация галектина-3 была значимо выше в группе с умеренным повышением альбуминурии. Показатели NT-pro-BNP и ST-2 между группами значимо не различались. При сравнении эхокардиографических показателей группы не различались между собой, за исключением значений E/e' , которые были значимо выше в группе с умеренным повышением альбуминурии.

Наблюдалась значимая положительная корреляция между галектином-3 и АКС ($r = 0,783$; $p < 0,001$), а также галектином-3 и значениями E/e' ($r = 0,59$; $p = 0,001$). Не отмечено значимой корреляции между биомаркерами и такими параметрами, как гликированный гемоглобин, длительность диабета, пол, возраст, ИМТ.

Таблица

Характеристика пациентов			
Показатель	Группа с альбуминурией, $n = 18$	Группа без альбуминурии, $n = 24$	p
Возраст, лет, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	57 [50; 63]	51 [46; 60]	0,17
Пол, женский, $n (\%)$	12 (66,7)	15 (62,5)	0,56
Курение, $n (\%)$	6 (33,3)	5 (20,8)	0,23
Ретинопатия, $n (\%)$	8 (44,4)	11 (45,8)	0,39
Длительность диабета, лет, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	6 [4; 8]	5 [2; 7]	0,62
Длительность АГ, лет, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	8 [5; 11]	9 [5; 11]	0,45
иАПФ/АРАП, $n (\%)$	15 (83,3)	18 (75)	0,79
ИМТ, $кг/м^2$, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	31,4 [29,6; 34,9]	33 [30,7; 35,1]	0,33
НbA1c, %, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	8,2 [7,65; 8,7]	8,6 [7,25; 9,9]	0,75
Систолическое АД, мм рт. ст., $Me (Q_{25}; Q_{75})$	134,5 [126,1; 142,0]	129,2 [117,5; 135,9]	0,66
Диастолическое АД, мм рт. ст., $Me (Q_{25}; Q_{75})$	78,2 [75,2; 83,6]	75,6 [72,1; 79,2]	0,73
СКФ, мл/мин/1,73 $м^2$, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	95,3 [78,3; 100,1]	101,1 [87,4; 106,0]	0,46
СРБ, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	1,82 [0,44; 4,8]	1,65 [0,31; 6,51]	0,88
NT-pro-BNP, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	48,53 (24,53; 73,24)	30,8 [18,73; 65,23]	0,11
Галектин-3, нг/мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	13,6 [11,2; 15,1]	7,4 [6,7; 7,9]	<0,001
P1CP, нг/мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	164,7 [137,8; 188,8]	118,8 [105,3; 139,7]	0,2
TIMP-1, нг/мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	240,8 [155,7; 298,2]	208 [186,5; 239,5]	0,47
MMP-9, нг/мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	505,7 [382,3; 672,0]	410,5 [342,1; 535,4]	0,75
ST-2, нг/мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	16,4 [13,8; 20,9]	17,9 [14,7; 22,3]	0,71
ЛПНП, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	2,38 (1,85; 2,79)	3,45 [2,64; 3,79]	0,08
ЛПВП, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	1,1 [0,86; 1,28]	1,16 [0,91; 1,30]	0,68
Триглицериды, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	2,58 [1,76; 2,98]	2,34 [1,65; 3,14]	0,28
ФВ, %, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	61 [55; 63]	61 [57; 63]	0,59
E/e' , $Me (Q_{25}; Q_{75})$	10 [9; 12,5]	8 [7; 9]	0,006
Индекс объема левого предсердия, мл/м ² , $M (Max-Min)$	49,4 [39,2–56,2]	42,8 [35,0–29,5]	0,03
КДО, мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	110 [98; 129]	119 [100; 133]	0,28
КСО, мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	40 [31; 48,5]	47 [28,5; 25,5]	0,21
ИММ ЛЖ, г/м ² , $Me (Q_{25}; Q_{75})$	105 [89; 120]	105 [84; 115]	0,65

Примечание. ИММ ЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным нашего исследования, концентрация галектина-3 значимо выше у пациентов с умеренным повышением альбуминурии, чем у пациентов с нормоальбуминурией. Синтез галектина-3 происходит в различных клетках и тканях организма, но уровень экспрессии достаточно вариабелен. Экспрессия галектина-3 активно идет в таких клетках, как макрофаги, тучные клетки, нейтрофилы, Т-клетки, эозинофилы, фибробласты и кардиомиоциты. Галектин-3 принимает участие в дифференцировке клеток, апоптозе, ангиогенезе и фиброгенезе. Галектин-3 вызывает пролиферацию фибробластов и активацию макрофагов. Активация макрофагов приводит к увеличению экспрессии интерлейкина (ИЛ) 4, ИЛ-13 и образованию внеклеточного матрикса. Также под действием галектина-3 увеличивается синтез трансформирующего фактора роста TGF β и различных типов коллагена [8].

Полученный нами результат позволяет предположить, что увеличение циркулирующего галектина-3 может играть роль в развитии и прогрессировании ДН. Независимая связь между уровнями галектина-3 и уровнем альбуминурии, особенно у пациентов с сохранной фильтрационной функцией почек, как в нашем исследовании, может также свидетельствовать об участии галектина-3 в профибротических процессах при ДН. Наши данные согласуются с результатами исследования М. Iacoviello и соавт. (2015), которое показало, что концентрации галектина-3 ассоциированы с повышенной экскрецией альбумина с мочой у пациентов с СД2 и ХСН [9].

Принимая участие в развитии фибротических изменений в почках, галектин-3 может влиять на прогрессирование как почечной, так и сердечной дисфункции. В нашем исследовании была выявлена взаимосвязь между повышенным уровнем галектина-3 и более высоким соотношением Е/е', что, возможно, отражает вклад галектина-3 в развитие диастолической дисфункции, но, безусловно, не говорит о наличии причинно-следственных связей. Похожие данные были получены у пациентов с сердечной недостаточностью, причем уровень галектина-3 положительно коррелировал со степенью диастолической дисфункции [10, 11]. В нашем исследовании пациенты не имели ХСН, однако более высокие концентрации галектина-3 у пациентов с повышенной альбуминурией могут опосредованно отражать больший риск развития ХСН в дальнейшем [12]. Тем не менее на сегодняшний день роль галектина-3 остается противоречивой, а точный механизм повышенных концентраций галектина-3 в сыворотке при

ДН неясен [13]. Отражают ли сывороточные уровни галектина-3 его экспрессию именно в почках, или источником является сердце, или же это параллельные процессы – вопросы, на которые еще предстоит ответить.

Еще один из биомаркеров, который мы исследовали, – растворимый белок плазмы ST-2. В нашем исследовании не выявлено повышения концентрации ST-2 у пациентов с умеренной альбуминурией по сравнению с нормоальбуминурией. Вероятно, это связано с тем, что в исследование не включены пациенты с выраженной альбуминурией. В одном из шведских проспективных исследований показано, что у больных СД уровень ST2 значительно увеличивался в зависимости от степени альбуминурии. Выявлена связь между более высоким уровнем ST2 на ранних стадиях СД и развитием ДН в течение 10 лет [14]. Целесообразно дальнейшее изучение роли ST2 в патогенезе ДН для определения его прогностических свойств на более поздних стадиях ДН.

ДН ассоциирована с прогрессирующим накоплением компонентов экстрацеллюлярного матрикса, а в ряде исследований показано, что плазменные концентрации MMP-9 и TIMP-1 у пациентов СД2 выше, чем в контрольной группе пациентов без СД2 [15, 16]. Однако в нашем исследовании не отмечено значимого увеличения MMP-9 и TIMP-1 у пациентов с умеренным повышением альбуминурии по сравнению с пациентами с нормоальбуминурией. Сходные результаты были получены в исследовании G. Sakirca, F. Turgut (2018), в котором также анализировались различия в концентрациях MMP-9 и TIMP-1 у пациентов с СД2 в зависимости от уровня альбуминурии [16]. Также нами не отмечено значимых различий в концентрации P1CP между исследуемыми группами. В ранее проведенных исследованиях показано, что коллаген 1-го типа вовлечен в процессы гломерулярного склероза [17], а концентрация P1CP значимо выше у пациентов с выраженной экскрецией альбумина (АКС > 300 мг/г) по сравнению с пациентами с нормоальбуминурией [18]. Значимое повышение уровня P1CP у пациентов с выраженной альбуминурией и отсутствие повышения P1CP в группе пациентов с умеренным повышением альбуминурии, вероятно, связаны с менее распространенным характером гломерулярного склероза у изученных нами пациентов.

Более высокое АКС, по данным исследований, ассоциировано с развитием сердечной дисфункции у пациентов с СД2 [19, 20]. В нашем исследовании пациенты с повышенной экскрецией альбумина имели значимо большее соотношение Е/е' и индекса объема левого предсердия по сравнению с пациентами с

нормоальбуминурией, что может отражать наличие потенциального риска развития ХСН в будущем. Нами не обнаружено значимых различий в показателях ИММ ЛЖ, КДО и КСО в исследуемых группах. Однако, по данным некоторых исследований, альбуминурия ассоциирована с развитием гипертрофии ЛЖ как у пациентов с артериальной гипертензией без СД2 [21], так и у пациентов с СД2 [22].

Наше исследование имеет ряд ограничений, поэтому полученные данные следует интерпретировать с осторожностью. Во-первых, в исследование было включено небольшое количество пациентов. Во-вторых, отсутствовала группа с выраженной экскрецией альбумина с мочой, в которой могло бы быть выявлено значимое повышение других маркеров фиброза. Кроме того, пациенты получали различные комбинации сахароснижающих и антигипертензивных препаратов с различными дозировками и длительностью приема, что может оказывать влияние на абсолютное значение исследуемых маркеров фиброза.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что пациенты с сохранной фильтрационной функцией почек, но наличием умеренного повышения альбуминурии имеют большие значения галектина-3, соотношения Е/е' и индекса объема левого предсердия, чем пациенты с нормоальбуминурией. Выявленные изменения могут отражать более высокий риск развития хронической сердечной недостаточности в данной группе пациентов. Применимость измерения галектина-3 в оценке развития и прогрессирования как ДН, так и ХСН требует дальнейших проспективных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Satirapoj B., Adler S. Prevalence and management of diabetic nephropathy in Western countries. *Kidney Dis. (Basel)*. 2015; 1 (1): 61–70. DOI: 10.1159/000382028.
2. De Boer I., Rue T., Hall Y. et al. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA*. 2011; 305 (24): 2532–2539. DOI: 10.1001/jama.2011.861.
3. Gerstein H., Mann J., Yi Q. et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA*. 2001; 286 (4): 421–426. DOI: 10.1001/jama.286.4.421.
4. Шаленкова М.А., Требунский К.С., Колосова К.С. Новый биомаркер галектин-3: возможности применения для диагностики и прогноза течения сердечно-сосудистых заболеваний и болезней почек. *Лечение и профилактика*. 2019; 9 (3): 47–52.
5. Garcia-Fernandez N., Jacobs-Cachá C., Mora-Gutiérrez J. et al. Matrix metalloproteinases in diabetic kidney disease. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9 (2): 472. DOI: 10.3390/jcm9020472.
6. Bansal N., Zelnick L., Go A. et al. Cardiac Biomarkers and Risk of Incident Heart Failure in Chronic Kidney Disease: The CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort) Study. *Journal of the American Heart Association*. 2019; 8 (21): e012336. DOI: 10.1161/JAHA.119.012336.
7. Tan K., Cheung C., Lee A. et al. Galectin-3 is independently associated with progression of nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2018; 61 (5): 1212–1219. DOI: 10.1007/s00125-018-4552-z.
8. Zhong X., Qian X., Chen G., Song X. The role of galectin-3 in heart failure and cardiovascular disease. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2019; 46 (3): 197–203. DOI: 10.1111/1440-1681.13048.
9. Iacoviello M., Aspromonte N., Leone M. et al. Galectin-3 serum levels are independently associated with microalbuminuria in chronic heart failure outpatients. *Res. Cardiovasc. Med*. 2015; 5 (1): e28952. DOI: 10.5812/cardiovascmed.28952.
10. Shah R., Chen-Tournoux A., Picard M. et al. Galectin-3, cardiac structure and function, and long-term mortality in patients with acutely decompensated heart failure. *Eur. J. Heart Fail*. 2010; 12 (8): 826–832. DOI: 10.1093/eurjhf/hfq091.
11. Ansari U., Behnes M., Hoffmann J. et al. Galectin-3 reflects the echocardiographic grades of left ventricular diastolic dysfunction. *Ann. Lab. Med*. 2018; 38 (4): 306–315. DOI: 10.3343/alm.2018.38.4.306.
12. Ho J.E., Liu C., Lyass A., Courchesne P., Pencina M.J., Vasan R.S., Larson M.G., Levy D. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community. *Journal of the American College of Cardiology*. 2012; 60 (14): 1249–1256. DOI: 10.1016/j.jacc.2012.04.053.
13. O'Seaghdha C., Hwang S., Ho J. et al. Elevated galectin-3 precedes the development of CKD. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2013; 24 (9): 1470–1477. DOI: 10.1681/ASN.2012090909.
14. Samuelsson M., Dereke J., Svensson M. et al. Soluble plasma proteins ST2 and CD163 as early biomarkers of nephropathy in Swedish patients with diabetes, 15–34 years of age: a prospective cohort study. *Diabetol. Metab. Syndr*. 2017; 9: 41. DOI: 10.1186/s13098-017-0240-2.
15. Abreu B.J., de Brito Vieira W.H. Metalloproteinase changes in diabetes. *Adv. Exp. Med Biol*. 2016; 920: 185–190. DOI: 10.1007/978-3-319-33943-6_17.
16. Cakirca G., Turgut F. Serum matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9/ neutrophil gelatinase-associated lipocalin complex levels in patients with early-stage diabetic nephropathy. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2018; 12 (5): 299–304.
17. Duprez D.A., Gross M.D., Ix J.H. et al. Collagen biomarkers are associated with decline in renal function independently of blood pressure and other cardiovascular risk factors: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis Study. *J. Hypertens*. 2019; 37 (12): 2398–2403. DOI: 10.1097/HJH.0000000000002207.
18. Matsushita K., van der Velde M., Astor B. et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010; 375 (9731): 2073–2081. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60674-5.
19. Duman D., Demirtunc R., Karadag B. et al. Association of albuminuria with impaired aortic elasticity and left ventricular diastolic dysfunction in type 2 diabetes. *Anadolu Kardiyol. Derg*. 2008; 8 (1): 10–15.

20. Swoboda P., McDiarmid A., Erhayiem B. et al. Diabetes mellitus, microalbuminuria, and subclinical cardiac disease: identification and monitoring of individuals at risk of heart failure. *J. Am. Heart Assoc.* 2017; 6 (7): e005539. DOI: 10.1161/JAHA.117.005539.
21. Wang T., Zhong H., Lian G. et al. Low-grade albuminuria is associated with left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in patients with hypertension. *Kidney Blood Press. Res.* 2019; 44 (4): 590–603. DOI: 10.1159/000500782.
22. Jørgensen P., Biering-Sørensen T., Mogelvang R. et al. Presence of micro- and macroalbuminuria and the association with cardiac mechanics in patients with type 2 diabetes. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2018; 19 (9): 1034–1041. DOI: 10.1093/ehjci/jex231.

Сведения об авторах

Лебедев Денис Андреевич, врач-эндокринолог, мл. науч. сотрудник, лаборатория диабетологии, Институт эндокринологии, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-1808-1331.

Лаевская Мария Юрьевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория диабетологии, Институт эндокринологии, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-0837-8385.

Бабенко Алина Юрьевна, д-р мед. наук, зав. лабораторией диабетологии, Институт эндокринологии, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-0559-697X.

(✉) **Лебедев Денис Андреевич**, e-mail: doctorlebedev@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.05.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Структура аффективных колебаний в неклинической выборке

Осипова Н.Н.¹, Барденштейн Л.М.¹, Алешкина Г.А.¹, Дмитриева Е.В.²

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

² Смоленский государственный медицинский университет
Россия, 214019, г. Смоленск, ул. Крупской, 28

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение структуры колебаний настроения на доклиническом этапе по результатам скрининговых методов.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 129 студентов. Средний возраст $18,95 \pm 0,08$ лет. Применялись клиничко-психопатологический метод, краткий международный нейропсихиатрический опросник Mini-International Neuropsychiatric Interview, а также скрининговые методы: диагностический опросник по биполярному расстройству (Hypomania Checklist (HCL-32)), шкала депрессии Гамильтона (HAM-D-17).

Результаты. При клиничко-психопатологическом исследовании в соответствии с критериями Международной классификации болезней 10-го пересмотра, класс V: психические расстройства и расстройства поведения (F00-F99) психические расстройства, в том числе аффективная патология, выявлены не были. По результатам скрининговой методики HCL-32, у 61,2% ($n = 79$) респондентов суммарный балл превышал пороговое значение. Анализ отдельных пунктов шкалы HCL-32 на всей выборке выявил, что большинство исследуемых положительно оценивали влияние подъемов настроения на семейную сферу (63,57%; $n = 82$), общественную деятельность (68,99%; $n = 89$), работу (75,19%; $n = 91$), сферу досуга (82,17%; $n = 106$). Положительная (36,43%; $n = 47$; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 28,13–44,74) и нейтральная (37,21%; $n = 48$; 95%-й ДИ 33,35–50,37) оценка подъемов настроения также выявлена со стороны ближайшего окружения респондентов, что в целом существенно затрудняет распознавание гипоманиакальных симптомов и задерживает обращение за специализированной помощью. В структуре эпизодов подъемов настроения преобладали раздражительность ($r = -0,684$), конфликтность ($r = -0,665$), рискованное поведение ($r = -0,550$), усиление сексуальных побуждений ($r = 0,527$), повышение энергии и активности ($r = 0,431$), отвлекаемость ($r = -0,467$), употребление стимулирующих веществ ($r = -0,467$), снижение потребности во сне ($r = 0,408$). Эти признаки во многом сходны с клиническими проявлениями гипоманиакального эпизода при биполярном расстройстве II типа. Выявленные по шкале HAM-D-17 у 34,8% ($n = 45$) респондентов признаки легкой депрессии были представлены нарушениями сна ($r = 0,693$), снижением работоспособности ($r = 0,520$), депрессивным настроением ($r = 0,579$), ипохондрией ($r = 0,466$), общесоматическими симптомами ($r = -0,508$), нарушением функции желудочно-кишечного тракта ($r = 0,513$). Данные признаки не носили характер активных жалоб и не служили поводом для обращения за специализированной помощью.

Заключение. В неклинической выборке в структуре колебаний настроения преобладали подъемы, которые субъективно не идентифицировались как болезненные симптомы и не выступали в качестве жалоб при клиничко-психопатологическом исследовании. Сниженный фон настроения сочетался с общесоматическими симптомами, что может указывать на последующее формирование коморбидной патологии. Выявленные субсиндромальные признаки гипомании и депрессии в неклинической выборке при отсутствии активных жалоб и обращений за психиатрической помощью представляют клиническую значимость как предикторы аффективной патологии биполярного спектра и требуют дальнейшего клиничко-динамического наблюдения.

Ключевые слова: гипомания, субдепрессия, биполярное аффективное расстройство, скрининговые методы.

✉ Осипова Наталья Николаевна, e-mail: natinen@yandex.ru

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. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом Смоленского государственного медицинского университета (протокол № 3 от 02.12.2018).

Для цитирования: Осипова Н.Н., Барденштейн Л.М., Алешкина Г.А., Дмитриева Е.В. Структура аффективных колебаний в неклинической выборке. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 79–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-79-87>.

The structure of affective fluctuations in a non-clinical sample

Osipova N.N.¹, Bardenstein L.M.¹, Aleshkina G.A.¹, Dmitrieva E.V.²

¹ *Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov
20/1, Delegatskaya Str., Moscow, 127473, Russian Federation*

² *Smolensk State Medical University
28, Krupskoy Str., Smolensk, 214019, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To study the structure of mood fluctuations at the preclinical stage based on the findings of screening methods.

Materials and methods. A total of 129 students participated in the study. The average age was 18.95 ± 0.08 years. We used the clinical and psychopathological method, the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI), and screening methods, such as the diagnostic questionnaire for bipolar disorder (Hypomania Checklist-32 (HCL-32)), and Hamilton Depression Scale (HAMD-17).

Results. Upon a clinical and psychopathological examination according to ICD-10 criteria, class V, mental and behavioral disorders (F00-F99), including affective pathology, were not detected. According to the findings of the HCL-32 screening technique, 61.2% ($n = 79$) of respondents had a cumulative score above the threshold. Analysis of individual items on the HCL-32 scale across the entire sample revealed that the majority of examinees positively assessed the impact of mood elevations on the family sphere (63.57%; $n = 82$), social activities (68.99%; $n = 89$), work (75.19%; $n = 91$), and recreational sphere (82.17%; $n = 106$). Positive (36.43%; $n = 47$; 95% confidence interval (CI) 28.13–44.74) and neutral (37.21%; $n = 48$; 95% CI 33.35–50.37) assessments of mood elevations were also detected by the respondents' immediate circle, which, in general, significantly complicates recognition of hypomania symptoms and delays seeking specialized care. In the structure of mood elevation episodes irritability ($r = -0.684$), conflict ($r = -0.665$), risk-taking behavior ($r = -0.550$), increased sexual desire ($r = 0.527$), increased energy and activity ($r = 0.431$), distractibility ($r = -0.467$), stimulant use ($r = -0.467$), and decreased need for sleep ($r = 0.408$) dominated. These signs are very similar to the clinical manifestations of a hypomanic episode in bipolar II disorder.

Signs of mild depression revealed according to the HAMD-17 scale in 34.8% ($n = 45$) of respondents included sleep disorders ($r = 0.693$), decreased ability to work ($r = 0.520$), depressive mood ($r = 0.579$), hypochondria ($r = 0.466$), general somatic symptoms ($r = -0.508$), and gastrointestinal disorders ($r = 0.513$). These signs did not result in chief complaints and were not the reason for seeking specialized care.

Conclusion. In the non-clinical sample, in the structure of mood swings, mood elevations dominated, which were not subjectively identified as illness symptoms and did not appear as complaints in clinical and psychopathological examinations. Low mood was accompanied by general somatic symptoms, which may indicate subsequent formation of comorbid pathology. The identified subsyndromal signs of hypomania and depression in the non-clinical sample in the absence of complaints and psychiatric care-seeking are of clinical significance as predictors of a bipolar affective disorder and require further clinical and dynamic monitoring.

Key words: hypomania, subdepression, bipolar affective disorder, screening methods.

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. A written informed consent was obtained from all the participants prior to inclusion in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Smolensk State Medical University (Protocol No. 3 of 02.12.2018).

For citation: Osipova N.N., Bardenstein L.M., Aleshkina G.A.1, Dmitrieva E.V. The structure of affective fluctuations in a non-clinical sample. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 79–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-79-87>.

ВВЕДЕНИЕ

Биполярное расстройство (БР) является рецидивирующим, хроническим и инвалидирующим заболеванием. Прогнозирование риска развития, ранняя диагностика и лечение являются главными клиническими и исследовательскими целями на протяжении последних десятилетий [1–10]. Поскольку первые проявления болезни выявляются в возрасте до 18 лет почти у двух третей пациентов [1, 2], усилия по раннему распознаванию и лечению должны быть сосредоточены именно на подростковом и юношеском возрастных периодах [1, 3–8].

Все более широкое признание получает тот факт, что биполярное расстройство, как и шизофрения, имеет продромальную фазу, которая может быть идентифицирована до развития полной клинической картины заболевания. В отличие от шизофрении, где наличие продрома подтверждается критериями, прогнозирующими наступление психоза от 6 мес до 3 лет в 10–40% случаев [9, 11], существование специфического продрома для БР, которое позволило бы целенаправленное терапевтическое вмешательство, требует дальнейшего изучения [2, 5–11].

Раннее начало заболевания в большинстве случаев связано с более длительными задержками лечения, что является факторами риска неблагоприятного исхода биполярного расстройства у взрослых [12, 13].

Типология клинических вариантов БР включает значительное большее, чем представлено в международных классификациях болезней, количество вариантов [14, 15].

В классификации психических заболеваний Американской психиатрической ассоциации (DSM-IV-TR (APA), 2000; DSM-V (APA), 2013) выделены два основных варианта течения биполярного расстройства: БР I типа и БР II типа [16, 17]. БР I типа диагностируют у больного при выявлении, по крайней мере, одного маниакального или смешанного эпизодов. При БР II типа (296.89 – DSM-V, APA, 2013) обяза-

тельно наличие хотя бы одного гипоманиакального эпизода и, по крайней мере, одного эпизода большого депрессивного расстройства (текущего или в анамнезе). В 2019 г. Всемирной организацией здравоохранения утвержден проект ICD-11, в котором также представлено разделение БР на I и II типы [18].

Диагностика БР II типа в Российской Федерации в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (класс V: психические расстройства и расстройства поведения (F00-F99)) осложнена отсутствием диагностических критериев для данного расстройства. Имеется указание на включение БР II типа в рубрику F31.8 «Другие биполярные аффективные расстройства», что делает затруднительным выявление этого варианта БР в Российской Федерации и его статистический учет [19].

Проблемы ранней диагностики БР в подростковом и юношеском возрасте во многом связаны с атипичностью клинической картины субдепрессивных, депрессивных, гипоманиакальных, маниакальных и смешанных эпизодов, ее полиморфностью и синдромальной незавершенностью, обусловленной особенностями формирующейся подростковой психики [20, 21]. Это приводит к тому, что значительная часть страдающих БР подростков не получает своевременного адекватного лечения или совсем не попадает в поле зрения психотерапевта, психиатра. В исследовании K.R. Merikangas и соавт. [22] отмечено, что пациенты с началом БР в детстве остаются без лечения в среднем более 16 лет.

Значительные проблемы в процессе диагностики БР II типа представляют гипоманиакальные эпизоды, которые трудно распознаются как самими пациентами, так и их родственниками. Большинство пациентов не считают такие состояния болезненными и, соответственно, не обращаются за медицинской помощью [23]. Особенно это касается подростков, которым может нравиться состояние повышенного настроения, подъема энергии. Они могут усиливать подобное

состояние приемом психоактивных веществ с последующим рискованным поведением [24].

Также следует отметить, что во временном аспекте динамики БР преобладающими являются депрессивные эпизоды, и их дифференцирование с монополярной рекуррентной депрессией представляет клиническую проблему [25]. Депрессия первоначально рассматривается как монополярная более чем у 40% пациентов, которым позже был поставлен диагноз биполярного аффективного расстройства [26]. Имеются данные, что процесс диагностирования БР и адекватное лечение задерживаются на 6–8 лет и более, особенно при дебюте болезни в подростковом возрасте [26–29].

Раннее начало заболевания также связано с высоким суицидальным риском, присоединением коморбидной патологии, быстроциклическим течением [30–32].

Своевременная диагностика и лечение БР имеют важное значение для замедления развития эпизодов расстройства настроения, что позволит снизить вероятность формирования когнитивных нарушений, ухудшение качества жизни, а также предотвратить преждевременную смертность от самоубийств и сердечно-сосудистых заболеваний [33].

Целью настоящего исследования – изучение структуры аффективных колебаний в неклинической выборке с использованием скрининговых методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 129 студентов, обучающихся в медицинском университете по программам высшего образования. Средний возраст $18,95 \pm 0,08$ лет. Среди них – юношей 25,6% ($n = 33$), девушек 74,4% ($n = 96$). Все респонденты дали письменное информированное согласие на участие в данном исследовании. В работе были использованы клиничко-психопатологический метод, а также краткий международный нейропсихиатрический опросник Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI) [34]. Для диагностики гипомании использовался диагностический опросник по биполярному расстройству Hupomania Checklist (HCL-32) [35, 36]. Для оценки выраженности депрессии использовалась шкала Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D-17) [37].

Статистическая обработка данных включала методы описательной статистики. Построение 95%-го доверительного интервала (ДИ) проводилось по формуле для долей и частот методом Вальда. Для изучения факторной структуры эпизодов подъемов и спадов настроения по шкалам HCL-32 и HAM-D-17 использовался факторный анализ (анализ главных

компонент). Решение о количестве факторов принималось на основании наибольшего объяснения дисперсии выборки. Статистический анализ результатов выполнен в Microsoft Excel 16 с использованием надстроек «Анализ данных» и AtteStat 12.0.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При клиничко-психопатологическом исследовании респондентов с применением краткого международного нейропсихиатрического опросника MINI, психические расстройства, в том числе аффективная патология, не выявлены. При использовании диагностического опросника по биполярному расстройству HCL-32 учитывались соответствующие рекомендации разработчика (J. Angst, 2005) для подтверждения склонности к гипомании (суммарный балл ≥ 14). В исследуемой выборке среднее значение по шкале HCL-32 составило $14,80 \pm 0,44$ ($\min = 4$, $\max = 30$). У 79 респондентов (61,2%; 95%-й ДИ 52,83–69,65) суммарный балл превышал пороговое значение.

Анализ отдельных пунктов шкалы HCL-32 на всей выборке выявил, что при сравнении своего состояния с другими людьми 44,9% ($n = 58$; 95%-й ДИ 36,38–53,55) респондентов назвали свое состояние стабильным и ровным; 27,13% ($n = 35$; 95%-й ДИ 19,46–34,80) отметили чередование подъемов и спадов настроения. Анализ отдельных пунктов шкалы HCL-32 на всей выборке выявил, что большинство исследуемых положительно оценивали влияние подъемов настроения на семейную сферу (63,57%; $n = 82$), общественную деятельность (68,99%; $n = 89$), работу (75,19%; $n = 91$), сферу досуга (82,17%; $n = 106$). Также субъективная оценка реакции окружающих на эпизоды подъема настроения интерпретировалась респондентами в большинстве случаев как позитивная (36,43%; $n = 47$; 95%-й ДИ 28,13–44,74) и нейтральная (37,21%; $n = 48$; 95%-й ДИ 33,35–50,37). Негативную оценку окружающих на эпизоды подъема настроения отметили лишь 3,18% ($n = 17$; 95%-й ДИ 0,55–7,21) респондентов.

Субъективная оценка продолжительности эпизодов подъема настроения варьировала от 1 мес ($n = 5$; 3,88%; 95%-й ДИ 0,55–7,21) до 1 сут ($n = 30$; 23,26%; 95%-й ДИ 15,97–30,59). Часть респондентов 23,26% ($n = 30$; 95%-й ДИ 15,97–30,53) не смогли оценить продолжительность эпизода подъема настроения. Наличие эпизодов подъема настроения за последние 12 мес отметили все респонденты (100%; 95%-й ДИ 100,0–100,0).

Следующим этапом исследования было изучение структуры эпизодов подъема настроения по опро-

снику HCL-32 с применением факторного анализа среди респондентов ($n = 79$), суммарный балл которых превышал скрининговый порог (≥ 14 баллов). Всего в структуре подъема настроения было выявлено 11 факторов, совокупная доля дисперсии которых составила 66,9%. Наиболее значимые веса отмечались в восьми факторах. Первый фактор (Фактор I) образовали следующие шкалы, представленные в табл. 1.

Таблица 1

Структура Фактора I по результатам опросника HCL-32 в неклинической выборке		
№ шкалы	Пункты HCL-32	r
9	В повседневной жизни я чаще иду на риск	-0,550
21	Я легче отвлекаюсь	-0,467
25	Я более нетерпелив и (или) быстрее раздражаюсь	-0,684
26	Я могу утомлять и раздражать окружающих	-0,585
27	Я чаще попадаю в конфликтные ситуации	-0,665

Из табл. 1 видно, что наиболее значимые веса в Факторе I имели показатели, связанные с раздражительностью ($r = -0,684$), конфликтностью ($r = -0,665$), рискованным поведением ($r = -0,550$), повышенной отвлекаемостью ($r = -0,467$).

Значимые веса показателей Фактора II представлены в табл. 2.

Таблица 2

Структура Фактора II по результатам опросника HCL-32 в неклинической выборке		
№ шкалы	Пункт HCL-32	r
2	Более энергичен и активен	0,556
16	У меня возрастает интерес к сексу и/или усиливается сексуальное желание	0,527
18	Я больше говорю	0,468
20	В беседах я чаще шучу и каламбурю	0,418
28	Я в приподнятом настроении и более оптимистичен	0,481
29	Я пью больше кофе	0,514

Фактор II имел значимые веса по таким показателям, как повышение энергии и активности ($r = 0,556$), усиление сексуальных побуждений ($r = 0,527$), употребление большего количества кофе ($r = 0,514$), повышение настроения ($r = 0,481$), повышенная разговорчивость ($r = 0,468$).

Фактор III со значимыми весами представлен в табл. 3.

Вклад фактора III связан с получением большего удовольствия от выполняемой деятельности ($r = 0,540$), появлением планов и проектов ($r = 0,528$), творческих идей ($r = 0,511$), показателями повыше-

ния уверенности в себе ($r = 0,509$), употреблением стимулирующих веществ ($r = 0,444$).

Таблица 3

Структура Фактора III по результатам опросника HCL-32 в неклинической выборке		
№ шкалы	Пункт HCL-32	r
3	Более уверен в себе	0,509
4	Получаю больше удовольствия от работы	0,540
11	Я строю больше планов и проектов	0,528
12	У меня больше творческих идей	0,511
22	Я нахожу множество новых занятий	0,506
32	Я принимаю больше лекарств (седатиков, анксиолитиков, стимуляторов)	0,444

Вклад фактора IV включал следующие признаки: увеличение количества поездок, связанных с желанием путешествовать ($r = 0,535$), рискованный стиль вождения транспортного средства ($r = 0,523$), «скачка» мыслей ($r = -0,480$), большие траты денежных средств ($r = 0,441$).

Фактор V представлен показателем, связанным с большей быстротой и легкостью выполнения привычной деятельности ($r = 0,441$). В Факторе VI наибольшие веса имели показатели повышения физической активности ($r = 0,668$), снижение потребности во сне ($r = 0,668$). Значимый вес ($r = 0,539$) VIII фактора представлен показателем, связанным с желанием одеваться ярко и экстравагантно.

С целью изучения депрессивных колебаний настроения была использована шкала М. Гамильтона (HAM-D-17). В исследуемой выборке среднее значение по шкале составило $6,51 \pm 0,39$ ($\min = 0$, $\max = 13$), что свидетельствует об отсутствии симптомов депрессии в общей выборке. У 84 респондентов (65,1%) суммарный балл не превышал пороговые значения и находился в пределах 0–7 баллов. От 8 до 13 баллов набрали 45 респондентов (38,4%).

Следующим этапом исследования было изучение структуры эпизодов снижения настроения по шкале HAM-D-17 с применением факторного анализа среди респондентов ($n = 45$), суммарный балл которых превышал норму и составлял 8–13 баллов, что соответствует проявлениям депрессии в легкой форме. При выделении максимального числа факторов с учетом критерия Кайзера структура депрессивных состояний оказалась представлена шестью факторами и объясняла 60,99% дисперсии признаков выборки. Факторный анализ структуры эпизодов снижения настроения представлен в табл. 4.

Наибольший вклад в общую дисперсию внесли четыре фактора. Значимые веса Фактора I имели показатели, связанные в основном с диссомнией: трудности засыпания ($r = 0,693$), прерывистый сон ($r = 0,663$), ранние пробуждения ($r = 0,537$).

Фактор II имел значимые веса по таким показателям, как чувство вины ($r = -0,504$), суицидальные тенденции ($r = 0,682$), общие соматические симпто-

мы и симптомы, связанные с нарушением функции желудочно-кишечного тракта, ипохондрией и потерей веса.

Таблица 4

Факторный анализ структуры сниженного настроения по шкале HAM-D-17 (факторные нагрузки, дисперсия)						
Показатель	Фактор I	Фактор II	Фактор III	Фактор IV	Фактор V	Фактор VI
Депрессивное настроение	-0,367	-0,356	0,161	0,579	0,103	0,102
Чувство вины	0,209	-0,504	0,287	-0,191	-0,475	0,014
Суицидальные тенденции	-0,082	0,682	0,257	0,281	0,130	0,305
Ранняя бессонница (трудности засыпания)	0,693	0,028	0,050	0,010	-0,025	-0,253
Средняя бессонница (прерывистый сон)	0,663	0,292	0,085	0,190	-0,021	-0,190
Поздняя бессонница (ранние пробуждения)	0,537	0,030	0,115	0,028	0,272	0,249
Работа и интересы	-0,388	0,112	0,290	0,520	-0,252	-0,214
Заторможенность	-0,299	0,154	-0,247	0,053	-0,524	-0,041
Напряжение	-0,378	0,032	-0,642	-0,362	0,401	0,069
Соматические симптомы желудочно-кишечного тракта	0,001	0,513	0,164	-0,158	-0,185	0,644
Общие соматические симптомы	-0,050	0,415	-0,508	-0,160	-0,143	-0,411
Расстройство половой сферы	-0,290	-0,068	-0,098	-0,153	-0,484	0,403
Ипохондрия	0,010	-0,453	-0,359	0,466	0,114	0,142
Потеря веса	-0,447	0,399	0,194	0,245	0,238	-0,363
Критика к болезням	0,266	0,315	-0,326	0,229	-0,099	0,180
Доля накопленной дисперсии, %	60,99					

Вклад фактора III связан с показателями напряжения ($r = -0,642$), общесоматическими симптомами ($r = -0,508$). Вклад фактора IV в общую дисперсию составил 9,73% и включал следующие: снижение работоспособности ($r = 0,520$), депрессивное настроение ($r = 0,579$), ипохондрию ($r = 0,466$). Вклад фактора V в общую дисперсию составил 9,73% и включал следующие: снижение работоспособности ($r = 0,520$), депрессивное настроение ($r = 0,579$), ипохондрию ($r = 0,466$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Диагностика гипоманиакальных и субдепрессивных состояний на доклиническом этапе представляет сложности, связанные с субъективной оценкой своего состояния как самими респондентами, так и интерпретацией их состояния ближайшим окружением. Выявленные в 61,2% ($n = 79$) субклинические подъемы настроения в большинстве случаев оценивались респондентами и их ближайшим окружением как положительные и благоприятно влияющие на семейные взаимоотношения, общественную деятельность, досуг. Качественный анализ показал, что в структуре эпизодов подъема настроения преобладают такие признаки гипомании, как повышение энергии и общей активности, раздражительность, рискованное поведение, снижение потребности во сне, употребление стимулирующих веществ, усиление сексуальных побуждений, повышенная разговорчивость, которые

идентичны клиническим проявлениям гипоманиакального эпизода при БР.

J. Angst и соавт. (2020) провели сравнительный анализ диагностических критериев биполярного расстройства с использованием DSM-V (APA, 2013) и проекта ICD-11. Они отметили, что в отличие от DSM-IV-TR и МКБ-10 в DSM-V и проекте ICD-11 в основных критериях диагностики гипоманиакального эпизода, помимо изменения настроения (эйфория, раздражительность), делается акцент на постоянно возрастающую активность, прилив сил, субъективное ощущение подъема энергии. Это, по мнению авторов, является существенным для описания более полной и точной клинической картины расстройства [38].

Снижение настроения и связанные с ним проявления диссомнии, общесоматические симптомы, психическая и соматическая тревога, ухудшение работоспособности были выявлены у 34,8% исследуемых лишь при тщательном расспросе при отсутствии активных жалоб со стороны респондентов и соответствовали степени легкой депрессии по шкале HAM-D-17. Также выявленные признаки депрессивных состояний на доклиническом этапе имели тенденцию к связи с общесоматическими симптомами, что косвенно может указывать на дальнейшее формирование коморбидной патологии. Изучение хронологической последовательности возникновения коморбидных состояний при БР также может способствовать ранней диагностике и своевременному лечению. По мнению многих авторов, большинство

коморбидных расстройств возникает задолго до дебюта основного заболевания.

В исследованиях E.A. Frazier, J.I. Hunt и соавт. (2020) изучались коморбидные расстройства, предшествовавшие БР. Было выявлено, что злоупотребление алкоголем и каннабисом у мужчин предшествовало БР I типа, в то время как тревожные расстройства и расстройства пищевого поведения чаще выявлялись до дебюта у женщин. По мнению авторов, своевременное лечение предшествующих дебюту БР коморбидных расстройств, может выступать в качестве мер вторичной профилактики основного заболевания [39].

Полученные данные согласуются с концепцией подпороговой депрессии, которая имеет высокую распространенность в подростковом возрасте, связана с сопутствующей соматической патологией и функциональными нарушениями. В исследованиях 2 022 чилийских подростков, обучавшихся в 9–11-х классах, было выявлено, что подпороговая депрессия у девочек, помимо сниженного настроения, проявлялась проблемами со сном. У мальчиков была более выражена ангедония, нарушения концентрации внимания, психомоторная заторможенность или возбуждение [40].

В исследованиях A.R. van Meter и соавт. (2019) выявлены продромальные симптомы, предшествовавшие первому эпизоду расстройства настроения. Более чем у половины участников (51%) аффективному эпизоду предшествовал симптом повышения энергии. Исследователями выявлены более 40 различных донозологических симптомов, которые в целом свидетельствовали о неоднородности преморбидных проявлений. Данное исследование также показало, что дебют БР было постепенным [41].

Существующие данные о наличии у большинства пациентов более одного продромального симптома в дальнейшем могут способствовать выявлению более точных кластеров признаков, которые могли бы выступать в качестве убедительных критериев прогнозирования, профилактики и раннего вмешательства при биполярном расстройстве.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При клинко-психопатологическом исследовании в соответствии с критериями МКБ-10 (класс V: психические расстройства и расстройства поведения (F00–F99)) аффективная патология не выявлена. По результатам скрининговой методики HCL-32, у 61,2% ($n = 79$) респондентов суммарный балл превышал пороговое значение. Анализ отдельных пунктов шкалы HCL-32 на всей выборке показал, что большинство исследуемых положительно оце-

нивали влияние подъемов настроения на семейную сферу (63,57%; $n = 82$), общественную деятельность (68,99%; $n = 89$), работу (75,19%; $n = 91$), сферу досуга (82,17%; $n = 106$). Положительная (36,43%; $n = 47$) и нейтральная (37,21%; $n = 48$) оценка подъемов настроения также отмечена со стороны ближайшего окружения респондентов, что в целом существенно затрудняет распознавание гипоманиакальных симптомов и задерживает обращение за специализированной помощью.

Структура эпизодов подъемов настроения была представлена 11 факторами, среди которых наибольший вклад в общую дисперсию внесли такие признаки, как раздражительность ($r = -0,684$), конфликтность ($r = -0,665$), рискованное поведение ($r = -0,550$), усиление сексуальных побуждений ($r = 0,527$), повышение энергии и активности ($r = 0,431$), отвлекаемость ($r = -0,467$), употребление стимулирующих веществ ($r = -0,467$), снижение потребности во сне ($r = 0,408$), которые сходны с клиническими проявлениями гипоманиакального эпизода при биполярном расстройстве II типа.

Выявленные по шкале HAMD-17 у 34,8% ($n = 45$) респондентов признаки легкой депрессии были представлены нарушениями сна ($r = 0,693$), снижением работоспособности ($r = 0,520$), депрессивным настроением ($r = 0,579$), ипохондрией ($r = 0,466$), общесоматическими симптомами ($r = -0,508$), нарушением функции желудочно-кишечного тракта ($r = 0,513$), не носили характер активных жалоб и не служили поводом для обращения за специализированной помощью.

Таким образом, в неклинической выборке среди колебаний настроения преобладали подъемы, которые субъективно не идентифицировались как болезненные симптомы и не выступали в качестве жалоб при клинко-психопатологическом исследовании. Сниженный фон настроения сочетался с общесоматическими симптомами, что может указывать на последующее формирование коморбидной патологии. Выявленные субсиндромальные признаки гипомании и депрессии в неклинической выборке при отсутствии активных жалоб и обращений за психиатрической помощью, представляют клиническую значимость как предикторы аффективной патологии биполярного спектра и требуют дальнейшего клинко-динамического наблюдения с целью ранней диагностики и своевременного терапевтического вмешательства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Post R.M., Goldstein B.I., Birmaher B., Findling R.L., Frey B.N., DelBello M.P., Miklowitz D.J. Toward preven-

- tion of bipolar disorder in at-risk children: potential strategies ahead of the data. *J. Affect. Disord.* 2020; 272: 508–520. DOI: 10.1016/j.jad.2020.03.025.
2. Perlis R.H., Miyahara S., Marangell L.B., Wisniewski S.R., Ostacher M., DelBello M.P., Bowden C.L., Sachs G.S., Nierenberg A.A., STEP-BD Investigators. Long-term implications of early onset in bipolar disorder: data from the first 1000 participants in the systematic treatment enhancement program for bipolar disorder (STEP-BD). *Biol. Psychiatry.* 2004; 55 (9): 875–881. DOI: 10.1016/j.biopsych.2004.01.022.
 3. Correll C.U., Hauser M., Auther A.M., Cornblatt B.A. Research in people with psychosis risk syndrome: a review of the current evidence and future directions. *J. Child Psychol. Psychiatry.* 2010; 51 (4): 390–431. DOI: 10.1111/j.1469-7610.2010.02235.x.
 4. Fusar-Poli P., Bonoldi I., Yung A.R., Borgwardt S., Kempston M.J., Valmaggia L., Barale F., Caverasi E., McGuire P. Predicting psychosis: meta-analysis of transition outcomes in individuals at high clinical risk. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2012; 69 (3): 220–229. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2011.1472.
 5. Luby J.L., Navsaria N. Pediatric bipolar disorder: evidence for prodromal states and early markers. *J. Child Psychol. Psychiatry.* 2010; 51 (4): 459–471. DOI: 10.1111/j.1469-7610.2010.02210.x.
 6. Skjelstad D.V., Malt U.F., Holte A. Symptoms and signs of the initial prodrome of bipolar disorder: a systematic review. *J. Affect. Disord.* 2010; 126 (1-2): 1–13. DOI: 10.1016/j.jad.2009.10.003.
 7. Pavuluri M.N. Effects of early intervention on the course of bipolar disorder: theories and realities. *Curr. Psychiatry Rep.* 2010; 12 (6): 490–498. DOI: 10.1007/s11920-010-0155-1.
 8. McNamara R.K., Nandagopal J.J., Strakowski S.M., DelBello M.P. Preventative strategies for early-onset bipolar disorder: towards a clinical staging model. *CNS Drugs.* 2010; 24 (12): 983–996. DOI: 10.2165/11539700-000000000-00000.
 9. Leopold K., Ritter P., Correll C.U., Marx C., Özgürdal S., Juckel G., Bauer M., Pfennig A. Risk constellations prior to the development of bipolar disorders: rationale of a new risk assessment tool. *J. Affect. Disord.* 2012; 136 (3): 1000–1010. DOI: 10.1016/j.jad.2011.06.043.
 10. Brietzke E., Mansur R.B., Soczynska J.K., Kapczynski F., Bressan R.A., McIntyre R.S. Towards a multifactorial approach for prediction of bipolar disorder in at risk populations. *J. Affect. Disord.* 2012; 140 (1): 82–91. DOI: 10.1016/j.jad.2012.02.016.
 11. Correll C.U., Penzner J.B., Frederickson A.M., Richter J.J., Auther A.M., Smith C.W., Kane J.M., Cornblatt B.A. Differentiation in the preonset phases of schizophrenia and mood disorders: evidence in support of a bipolar mania prodrome. *Schizophr. Bull.* 2007; 33 (3): 703–714. DOI: 10.1093/schbul/sbm028.
 12. Post R.M., Altshuler L., Kupka R., McElroy S.L., Frye M.A., Rowe M., Grunze H., Suppes T., Keck P., Leverich G., Nolen W. More childhood onset bipolar disorder in the United States than Canada or Europe: implications for treatment and prevention. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017; 74 (A): 204–213. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2017.01.022.
 13. Post R.M., Leverich G.S., Kupka R.W., Keck P.E. Jr., McElroy S.L., Altshuler L.L., Frye M.A., Luckenbaugh D.A., Rowe M., Grunze H., Suppes T., Nolen W.A. Early-onset bipolar disorder and treatment delay are risk factors for poor outcome in adulthood. *J. Clin. Psychiatry.* 2010; 71 (7): 864–872. DOI: 10.4088/JCP.08m04994yel.
 14. Akiskal H.S., Pinto O. The evolving bipolar spectrum: prototypes I, II, III, and IV. *Psychiatr. Clin. North Am.* 1999; 22 (3): 517–534. DOI: 10.1016/s0193-953x(05)70093-9.
 15. Yong R.C., Klerman G.L. Mania in late life: focus on age at onset. *Am. J. Psychiatry.* 1992; 149 (7): 867–876. DOI: 10.1176/ajp.149.7.867.
 16. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders; 4th ed. Text revision (DSM-IV-TR). 2000: 943.
 17. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5TM; 5th ed. Arlington: American Psychiatric Association, 2013.
 18. Reed G.M., First M.B., Kogan C.S., Hyman S.E., Gureje O., Gaebel W. et al. Innovations and changes in the ICD-11 classification of mental, behavioural and neurodevelopmental disorders. *World Psychiatry.* 2019; 18 (1): 3–19. DOI: 10.1002/wps.20611.
 19. Психические расстройства и расстройства поведения (F00–F99). Класс V МКБ-10, адаптированный для использования в Российской Федерации; под общ. ред. Б.А. Казаковцева, В.Б. Голланда. М.: Минздрав России; 1998: 512.
 20. Ковалев В.В. Психиатрия детского возраста (руководство для врачей). М.: Медицина, 1979: 608.
 21. Личко А.Е. Психопатии и акцентуации характера у подростков; 2-е изд., доп. и перераб. Л.: Медицина, 1983: 255.
 22. Merikangas K.R., He J.P., Burstein M., Swanson S.A., Avenevoli S., Cui L., Benjet C., Georgiades K., Swendsen J. Lifetime prevalence of mental disorders in U.S. adolescents: results from the national comorbidity survey replication–adolescent supplement (NCS-A). *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.* 2010; 49 (10): 990–989. DOI: 10.1016/j.jaac.2010.05.017.
 23. Wium-Andersen I.K., Vinberg M., Kessing L.V., McIntyre R.S. Personalized medicine in psychiatry. *Nord J. Psychiatry.* 2017; 71 (1): 12–19. DOI: 10.1080/08039488.2016.1216163.
 24. Goldstein B.I., Birmaher B., Carlson G.A., DelBello M.P., Findling R.L., Fristad M., Kowatch R.A., Miklowitz D.J., Nery F.G., Perez-Algorta G., Van Meter A., Zeni C.P., Correll C.U., Kim H.W., Wozniak J., Chang K.D., Hillegers M., Youngstrom E.A. The international society for bipolar disorders task force report on pediatric bipolar disorder: knowledge to date and directions for future research. *Bipolar Disord.* 2017; 19 (7): 524–543. DOI: 10.1111/bdi.12556.
 25. Bardenshteyn L.M., Slavgorodsky Y.M., Beglyankin N.I., Kekelidze D., Aleshkina G.A. Early recognition of bipolar depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology.* 2016; 19 (S1): 21–22. DOI: 10.1093/ijnp/pyw043.062.
 26. Baldessarini R.J., Tondo L., Visoli C. First-episode types in bipolar disorder: predictive associations with later illness. *Acta Psychiatr. Scand.* 2014; 129 (5): 383–392. DOI: 10.1111/acps.12204.
 27. Yildiz A., Nemeroff C., Ruiz P. (ed.). The bipolar book: history, neurobiology, and treatment. New York: Oxford University Press, 2015: 686.

28. Baldessarini R.J., Tondo L., Vázquez G.H. Unmet needs in psychiatry: bipolar depression. In: Pompili M., McIntyre R.S., Fiorillo A., Sartorius N. (ed.). *New directions in psychiatry*. New York: Springer Press, 2020.
29. Vöhringer P.A., Perlis R.H. Discriminating between bipolar disorder and major depressive disorder. *Psychiatr. Clin. N. Am.* 2016; 39 (1): 1–10. DOI: 10.1016/j.psc.2015.10.001.
30. Goldstein B.I., Blanco C., He J.P., Merikangas K. Correlates of overweight and obesity among adolescents with bipolar disorder in the national comorbidity survey-adolescent supplement (NCS-A). *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.* 2016; 55 (12): 1020–1026. DOI: 10.1016/j.jaac.2016.08.010.
31. Mota N.B., Copelli M., Ribeiro S. Computational tracking of mental health in youth: Latin American contributions to a low-cost and effective solution for early psychiatric diagnosis. *New Directions for Child and Adolescent Development.* 2016; 2016 (152): 59–69. DOI: 10.1002/cad.20159.
32. Jamison K.R. Suicide and Bipolar Disorder. *J. Clin. Psychiatry.* 2000; 61 (19): 47–51.
33. Vieira D.C., de Azevedo Cardoso T., Mondin T.C., Jansen K., da Silva R.A., de Mattos Souza L.D., Kapczinski F., Magalhães P.V.S. Mood disorders and prospective suicidality in young adults: a population-based cohort study. *Acta Psychiatr. Scand.* 2018; 137 (2): 109–115. DOI: 10.1111/acps.12846.
34. Sheehan D.V., Lecrubier Y., Sheehan K.H., Amorim P., Janav S., Weiller E. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J. Clin. Psychiatry.* 1998; 59 (20): 22–33.
35. Angst J., Adolfsson R., Bennazzi F., Gamma A., Hantouche E., Meyer T.D., Skeppar P., Vieta E., Scott J. The HCL-32: Towards a self-assessment tool for hypomanic symptoms in outpatients. *J. Affect. Disord.* 2005; 88 (2): 217–233. DOI: 10.1016/j.jad.2005.05.011.
36. Mosolov S.N., Ushkalova A.V., Kostukova E.G., Shafarenko A.A., Alfimov P.V., Kostyukova A.B., Angst J. Validation of the Russian version of the Hypomania Checklist (HCL-32) for the detection of bipolar II disorder in patients with a current diagnosis of recurrent depression. *J. Affect. Disord.* 2014; 155: 90–95. DOI: 10.1016/j.jad.2013.10.029.
37. Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br. J. Soc. Clin. Psychol.* 1967; 6 (4): 278–296. DOI: 10.1111/j.2044-8260.1967.tb00530.x.
38. Angst J., Ajdacic-Gross V., Rössler W. Bipolar disorders in ICD-11: current status and strengths. *Int. J. Bipolar Disord.* 2020; 8 (1): 3. DOI: 10.1186/s40345-019-0165-9.
39. Frazier E.A., Hunt J.I., Hower H., Jones R.N., Birmaher B., Strober M., Goldstein B.I., Keller M.B., Goldstein T.R., Weinstock L.M., Dickstein D.P., Diler R.S., Ryan N.D., Gill M.K., Axelson D., Yen S., Loftus J., Scott J., Vorspan F., Ickick R., Henry C., Gard S., Kahn J.P., Leboyer M., Bellivier F., Etain B. Psychiatric comorbidities in bipolar disorders: An examination of the prevalence and chronology of onset according to sex and bipolar subtype. *J. Affect. Disord.* 2020; 267: 258–263. DOI: 10.1016/j.jad.2020.02.035.
40. Crockett M.A., Martínez V., Jiménez-Molina Á. Subthreshold depression in adolescence: Gender differences in prevalence, clinical features, and associated factors. *J. Affect. Disord.* 2020; 272: 269–276. DOI: 10.1016/j.jad.2020.03.111.
41. Van Meter A.R., Moreira A.L., Youngstrom E.A. Meta-analysis of epidemiologic studies of pediatric bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry.* 2011; 72 (9): 1250–1256. DOI: 10.4088/JCP.10m06290.

Сведения об авторах

Осипова Наталья Николаевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра психиатрии и наркологии, Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, г. Москва. ORCID 0000-0002-8034-4457.

Барденштейн Леонид Михайлович, д-р мед. наук, профессор, заслуженный врач РФ, зав. кафедрой психиатрии и наркологии, Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, г. Москва. ORCID 0000-0002-1171-5517.

Алешкина Галина Андреевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра психиатрии и наркологии, Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, г. Москва. ORCID 0000-0001-7028-8669.

Дмитриева Елена Владимировна, ст. преподаватель, кафедра физики, математики и медицинской информатики, Смоленский государственный медицинский университет, г. Смоленск. ORCID 0000-0003-0375-0870.

(✉) **Осипова Наталья Николаевна**, e-mail: natinen@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.12.2020

Подписана в печать 27.05.2021

Роль вегетативной нервной системы в стресс-индуцированном повреждении сердца

Прокудина Е.С., Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Курбатов Б.К., Мухомедзянов А.В., Шипулин В.В., Крылатов А.В., Цибульников С.Ю., Воронков Н.С.

Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111А

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценка роли вегетативной нервной системы в стресс-индуцированном повреждении сердца в экспериментальной модели синдрома такотсубо.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 120 самках крыс линии Вистар. Каждая группа животных состояла из 12 особей. Моделирование стресса осуществляли с помощью иммобилизации животных на спине в течение 24 ч. В качестве контроля использовали intactных особей. Крыс декапитировали после прекращения иммобилизации под общим эфирным наркозом. Количественную оценку стресс-индуцированного повреждения сердца (СИПС) осуществляли по аккумуляции радиофармпрепарата ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ) в миокарде.

Фармакологические агенты вводили внутривенно: ганглиоблокатор гексаметоний вводили пятикратно в дозе 20 мг/кг; гуанетидин (50 мг/кг) – подкожно 1 раз/сут в течение 3 сут, последнюю инъекцию делали за 24 ч до иммобилизации. Остальные препараты (антагонист М-холинорецепторов атропина метилнитрат (1 мг/кг); антагонист α_1 -адренорецепторов (АР) празозин (2 мг/кг); антагонист α_2 -АР йохимбин (2 мг/кг); антагонист β_1 -АР небиволол (1,2 мг/кг); антагонист β_2 -АР ICI 118,551 (0,3 мг/кг); антагонист β_3 -АР L-748337 (0,1 мг/кг)) вводили 2 раза/сут с интервалом 12 ч.

Результаты. Трехдневное введение гуанетидина вызвало уменьшение степени аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в сердце на 35,9%. Гексаметоний не оказал влияния на степень СИПС. Блокада М-холинорецепторов вызвала усиление аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 26,5%. Ингибирование α_1 -АР не оказало влияния на СИПС. Блокада α_2 -АР вызывала усиление аккумуляции в 2,2 раза по сравнению со стресс-контролем. Блокада β_1 -АР снижала степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в 2,5 раза. Блокада β_2 АР ICI 118,551 увеличила степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 34,6%. Ингибирование β_3 -АР не оказало эффекта на СИПС.

Заключение. Симпатoadренальная система и, в частности, β_1 -адренорецепторы играют важную роль в развитии СИПС. Парасимпатическая нервная система обеспечивает устойчивость сердца к стрессу.

Ключевые слова: стресс, сердце, вегетативная нервная система, синдром такотсубо, адренорецепторы.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания ААА-А-15-115120910024-0.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии, Томский НИМЦ (протокол № 192 от 18.12.2019).

Для цитирования: Прокудина Е.С., Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Курбатов Б.К., Мухомедзянов А.В., Шипулин В.В., Крылатов А.В., Цибульников С.Ю., Воронков Н.С. Роль вегетативной нервной системы в стресс-индуцированном повреждении сердца. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 88–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-88-94>.

The role of the autonomic nervous system in stress cardiomyopathy

Prokudina E.S., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Mukhomedyanov A.V., Shipulin V.V., Krylatov A.V., Tsibulnikov S.Yu., Voronkov N.S.

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 111A, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To identify the role of the autonomic nervous system in stress cardiomyopathy in an experimental model of Takotsubo syndrome.

Materials and methods. The study was carried out on 120 female Wistar rats. Stress modeling was performed by immobilizing animals on the back for 24 hours. Intact rats were used as controls. The rats were decapitated after termination of immobilization under general anesthesia with ether. Stress cardiomyopathy (SCM) was quantified by accumulation of ^{99m}Tc pyrophosphate radiopharmaceutical (^{99m}Tc PP) in the myocardium. The pharmacological agents used included the ganglionic blocker hexamethonium, administered five times at a dose of 20 mg / kg; guanethidine (50 mg / kg) administered subcutaneously once a day for three days, the last injection was performed 24 hours before immobilization; the muscarinic receptor antagonist atropine methyl nitrate (1 mg / kg); the α_1 -AR (adrenergic receptor) antagonist prazosin (2 mg / kg); the α_2 -AR antagonist yohimbine, administered at a dose of 2 mg / kg; the β_1 -AR antagonist nebivolol (1.2 mg / kg); the β_2 -AR antagonist ICI 118,551 (0.3 mg / kg); and the β_3 -AR antagonist L-748337 (0.1 mg / kg).

Results. Three-day administration of guanethidine caused a decrease in the degree of ^{99m}Tc -PP accumulation in the heart by 35.9%. Hexamethonium did not affect the degree of SCM. The blockade of the muscarinic receptor caused an increase in accumulation of ^{99m}Tc -PP by 26.5%. Inhibition of α_1 -AR did not affect SCM. The blockade of α_2 -AR caused a 2.2-fold increase in the accumulation compared with stress control. The blockade of β_1 -AR reduced ^{99m}Tc -PP accumulation by 2.5 times. The blockade of β_2 -AR by ICI 118,551 increased the degree of ^{99m}Tc -PP accumulation by 34.6%. Inhibition of β_3 -AR had no effect on SCM.

Conclusion. The adrenergic system and β_1 -adrenergic receptor play an important role in the development of SCM. The parasympathetic nervous system ensures resistance of the heart to stress.

Key words: stress, heart, autonomic nervous system, Takotsubo syndrome, adrenergic nervous system.

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 work was performed within the state assignment AAAA-A15-115120910024-0.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee of Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС (Protocol No. 192 of 18.12.2019).

For citation: Prokudina E.S., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Mukhomedyanov A.V., Shipulin V.V., Krylatov A.V., Tsibulnikov S.Yu., Voronkov N.S. The role of the autonomic nervous system in stress cardiomyopathy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 88–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-88-94>.

ВВЕДЕНИЕ

В 1974 г. G. Johansson и соавт. в исследовании, выполненном на свиньях, обнаружили существование стрессорного повреждения сердца [1]. Однако только в 1990 г. группа японских кардиологов

впервые верифицировала стресс-индуцированное повреждение сердца (СИПС) у человека, назвав его «синдром такоцубо» (СТ), потому что сердце этих больных напоминало ловушку для осьминогов – takotsubo [2]. Данному состоянию свойственны ди-

латация левого желудочка сердца, боли в груди, повышение уровня маркеров некроза миокарда, сократительная дисфункция левого желудочка. Фиксируются изменения на электрокардиограмме (ЭКГ): удлинение интервала QTc, инверсия зубца Т, подъем или депрессия сегмента ST [3].

Синдром такоцубо является тяжелым заболеванием, смертность при котором сопоставима со смертностью при остром инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST [4]. Такое положение дел объясняют недостаточным знанием механизма формирования СИПС и, соответственно, отсутствием патогенетически обоснованной терапии. Предполагают, что в патогенезе СИПС важную роль играет вегетативная нервная система [5]. Данные литературы свидетельствуют о важной роли гиперактивации симпатoadrenalовой системы в патогенезе СТ. В исследовании А. Вассаго и соавт. было показано, что у пациентов с СТ в подостром периоде повышена активность симпатической нервной системы [6]. Уровень адреналина в плазме крови пациентов с СТ в подостром периоде выше, чем при последующем исследовании через 100 сут или 12 мес после госпитализации [7, 8]; также повышен и уровень норадреналина в сыворотке крови [9]. Результаты вышепредставленных работ подтверждают, что развитию СТ сопутствует повышение активности симпатической системы. Важно отметить, что для СТ характерны более высокие концентрации катехоламинов в сыворотке крови, чем у пациентов с острым коронарным синдромом [10]. Следует отметить, что методы радионуклидной индикации отражают патофизиологические изменения, происходящие в организме при тех или иных патологических процессах [11, 12] и с высокой чувствительностью позволяют оценить повреждение кардиомиоцитов *in vivo* [13].

Цель настоящего исследования – оценить роль вегетативной нервной системы в стресс-индуцированном повреждении сердца, используя экспериментальную модель синдрома такоцубо.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Исследование проводилось в соответствии с 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Исследование было выполнено на 120 самках крыс линии Вистар. Моделирование стресса осуществляли с помощью иммобилизации животных на спине в течение 24 ч. Животные были случайным образом разделены на группы по 12 особей в каждой

в соответствии с используемым фармакологическим агентом. Для оценки влияния иммобилизации была введена группа стресс-контроля, состоящая из 12 животных. За 16 ч до иммобилизации крыс лишали доступа к корму при сохранении доступа к воде. Крысы были зафиксированы пластиковыми «хомутами стандартными» АО «ДКС» (Тверь, Россия) за верхние и нижние конечности, что ограничивало их движение, но не причиняло боли. Как показали наши исследования, подобное воздействие вызывает формирование классической «триады Селье» (инволюция тимуса и селезенки, гипертрофия надпочечников, появление язв желудка) [14]. В качестве контроля использовали интактных особей в количестве 12 штук. Крыс декапитировали после прекращения иммобилизации под общим эфирным наркозом.

Количественную оценку стрессорного повреждения сердца осуществляли по аккумуляции радиофармпрепарата ^{99m}Tc -пирофосфата (^{99m}Tc -ПФ) в миокарде по методу, предложенному D.G. Miller и S. Mallov [13]. Радиофармпрепарат, полученный с помощью генератора технеция Тексис (Франция), вводили внутривенно в дозе 150 МБк/кг через 30 мин после прекращения иммобилизации. Через 100 мин после инъекции животных декапитировали под эфирным наркозом. Включение ^{99m}Tc -ПФ в ткань миокарда рассчитывали в процентах от введенной дозы на 1 г ткани. После извлечения из грудной клетки сердце отмывали от крови, перфузируя его физиологическим раствором (10 мл) через аорту. Регистрацию радиоактивности осуществляли с помощью гамма-камеры Philips Forte (Philips, Нидерланды).

Препараты вводили внутривенно 2 раза: первую инъекцию осуществляли за 30 мин до иммобилизации и через 12 ч после иммобилизации (за исключением гуанетидина и гексаметония). Для фармакологической денервации использовали ганглиоблокатор гексаметония хлорид, который вводили пятикратно в дозе 20 мг/кг с интервалом 4 ч 48 мин [15]. Химическую симпатэктомию вызывали с помощью введения гуанетидина. Гуанетидин (50 мг/кг) вводили подкожно 1 раз/сут в течение 3 сут, последнюю инъекцию делали за 24 ч до иммобилизации [16]. Для блокады периферических М-холинорецепторов использовали атропина метилнитрат, который вводили двукратно в дозе 1 мг/кг [17]. Празозин (2 мг/кг) использовали для блокады α_1 -адренорецепторов (АР) [18]. Йохимбин, антагонист α_2 -АР, вводили в дозе 2 мг/кг [19]. Селективный антагонист β_1 -АР небиволол использовали в дозе 1,2 мг/кг [20]. Селективный антагонист β_2 -АР ICI 118,551 применяли в дозе 0,3 мг/кг [21]. Селективный антагонист β_3 -АР L-748337 вводили в дозе 0,1 мг/кг [22].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием программного обеспечения Statistica 13 (StatSoft Inc., США, AXA001J575030FAACD-K). Для оценки статистической значимости различий между группами использовали критерий Манна – Уитни. Результаты выражали как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего. Во всех случаях нулевую гипотезу отвергали при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из рис. 1, истощение запаса эндогенных катехоламинов в результате введения гуанетидина снизило степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в миокарде крысы на 35,9% по сравнению со стресс-контролем. Наблюдаемое снижение свидетельствует об уменьшении повреждения сердца после иммобилизационного стресса. Данный факт подтверждает, что эндогенные катехоламины участвуют в развитии повреждающего действия стресса на миокард.

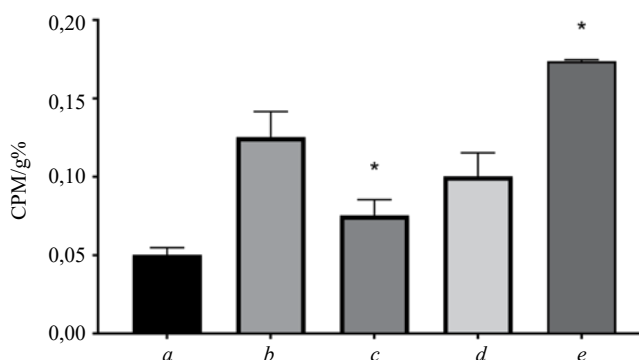


Рис. 1. Степень аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата при стрессе после истощения запасов эндогенных катехоламинов гуанетидином, фармакологической денервации миокарда гексаметонием, при блокаде М-холинорецепторов атропином: *a* – intactные животные, *b* – стресс-контроль, *c* – стресс + гуанетидин, *d* – стресс + гексаметоний, *e* – стресс + атропин метилнитрат. * $p < 0,05$ к группе стресс-контроль

Введение гексаметония не оказало эффекта на степень аккумуляции (см. рис. 1). Установлено, что при внутривенном введении гексаметоний (10 мг/кг) действует в течение 60 мин [23]. Возможно, что отсутствие эффекта гексаметония в нашем исследовании связано с коротким периодом действия этого средства. Кроме того, возможно, что отсутствие эффекта гексаметония связано с тем, что препарат блокирует как симпатические, так и парасимпатические ганглии. Данное предположение базируется на нашей гипотезе, что активация симпатoadренальной системы способствует повреждению сердца, а стимуляция парасимпатического звена вегетативной

нервной системы повышает устойчивость сердца к стресс-индуцированному повреждению.

Наша гипотеза получила дополнительное подтверждение в серии экспериментов с блокадой М-холинорецепторов с помощью атропина метилнитрата (см. рис. 1). При использовании данного фармакологического агента мы наблюдали усиление аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ на 26,5% по сравнению со стресс-контролем, что подтверждает нашу гипотезу о протекторной роли активации парасимпатической нервной системы. Наш результат согласуется с данными R.Q. Хуе и соавт. [24]. В своей работе они показали, что стимуляция вагуса оказывает кардиопротекторный эффект при повреждении миокарда после введения изопроterenолола. Одним из механизмов адренергического повреждения сердца является кальциевая перегрузка кардиомиоцитов, а ацетилхолин ослабляет кальциевую перегрузку [25]. Следовательно, активация М-холинорецепторов может препятствовать СИПС.

В ходе экспериментов были получены данные об участии α -АР в СИПС. Как видно из рис. 2, блокада α_1 -адренорецепторов празозином не оказала влияния на аккумуляцию ^{99m}Tc -ПФ при стрессе. Блокада α_2 -адренорецепторов йохимбином (рис. 2) вызвала увеличение ^{99m}Tc -ПФ на 220% по сравнению со стрессированными животными. Известно, что йохимбин блокирует α_2 -АР, расположенные на симпатических терминалях, это приводит к выбросу норадреналина [26]. Очевидно, что в условиях стресса йохимбин вызывает усиление выброса норадреналина из адренергических нервных терминалей, иннервирующих сердце, это приводит к усилению СИПС.

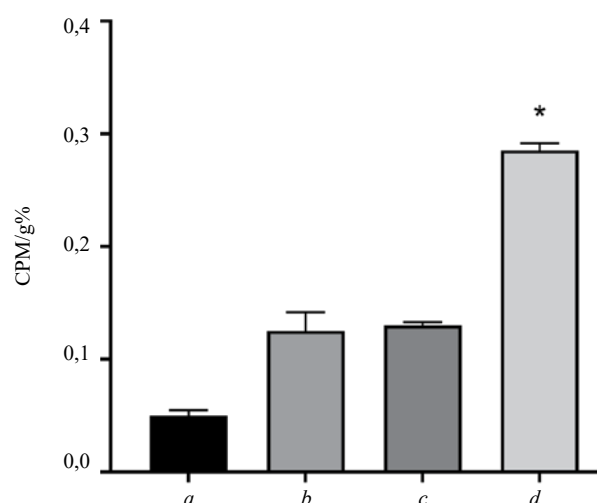


Рис. 2. Степень аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата при блокаде α -адренорецепторов при стрессе: *a* – intactные животные, *b* – стресс-контроль, *c* – стресс + гуанетидин, *d* – стресс + гексаметоний, *e* – стресс + атропин метилнитрат.

* $p < 0,05$ к группе стресс-контроль

При проведении серий экспериментов по определению роли β -АР в СИПС были получены данные о том, что блокада β_1 -АР уменьшает степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в 250% (рис. 3). Общеизвестно, что указанные рецепторы связаны с Gs-белками, активация которых приводит к стимуляции аденилатциклазы и усилению синтеза цАМФ. Противоположным эффектом обладает антагонист β_2 -АР ICI-118,551: после его введения аккумуляция ^{99m}Tc -ПФ в миокарде увеличилась на 34,6%. Известно, что β_2 -АР при высоких концентрациях катехоламинов способны переключаться с Gs-белков на Gi/o-белки [27].

Известно, что активация данных рецепторов по пути стимуляции Gi/o-белков вызывает ингибирование аденилатциклазы и снижение синтеза цАМФ, оказывает антиапоптотическое, кардиопротекторное действие [28, 29]. Активация Gi/o-белков, скорее всего, происходит и при СИПС. Увеличение повреждения миокарда можно объяснить тем, что при блокаде β_2 -АР нарушаются физиологические механизмы снижения патологических эффектов чрезмерной активации β_1 -АР. Ингибирование β_3 -АР не оказало эффекта на степень аккумуляции ^{99m}Tc -ПФ в миокарде при стрессе (см. рис. 3).

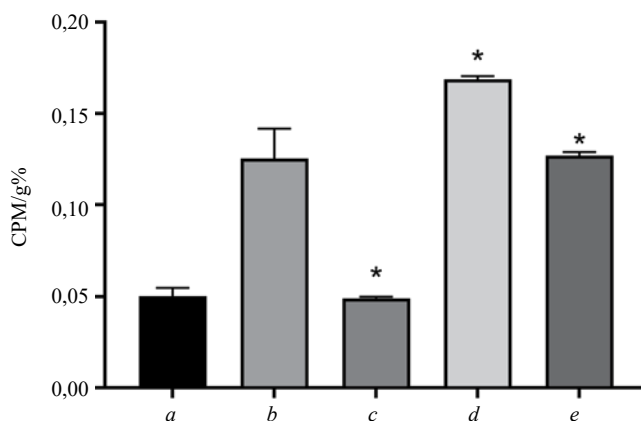


Рис. 3. Степень аккумуляции ^{99m}Tc -пирофосфата при блокаде β -адренорецепторов при стрессе: а – интактные животные, б – стресс-контроль, с – стресс + небиволол, d – стресс + ICI 118,551, e – стресс + L-748337. * $p < 0,05$ к группе «стресс-контроль»

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Блокада периферических М-холинорецепторов усиливает стрессорное повреждение сердца. α_1 -Адренорецепторы не играют существенной роли в патогенезе стресс-индуцированного повреждения сердца. Установлено, что блокада α_2 -АР способствует усилению СИПС, по всей видимости, за счет ингибирования пресинаптических α_2 -АР. β_1 -Адренорецепторы играют определяющую роль в патогенезе СИПС. Активация β_2 -адренорецепторов эндогенны-

ми катехоламинами ограничивает СИПС. β_3 -Адренорецепторы не играют существенной роли в СИПС. Следовательно, симпатoadреналовая система и, в частности β_1 -АР, вносят основной вклад в функционирование механизмов, способствующих развитию СИПС. Парасимпатическая нервная система обеспечивает устойчивость сердца к стрессу.

ЛИТЕРАТУРА

- Johansson G., Jonsson L., Lannek N., Blomgren L., Lindberg P., Poupa O. Severe stress-cardiopathy in pigs. *American Heart Journal*. 1974; 87 (4): 451–457. DOI: 10.1016/0002-8703(74)90170-7.
- Sato H. Tako-tsubo-like left ventricular dysfunction due to multivessel coronary spasm. *Clinical Aspects of Myocardial Injury: From Ischemia to Heart Failure*. 1990: 56–64.
- Prokudina E.S., Kurbatov B.K., Zavadovsky K. V., Vrublevsky A. V., Naryzhnaya N. V., Lishmanov Y.B. et al. Takotsubo syndrome: clinical manifestations, etiology and pathogenesis. *Current Cardiology Reviews*. 2020; 16. DOI: 10.2174/1573403X16666200129114330.
- Stiermaier T., Moeller C., Oehler K., Desch S., Graf T., Eitel C. et al. Long-term excess mortality in takotsubo cardiomyopathy: predictors, causes and clinical consequences. *European Journal of Heart Failure*. 2016; 18 (6): 650–656. DOI: 10.1002/ehf.494.
- Aoki Y., Kodera S., Ooe K. Further patient information; Takotsubo cardiomyopathy related to autonomic nervous system. *International Journal of Cardiology*. 2016; 209: 341. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.02.056.
- Vaccaro A., Despas F., Delmas C., Lairez O., Lambert E., Lambert G. et al. Direct evidences for sympathetic hyperactivity and baroreflex impairment in Tako Tsubo cardiopathy. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e93278. DOI: 10.1371/journal.pone.0093278.
- Marfella R., Barbieri M., Sardu C., Rizzo M.R., Siniscalchi M., Paolisso P. et al. Effects of α -lipoic acid therapy on sympathetic heart innervation in patients with previous experience of transient takotsubo cardiomyopathy. *Journal of Cardiology*. 2016; 67 (2): 153–161. DOI: 10.1016/j.jjcc.2015.07.012.
- Christensen T.E., Bang L.E., Holmvang L., Skovgaard D.C., Oturai D.B., Søholm H. et al. 123 I-MIBG scintigraphy in the subacute state of Takotsubo cardiomyopathy. *JACC: Cardiovascular Imaging*. 2016; 9 (8): 982–990. DOI: 10.1016/j.jcmg.2016.01.028.
- Sobue Y., Watanabe E., Ichikawa T., Koshikawa M., Yamamoto M., Harada M. et al. Physically triggered Takotsubo cardiomyopathy has a higher in-hospital mortality rate. *International Journal of Cardiology*. 2017; 235: 87–93. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.02.090.
- Núñez-Gil I.J., Bernardo E., Feltes G., Escaned J., Mejía-Rentería H.D., De Agustín J.A. et al. Platelet function in Takotsubo cardiomyopathy. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2015; 39 (4): 452–458. DOI: 10.1007/s11239-014-1109-y.
- Chernov V., Triss S., Skuridin V., Lishmanov Yu. Thallium-199: a new radiopharmaceutical for myocardial perfusion imaging. *Int. J. Cardiac Imaging* 1996; 12 (2): 119–126. DOI: 10.1007/BF01880743.

12. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 220–231. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-220-231.
13. Miller D.G., Mallov S. Quantitative determination of stress-induced myocardial damage in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1977; 7 (2): 139–145. DOI: 10.1016/0091-3057(77)90198-8.
14. Prokudina E., Maslov L., Naryzhnaya N., Tsibulnikov S., Lishmanov Y., Madias J. et al. Cardioprotective properties of opioid receptor agonists in rats with stress-induced cardiac injury. *Physiological Research*. 2019; 68 (3): 375–384. DOI: 10.33549/physiolres.933946.
15. Takeuchi K., Okabe S., Takagi K. A new model of stress ulcer in the rat with pylorus ligation and its pathogenesis. *The American Journal of Digestive Diseases*. 1976; 21 (9): 782–788. DOI: 10.1007/BF01073030.
16. Maslov L.N., Lishmanov Y.B., Oeltgen P.R., Barzakh E.I., Krylatov A. V., Govindaswami M. et al. Activation of peripheral $\delta 2$ opioid receptors increases cardiac tolerance to ischemia/reperfusion injury. Involvement of protein kinase C, NO-synthase, KATP channels and the autonomic nervous system. *Life Sciences*. 2009; 84 (19–20): 657–663. DOI: 10.1016/j.lfs.2009.02.016.
17. Ray A., Sullivan R.M., Henke P.G. Adrenergic modulation of gastric stress pathology in rats: a cholinergic link. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 1987; 20 (3): 265–268. DOI: 10.1016/0165-1838(87)90155-X.
18. Bankwala Z., Hale S.L., Kloner R.A. Alpha-adrenoceptor stimulation with exogenous norepinephrine or release of endogenous catecholamines mimics ischemic preconditioning. *Circulation*. 1994; 90 (2): 1023–1028. DOI: 10.1161/01.cir.90.2.1023.
19. Martins J.L.R., Rodrigues O.R.L., Da Silva D.M., Galdino P.M., De Paula J.R., Romão W. et al. Mechanisms involved in the gastroprotective activity of *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent on gastric lesions in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014; 155 (3): 1616–1624. DOI: 10.1016/j.jep.2014.08.006.
20. Loots W., De Clerck F. Differential effects of nebivolol on adrenoceptors in the heart and in resistance arterioles in the rat. Quantitative intravital microscopic analysis. *European Journal of Pharmacology*. 1990; 179 (1–2): 177–186. DOI: 10.1016/0014-2999(90)90416-4.
21. Kwolek G., Zakrzewska A., Schlicker E., Göthert M., Godlewski G., Malinowska B. Central and peripheral components of the pressor effect of anandamide in urethane-anaesthetized rats. *British Journal of Pharmacology*. 2005; 145 (5): 567–575. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706195.
22. Mori A., Miwa T., Sakamoto K., Nakahara T., Ishii K. Pharmacological evidence for the presence of functional $\beta 3$ -adrenoceptors in rat retinal blood vessels. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2010; 382 (2): 119–126. DOI: 10.1007/s00210-010-0526-5.
23. Taheri P., Choe E., Lipton H., Hyman A., Flint L., Ferrara J. Autonomic control of the regional hemodynamic response to scald. *Life Sciences*. 1995; 56 (9): 701–707. DOI: 10.1016/0024-3205(94)00504-L.
24. Xue R.Q., Sun L., Yu X.J., Li D.L., Zang W.J. Vagal nerve stimulation improves mitochondrial dynamics via an M3 receptor/CaMKK β /AMPK pathway in isoproterenol-induced myocardial ischaemia. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2017; 21 (1): 58–71. DOI: 10.1111/jcmm.12938.
25. Zhao M., Jia H.H., Liu L.Z., Bi X. yuan, Xu M., Yu X.J. et al. Acetylcholine attenuated TNF- α -induced intracellular Ca²⁺ + overload by inhibiting the formation of the NCX1-TRPC3-IP3R1 complex in human umbilical vein endothelial cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2017; 107: 1–12. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2017.04.001.
26. Хоффман Б.Б. Средства, блокирующие адренорецепторы, гл. 10. В кн.: Б.Г. Катцунг. Базисная и клиническая фармакология; т. 1. М.: Бином, 1998.
27. Daaka Y., Luttrell L.M., Lefkowitz R.J. Switching of the coupling of the $\beta 2$ -adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. *Nature*. 1997; 390 (6655): 88–91. DOI: 10.1038/36362.
28. Chesley A., Lundberg M.S., Asai T., Xiao R.P., Ohtani S., Lakatta E.G. et al. The $\beta 2$ -adrenergic receptor delivers an antiapoptotic signal to cardiac myocytes through G(i)-dependent coupling to phosphatidylinositol 3'-kinase. *Circulation Research*. 2000; 87 (12): 1172–1179. DOI: 10.1161/01.RES.87.12.1172.
29. Communal C., Singh K., Sawyer D.B., Colucci W.S. Opposing effects of $\beta 1$ - and $\beta 2$ -adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis: Role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation*. 1999; 100 (22): 2210–2212. DOI: 10.1161/01.CIR.100.22.2210.

Вклад авторов

Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна, анализе и интерпретации данных, обосновании рукописи или проверке критически важного интеллектуального содержания.

Сведения об авторах

Прокудина Екатерина Сергеевна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1991-6516.

Маслов Леонид Николаевич, д-р мед. наук, профессор, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6020-1598.

Нарыжная Наталья Владимировна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2264-1928.

Курбатов Борис Константинович, мл. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9603-822X.

Мухомедзянов Александр Валерьевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2264-1928.

Шипулин Владимир Владимирович, лаборант-исследователь, лаборатория радионуклидных методов исследования, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9887-8214.

Крылатов Андрей Владимирович, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4341-3844.

Цибульников Сергей Юрьевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1534-2516.

Воронков Никита Сергеевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5261-8062.

(✉) **Курбатов Борис Константинович**, e-mail: bobersanker@gmail.com

Поступила в редакцию 26.03.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Магнитно-резонансная томографическая оценка абдоминальной жировой ткани и состояние брюшной аорты у пациентов с ишемической болезнью сердца: связь с нарушениями метаболизма

Рюмшина Н.И.¹, Кошельская О.А.¹, Кологривова И.В.¹, Харитонов О.А.¹,
Насекина К.А.², Усов В.Ю.¹

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение потенциальных взаимосвязей количественных характеристик висцеральной и подкожной жировых тканей (ЖТ) с антропометрическими показателями ожирения, нарушениями метаболизма и состоянием брюшного отдела аорты у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 55 пациентов (средний возраст $61,2 \pm 7,2$ лет) с хронической ИБС. Магнитно-резонансную томографию выполняли на 1,5 Т магнитно-резонансном томографе в T2-взвешенных спин-эхо режимах. Расчет площади и объема абдоминальных подкожной (ПЖТ) и висцеральной ЖТ (ВЖТ) проводился на уровне L4–L5, а также измерялся общий объем абдоминальных ПЖТ и ВЖТ. В сыворотке крови исследовали показатели липидного и углеводного метаболизма и состояние адипокинового профиля.

Результаты. В ходе множественного линейного регрессионного анализа установлены независимые детерминанты вариабельности общего объема абдоминальной ВЖТ, которые описывают 95% вариабельности этого показателя: окружность талии (ОТ), содержание в крови холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП) и адипонектина. Уровень значимости модели составил $p < 0,000001$, остатки модели нормальны. Оценки коэффициентов в модели для: ОТ – 1,39; ХС-ЛВП – 0,26 и адипонектина – 0,19. Документированы корреляционные взаимосвязи диаметра абдоминальной аорты (АА): прямая – с площадью ПЖТ L4–L5 ($r_s = 0,48$; $p = 0,0014$), что не зависит от пола, и обратные – с уровнем гликированного гемоглобина (HbA1c) ($r_s = -0,40$; $p = 0,0359$) и постпрандиальной гликемией ($r_s = -0,40$; $p = 0,0273$). В сравнении с пациентами, имеющими нормальные значения диаметра АА (группа 1), у пациентов с расширенной АА (группа 2) не было значимых различий накопления ЖТ, но имел место более низкий уровень HbA1c и постпрандиальной гликемии, что определялось меньшим числом пациентов с сахарным диабетом типа 2.

Заключение. Установлены независимые детерминанты возрастания общего объема абдоминальной висцеральной ЖТ, которыми являются: увеличение окружности талии и сниженные значения содержания в крови адипонектина и ХС-ЛВП. Результаты исследования свидетельствуют о наличии взаимосвязи между процессами ремоделирования АА, накоплением подкожной абдоминальной ЖТ и нарушениями метаболизма глюкозы.

Ключевые слова: магнитно-резонансная томография, абдоминальная жировая ткань, брюшная аорта, нарушения метаболизма липидов и глюкозы, адипонектин.

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

Источник финансирования. Статья подготовлена в рамках госзадания НИИ кардиологии Томского НИМЦ по теме фундаментальных исследований № АААА-А15-115123110026-3 «Фундаментальные аспек-

ты возникновения и развития социально значимых сердечно-сосудистых заболеваний; выявление мишеней для диагностики, лечения и улучшения прогноза; механизмы защиты».

Соответствие принципам этики. Все пациенты дали информированное согласие на участие и обработку результатов обследования. Исследование одобрено независимым этическим комитетом НИИ кардиологии, Томский НИМЦ (протокол № 146 от 16.06.2016).

Для цитирования: Рюмшина Н.И., Кошельская О.А., Кологривова И.В., Харитонов О.А., Насекина К.А., Усов В.Ю. Магнитно-резонансная томографическая оценка абдоминальной жировой ткани и состояние брюшной аорты у пациентов с ишемической болезнью сердца: связь с нарушениями метаболизма. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 95–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-95-104>.

MRI assessment of the abdominal adipose tissue and the state of the abdominal aorta in patients with coronary artery disease: association with metabolic disorders

Ryumshina N.I.¹, Koshelskaya O.A.¹, Kologrivova I.V.¹, Kharitonova O.A.¹, Nasekina K.A.², Usov V.Yu.¹

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

² Siberian State Medical University (SSMU) 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate potential associations between quantitative features of visceral and subcutaneous adipose tissue (AT) and anthropometric characteristics of obesity, metabolic disorders, and the state of the abdominal aorta in patients with chronic coronary artery disease (CAD).

Materials and methods. The study included 55 patients (average age 61.2 ± 7.2 years) with chronic CAD. Magnetic resonance imaging (MRI) was performed on a 1.5 T MRI scanner using T2-weighted spin-echo modes. The area and volume of abdominal subcutaneous (SAT) and visceral adipose tissue (VAT) were calculated at the L4–L5 level; the total volumes of abdominal SAT and VAT were determined. Parameters of lipid and carbohydrate metabolism, as well as adipokine profile were studied in the blood serum.

Results. In the course of a multiple linear regression analysis, we detected the independent determinants, which described 95% of the total VAT volume variability and were represented by waist circumference (WC) and serum levels of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and adiponectin. The model was characterized by the significance level $p < 0.000001$, the residuals of the model were normal. We calculated the coefficients in the model: 1.39 for WC, -0.26 for HDL cholesterol, and -0.19 for adiponectin. We detected a positive correlation between the abdominal aorta (AA) diameter and SAT area at the L4–L5 level ($r_s = 0.48$; $p = 0.0014$), which does not depend on gender, and reverse correlations between the aorta diameter and glycated hemoglobin (HbA1c) level ($r_s = -0.40$; $p = 0.0359$) and postprandial glycemia ($r_s = -0.40$; $p = 0.0273$). The patients with a dilated aorta (group 2), when compared with the patients with a normal aorta diameter (group 1), did not differ in the AT accumulation, but demonstrated decreased levels of HbA1c and postprandial glycemia, which resulted in a smaller number of patients with type 2 diabetes mellitus.

Conclusion. We identified independent determinants of an increase in the total volume of abdominal visceral AT, such as an increase in WC and a decrease in serum adiponectin and HDL cholesterol levels. Results of the study indicate the presence of a link between the AA remodeling, accumulation of subcutaneous AT, and impaired glucose metabolism.

Key words: magnetic resonance imaging, abdominal adipose tissue, abdominal aorta, lipid and glucose metabolism disturbances, adiponectin.

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 of Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC, on the topic of fundamental research No. AAAA-A15-115123110026-3 “Fundamental aspects of the emergence and development of socially sensitive cardiovascular diseases; identification of targets for diagnosis, treatment, and prognosis improvement; protection mechanisms”.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study and process the examination results. The study was approved by the Ethics Committee at Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 146 of 16.06.2016).

For citation: Ryumshina N.I., Koshelskaya O.A., Kologrivova I.V., Kharitonova O.A., Nasekina K.A., Ussov V.Yu. MRI assessment of the abdominal adipose tissue and the state of the abdominal aorta in patients with coronary artery disease: association with metabolic disorders. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 95–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-95-104>.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Прогрессивный рост распространенности метаболических нарушений и ожирения является одной из важнейших особенностей современного общества. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, более 650 млн лиц страдают ожирением и более 1,9 млрд имеют избыточный вес. Известно, что жировая ткань (ЖТ) является самым крупным и активным эндокринным органом, принимая участие в регуляции энергетического баланса, гомеостаза глюкозы и липидов, а также функционирования иммунной системы в ответ на колебания пищевого статуса, окружающей среды, образа жизни и старения [1]. В многочисленных исследованиях показана устойчивая связь между избыточным накоплением висцеральной жировой ткани (ВЖТ) и развитием метаболического синдрома [2], сахарного диабета типа 2 (СД2) [3], обструктивной коронарной болезни сердца и инфаркта миокарда [4]. Жировая ткань способна продуцировать целый спектр цитокинов и адипокинов, причем метаболические и функциональные свойства подкожного и висцерального жира существенно различаются [5], а имеющиеся данные о секреторном потенциале подкожной жировой ткани (ПЖТ) весьма противоречивы.

Инструментальные методы оценки степени висцерального ожирения занимают важное значение в диагностике и стратификации риска сердечно-сосудистых заболеваний [6]. Так, эталонным методом считаются томографические методики – компьютерная и магнитно-резонансная томография (МРТ) [7], а по некоторым данным, МРТ может превосходить компьютерную томографию в точности измерений [8]. МРТ обладает высокой тканевой дифференцировкой, благодаря чему возможна количественная оценка различных жировых депо с одновременной оценкой близлежащих органов и тканей. Остается открытым вопрос о методологии количественного

анализа ЖТ, так как не существует единого протокола измерения.

Лишь в единичных исследованиях изучалась потенциальная взаимосвязь между количественными характеристиками абдоминальной ЖТ и аневризмой абдоминальной аорты (АА), а результаты этих исследований весьма противоречивы [9]. Поскольку среди пациентов с расширением брюшного отдела аорты и ее аневризмой большинство имеют выраженный атеросклероз и разной степени выраженности коронарную болезнь сердца, нельзя исключить, что эта патологическая связь может быть обусловлена общими факторами риска, включая и висцеральное ожирение, что подтверждается результатами ряда исследований [10].

В силу того, что дилатация аорты является осложнением целого ряда патологий с высоким риском неблагоприятных событий, раннее выявление признаков расширения АА позволит снизить смертность от таких состояний, как расслоение аорты и разрывы аневризм. Проведение МРТ для диагностики состояния аорты по современным рекомендациям имеет класс доказательности IC [11]. Для визуализации АА предпочтение отдается томографическим методам, поскольку для ультразвукового исследования данная область является труднодоступной. До настоящего времени не проводились исследования количественных показателей накопления абдоминальной ЖТ и параметров, отражающих характер ремоделирования АА, в сопоставлении с оценкой клинических характеристик пациентов, состоянием их метаболического и адипокинового профиля. До сих пор не существует ясности, способно ли наличие висцерального абдоминального ожирения модулировать взаимосвязь между его накоплением и степенью расширения АА, и какие именно факторы могут быть вовлечены в этот процесс.

Цель нашего исследования – изучение потенциальных взаимосвязей количественных характеристик висцеральной и подкожной ЖТ с антропоме-

трическими показателями ожирения, нарушениями метаболизма и состоянием брюшного отдела аорты у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены пациенты 48–78 лет (в том числе 60% – мужчины) с документированной хронической ИБС. Все пациенты дали информированное согласие на участие и обработку результатов обследования. Одномоментное ретроспективное исследование проведено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации.

Критериями исключения являлись: перенесенное менее 6 мес назад острое осложнение атеросклероза, любое воспалительное заболевание; СД2 с неудовлетворительным контролем гликемии, уровнем гликированного гемоглобина (HbA1c) >10% или уровнем гликемии в течение 1 сут >11 ммоль/л, хроническая болезнь почек выше СЗб, фракция выброса левого желудочка <40%; онкологические, гематологические и иммунные заболевания.

В табл. 1 представлена клиническая характеристика включенных пациентов. Как видно, исследование составили 55 мужчин и женщин с документированной хронической ИБС в возрасте $61,68 \pm 6,7$ лет.

Таблица 1

Клиническая характеристика включенных в исследование пациентов, $n = 55$	
Показатель	Значение
Пол (мужчины/женщины)	33/22
Возраст, лет, $M \pm SM$	$61,68 \pm 6,7$
Пациенты с инфарктом миокарда в анамнезе, n (%)	36 (65,5)
Длительность ИБС, годы, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	3 (1; 8)
Пациенты с артериальной гипертонией, n (%)	48 (87,3)
Длительность артериальной гипертонии, годы, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	15 (10; 20)
Пациенты с СД2, n (%)	23 (41,8)
Длительность СД2, годы, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	10 (1; 15)
Систолическое АД, мм рт. ст., $M \pm SM$	$131,8 \pm 15,2$
Диастолическое АД, мм рт. ст., $M \pm SM$	$75,9 \pm 8,4$
Пациенты-курильщики, n (%)	23 (41,8)
Пациенты с ожирением, n (%), в том числе:	45 (81,8)
1-й степени	23 (51,1)
2-й степени	14 (31,1)
3-й степени	8 (17,8)
Терапия статинами, n (%)	53 (96)

Примечание. АД – артериальное давление.

Доля пациентов с метаболическим синдромом [12] составила 78%, около половины включенных пациентов страдали СД2 и были курильщиками. Анатомические стенозы более 70% хотя бы одной

из основных коронарных артерий были установлены у 42 пациентов (76,4%), у 2 (3,6%) имела место микрососудистая патология, в остальных случаях изменения коронарных артерий были нестенозирующими.

МРТ-исследование проводилось на высокопольном томографе с индукцией магнитного поля 1,5 Т (Titan Vantage, Toshiba, 2010, Япония) в положении пациента лежа на спине с использованием встроенных и наружных 4- и 8-канальных квадратурных катушек для всего тела. Область сканирования включала расстояние от купола диафрагмы до входа в малый таз. Измерения толщины передней и задней брюшной стенки, площади абдоминальной ПЖТ и ВЖТ проводились на уровне межпозвоночного диска L4–L5. Измерение диаметра АА и толщины ее стенки проводилось на уровне L2–L3, на 1–2 среза выше бифуркации аорты. Измерение общего объема абдоминальной ПЖТ и ВЖТ проводилось с учетом всех срезов области сканирования по методике Fang и соавт. (2018).

Постпроцессинговая обработка изображений и измерения проводились с использованием пакета программ eFilm 3.4 (MergeHealth, 2010) и 3D Slicer 4.9.0. Обведение ЖТ было автоматическим, согласно заданному диапазону интенсивности МР-сигнала, соответствующего ЖТ, и при необходимости проводилась корректировка. После этого подсчитывали объем ($см^3$) и площадь поверхности ($см^2$) всех выделенных вокселей. Поскольку убедительные данные, показывающие соответствие односрезовых измерений общему количеству ЖТ, не опубликованы, было решено провести расчет в максимально полном объеме.

Сыворотку крови пациентов получали из венозной крови, взятой утром натощак. В сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли содержание лептина (Mediagnost, Германия), адипонектина (Assaypro, США) и их соотношения, инсулина (AccuBind, США). Ферментативным колориметрическим методом определяли содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП) (наборы ЗАО «Диакон-ДС», Россия), а также липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП). Гексокиназным методом оценивали содержание глюкозы в сыворотке крови. Уровень глюкозы и инсулина оценивали также через 2 ч после стандартной пищевой нагрузки (постпрандиальное содержание).

Статистический анализ выполнялся с использованием пакета программ Statistica v. 10.0 for Windows. Согласие с нормальным законом распределения признаков проверяли по критерию Шапиро – Уилка. Непрерывные переменные при нормальном

распределении представлены как $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение показателя, а при отсутствии нормального распределения – в виде медианы и межквартильного размаха $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$. Категориальные переменные представлены абсолютными и относительными (%) частотами. Для выявления различий числовых характеристик в независимых группах использовали критерий Манна – Уитни, так как большинство анализируемых признаков не подчинялось нормальному закону распределения. Для оценки взаимосвязи признаков использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r_s). Для оценки влияния биометрических и лабораторных показателей на общий объем висцерального жира была построена модель множественной линейной регрессии. Для критического уровня значимости p всех процедур статистического анализа использовали значение 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения компонентов абдоминальной ЖТ и брюшного отдела аорты, рассчитанные с помощью MPT и 3D Slicer, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Средние значения депо абдоминальной жировой ткани, диаметра брюшной аорты и толщины ее стенки в общей группе пациентов		
Показатель	M	SD
Площадь поперечного сечения тела L4–L5, cm^2	823,8	208,7
Площадь ВЖТ L4–L5, cm^2	186,0	78,6
Площадь ПЖТ L4–L5, cm^2	327,8	120,1
Площадь ЖТ L4–L5, cm^2	513,8	161,7
Объем ПЖТ L4–L5, cm^3	260,8	111,3
Объем ВЖТ L4–L5, cm^3	140,4	53,8
Объем ЖТ L4–L5, cm^3	404,3	141,5
Общий объем ПЖТ, cm^3	5595,4	3371,4
Общий объем ВЖТ, cm^3	4217,7	1363,9
Общий объем абдоминальной ЖТ, cm^3	9871,1	4143,1
Наружный диаметр брюшной аорты, мм	20,5	4,4
Толщина стенки брюшной аорты, мм	2,7	0,8

В случаях увеличенного диаметра и, в особенности аневризматического расширения, в стенке аорты визуализировались гиперинтенсивные включения на T2-взвешенных спин-эхо изображениях, косвенно отражающие геморрагическое пропитывание (патологический ангиогенез) в толще стенки. Наличие гиперинтенсивных очагов в артериальной стенке является характерным симптомом для патологической дилатации аорты, которая в ответ на накопление липопропротеидов низкой плотности (ЛПНП) и местную гипоксию сопровождается утолщением интимальной оболочки и увеличением количества внеклеточного

матрикса с развитием обильной сети микрососудов (*vasa vasorum*). Именно мелкие новообразованные сосуды имеют гиперинтенсивный сигнал на T2-ВИ в толще стенки. Есть мнение, что неоангиогенез может развиваться на ранних стадиях атеросклеротического процесса и поддерживать местное субклиническое воспаление, поэтому является хорошим и достаточно ранним маркером высокого риска развития аневризмы на данном участке стенки сосуда [13].

В процессе статистической обработки данных выяснилось, что имеющиеся гендерные особенности накопления и распределения ЖТ оказывают существенное воздействие на ряд изучаемых показателей, поэтому для устранения этого фактора была проведена корректировка данных на пол, рост и массу тела пациентов.

В общей группе пациентов после коррекции статистически значимых различий показателей были изучены корреляционные связи площади и объема абдоминальной ВЖТ и ПЖТ с антропометрическими показателями ожирения, ключевыми биомаркерами липидного и углеводного метаболизма. Значения общего объема ВЖТ демонстрировали значимые прямые корреляционные взаимосвязи с окружностью талии ($r_s = 0,62$; $p = 0,00000$) и содержанием триглицеридов в крови ($r_s = 0,34$; $p = 0,0459$), уровнем лептина ($r_s = 0,64$; $p = 0,0020$), а также обратные корреляции с уровнем ХС-ЛВП ($r_s = -0,49$; $p = 0,0028$) и адипонектина ($r_s = -0,37$; $p = 0,0486$). Ни один из количественных показателей накопления ПЖТ не имел ассоциаций с содержанием в крови адипонектина, триглицеридов и ХС-ЛВП, тогда как общий объем ПЖТ демонстрировал прямые корреляционные связи со значениями окружности талии (ОТ) ($r_s = 0,51$; $p = 0,0003$) и уровнем лептина ($r_s = 0,50$; $p = 0,0126$). Корреляционных взаимосвязей значений общих объемов абдоминальной ПЖТ и ВЖТ с содержанием глюкозы, HbA1c и инсулина не обнаружено.

Следует отметить, что до настоящего времени выполнено весьма ограниченное число исследований, в которых были проанализированы взаимосвязи количественных характеристик абдоминальной ЖТ с состоянием метаболизма и адипокинового профиля [14]. Хотя известно, что адипонектин секретируется как подкожной, так и висцеральной ЖТ [15], результаты исследований, касающихся изучения вклада различных жировых депо в детерминацию системного уровня адипонектина, являются противоречивыми и имеют гендерные особенности. Так, в ряде работ было показано, что развитие локального воспаления ЖТ и резистентности к инсулину негативно отражается на висцеральной продукции адипонектина, в то время как его синтез в ПЖТ остается неизменным, особенно у женщин [16].

Вместе с тем имеются данные о наличии у мужчин взаимосвязи между площадью ПЖТ и плазменным уровнем адипонектина [17]. Лептин является адипокином, антагонистом адипонектина, характеризует степень гормональной активности ЖТ и является также ключевым маркером хронического субклинического воспаления ЖТ [18]. В работе I.J. Neeland и соавт. (2013) было показано, что содержание лептина в плазме крови преимущественно связано с объемом ПЖТ [14].

Полученные нами результаты о наличии взаимосвязей между содержанием сывороточного лептина не только с общим объемом абдоминальной ВЖТ, но и с общим объемом абдоминальной ПЖТ подтверждают эти литературные данные и подвергают сомнению представления о ПЖТ как о метаболически инертном жировом депо. Действительно, существующие данные о вкладе ПЖТ в формирование сердечно-сосудистого риска и метаболического дисбаланса в сравнении с ВЖТ неоднозначны [17]. Подавляющее число работ представляют данные о влиянии ВЖТ на процессы, происходящие в аортальной стенке. Так, было показано, что при преобладании ВЖТ уменьшается диаметр аорты [19], снижается кальцификация аортальной стенки [20] и меняются ее эластические свойства [21, 22], увеличивается толщина комплекса «интима – медиа» [23]. Кроме того, доказана прямая связь висцерального ожирения и развития атеросклероза [24–26]. При этом роль ПЖТ в изменениях стенки аорты не обозначена. Впрочем, есть мнение, что ПЖТ несет защитную функцию в процессе отложения кальция, тем самым снижая атеросклеротический риск [20].

В ходе множественного пошагового линейного регрессионного анализа с исключением, проведенного в общей группе пациентов, нами были установлены следующие независимые детерминанты вариабельности общего объема ВЖТ: окружность талии (ОТ), содержание в крови ХС-ЛВП и адипонектина. Уровень значимости модели составил $p < 0,000001$, коэффициент детерминации $R^2 = 0,949$, остатки модели нормальны. Оценки коэффициентов в модели: для окружности талии – 1,39, для ХС-ЛВП – 0,26 и для адипонектина – 0,19. Как известно, ожирение ассоциируется не только со снижением содержания ХС-ЛВП, но и с изменением их качественного состава и снижением способности к эвакуации избытка холестерина из жировых депо [27], причем адипонектин оказывает непосредственное влияние на синтез ХС-ЛВП [28].

Далее мы проанализировали потенциальные корреляционные связи показателей сосудистого ремоделирования (значениями диаметра АА и тол-

щины ее стенки) с содержанием изученных сывороточных биомаркеров и со всеми количественными параметрами накопления абдоминальной ПЖТ и ВЖТ, включая общий объем абдоминальной ЖТ. Как оказалось, единственным показателем накопления ЖТ, имеющим корреляционную взаимосвязь с диаметром АА, являлась площадь абдоминальной ПЖТ L4–L5 ($r_s = 0,48$; $p = 0,0014$) (рис. 1). Диаметр АА демонстрировал также обратную корреляцию с уровнем HbA1c ($r_s = -0,40$; $p = 0,0359$) и постпрандиальной гликемией ($r_s = -0,40$; $p = 0,0273$).

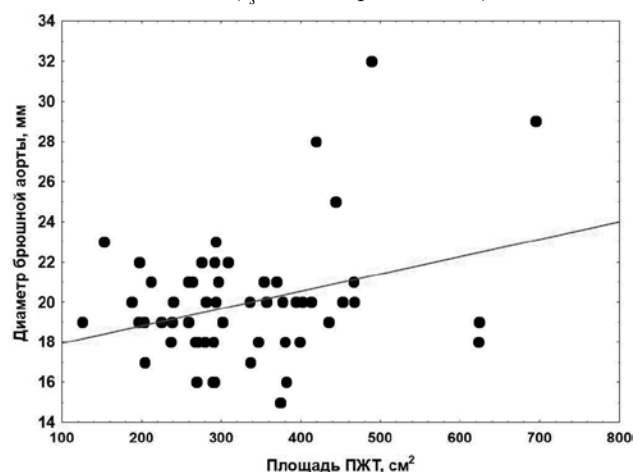


Рис. 1. Корреляционная связь между площадью ПЖТ на уровне L4–L5 и диаметром абдоминального отдела аорты, $r_s = 0,48$; $p = 0,0014$

Для сравнения клинко-антропометрических характеристик, количества абдоминальной ЖТ и уровней биомаркеров в зависимости от значений диаметра АА вся выборка пациентов была разделена на две группы – с нормальными значениями диаметра АА ($n = 32$, группа 1) и с ее дилатацией (наружный диаметр более 20 мм) [11] ($n = 23$, группа 2). Примеры МР-изображений нормальной и дилатированной брюшной аорты с соответствующими типичными вариантами распределения ПЖТ и ВЖТ представлены на рис. 2, 3.

В табл. 3 представлены результаты сравнения групп после проведенной коррекции на гендерные различия изученных показателей. Как видно, после коррекции на гендерные особенности пациенты группы 2 демонстрировали более высокие значения соотношения окружности талии к окружности бедер, более низкое содержание HbA1c и базальной глюкозы, а также тенденцию к меньшим значениям постпрандиальной гликемии, что определялось значимо меньшим числом пациентов с СД2. Кроме того, у пациентов группы 2 имела место тенденция к снижению уровня адипонектина, тогда как межгрупповых различий по индексу массы тела (ИМТ), а также по площади и объемам абдоминальных ПЖТ и ВЖТ не обнаружено.

Таблица 3

Клинические характеристики, антропометрические показатели ожирения, количественные параметры абдоминальной ЖТ и лабораторные данные пациентов в зависимости от значений диаметра АА				
Показатель	Общая группа, $n = 55$	Группа 1, $n = 32$	Группа 2, $n = 23$	p
Возраст, годы, $M \pm SM$	$61,7 \pm 6,7$	$60,4 \pm 7$	$61,1 \pm 6,9$	–
Пациенты с СД2, n (%)	23 (41,8)	17 (30,9)	6 (10,9)	0,04
Диаметр АА, мм, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	20 (18; 21,5)	19 (18; 20)	22,5 (21,5; 24)	<0,001
Толщина стенки АА, мм, $M \pm SM$	$2,7 \pm 0,8$	$2,4 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,9$	–
Индекс массы тела, $кг/м^2$	$29,6 (26,5; 34,5)$	$29,7 (26,5; 34,1)$	$31,8 (29,1; 37,7)$	–
Окружность талии, см, $M \pm SM$	$106,6 \pm 13,9$	$103,2 \pm 13,1$	$109,2 \pm 14,1$	–
Окружность бедер, см, $M \pm SM$	$108,8 \pm 9,9$	$108,2 \pm 9,1$	$109,2 \pm 10,1$	–
Окружность талии/окружность бедер, $M \pm SM$	$0,98 \pm 0,08$	$0,95 \pm 0,08$	$0,99 \pm 0,07$	0,02
Площадь ВЖТ, $см^2$, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	293 (240; 380)	140 (121; 251)	168 (133; 220)	–
Площадь ПЖТ, $см^2$, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	164 (128; 220)	271 (237; 347)	309 (281; 419)	–
Площадь ЖТ, $см^2$, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	487 (399,5; 599,5)	481 (411; 545)	503,3 (388; 623)	–
Общий объем ВЖТ, $см^3$, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	4288 (3146; 5496)	4220,5 (2824; 5181,5)	4 424 (3516,5; 5957,5)	–
Общий объем ПЖТ, $см^3$, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	4938 (3634; 6841)	4766,5 (3543; 6667,5)	4 888 (3653,5; 7842)	–
Общий объем ЖТ, $см^3$, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	9186,5 (7233; 12177,5)	9344,5 (7401; 11816)	8 982,5 (7065; 13344)	–
Глюкоза базальная, ммоль/л, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	5,7 (4,4; 10,6)	6,0 (5,1; 10,4)	5,6 (4,4; 8,8)	0,038
Глюкоза постприанальная, ммоль/л, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	7,5 (4,7; 14,96)	7,7 (5,6; 14,96)	7,1 (4,7; 12,7)	–
HbA1c, %, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	6,0 (5,5; 6,9)	6,5 (5,6; 7,2)	5,5 (5,5; 6,1)	0,003
Общий холестерин, ммоль/л, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	3,9 (3,3; 4,7)	4,1 (3,4; 4,7)	3,7 (3,3; 5,1)	–
ХС-ЛНП, ммоль/л, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	2,1 (1,4; 2,9)	2,1 (1,6; 2,8)	1,9 (1,4; 3,3)	–
ХС-ЛВП, ммоль/л, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	1,1 (0,9; 1,4)	1,1 (0,9; 1,4)	1,07 (0,9; 1,3)	–
Триглицериды, ммоль/л, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	1,5 (1,1; 1,9)	1,3 (0,9; 1,7)	1,49 (1,4; 1,9)	–
Адипонектин, мкг/мл, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	7,3 (2,5; 19,3)	7,6 (4,7; 11,9)	6,9 (6,2; 9,9)	–
Лептин, нг/мл, $Me (Q_{25\%}; Q_{75\%})$	19,1 (9,3; 34,3)	14,1 (8,6; 34,1)	23,3 (11,2; 34,3)	–

Примечание. Значение p приведены лишь для показателей, по которым были выявлены статистически значимые межгрупповые различия.

* в общей группе приведены показатели после коррекции на гендерные различия.

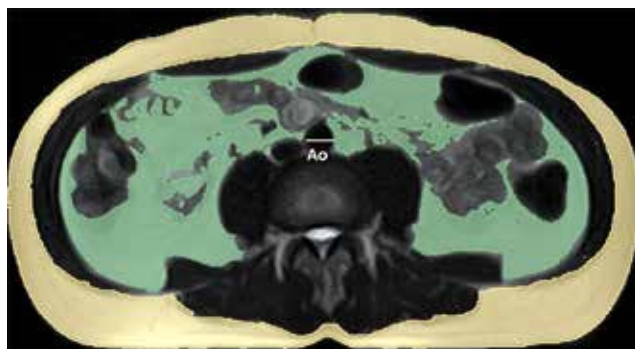


Рис. 2. МРТ абдоминальной ЖТ и брюшной аорты: мужчина, 55 лет, ИМТ 26, ОТ 98 см, глюкоза постприанальная 7,7 ммоль/л, HbA1c 5,7%; T2-взвешенные спин-эхо изображения в аксиальной плоскости; объем абдоминальной подкожной жировой ткани (желтый) 2 125 $см^3$, висцеральной жировой ткани (зеленый) 2 405 $см^3$, диаметр аорты 19 мм, стенка ровная без изменения МР-сигнала

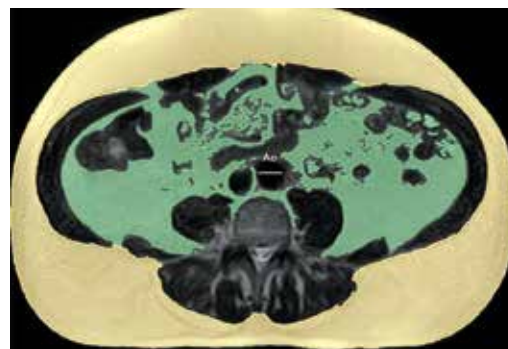


Рис. 3. МРТ абдоминальной ЖТ и брюшной аорты: мужчина, 63 года, ИМТ 31, ОТ 114 см, глюкоза постприанальная 7,7 ммоль/л, HbA1c 6,2%; T2-взвешенные спин-эхо изображения в аксиальной плоскости; объем абдоминальной подкожной жировой ткани (желтый) 5 284 $см^3$, висцеральной жировой ткани (зеленый) 4 127 $см^3$, диаметр аорты 25 мм, стенка ровная с мелкими очажками усиленного МР-сигнала

Наши результаты согласуются с данными других научных групп, которые показали, что для пациентов с манифестными нарушениями углеводного обмена свойственно уменьшение аортального ди-

аметра, что может быть опосредовано снижением деградации внеклеточного матрикса в условиях гипергликемии и увеличением жесткости сосудистой стенки [29].

Полученные нами данные показывают различный характер взаимосвязей подкожного и висцерального абдоминальных жировых депо с метаболическими параметрами. Именно объем абдоминальной ВЖТ тесно взаимосвязан с показателями липидного обмена и уровнем адипонектина, в то время как липидный и адипокиновый профили не имеют ассоциации с накоплением абдоминальной ПЖТ. Вместе с тем результаты нашего исследования впервые продемонстрировали, что площадь абдоминальной ПЖТ оказалась единственным параметром, ассоциированным с диаметром брюшной аорты, а потенциальным метаболическим фактором, вовлеченным в модуляцию процессов ее ремоделирования, по-видимому, можно рассматривать уровень гликемии. Факт корреляции диаметра брюшной аорты с площадью ПЖТ на уровне L4–L5 и отсутствие ассоциации параметров, отражающих процессы ремоделирования стенки АА, со значениями объема абдоминальной ЖТ нуждается в дальнейшем изучении.

Логично предположить, что общий объем абдоминальной ЖТ, наиболее полно отражая ее накопление, способен иметь взаимосвязи с состоянием системного метаболизма. Однако связать напрямую гормональную активность такого крупного эндокринного органа, как абдоминальная ЖТ, лишь с состоянием стенки брюшной аорты довольно сложно. К тому же, как известно, ПЖТ хуже регрессирует и является источником значительного количества клеточных медиаторов воспаления и повреждения сосудистой стенки. По этим причинам полученная нами зависимость диаметра брюшной аорты от площади ПЖТ на уровне L4–L5, по-видимому, наиболее точно отражает негативное влияние абдоминальной ЖТ на процессы сосудистого ремоделирования. В дальнейшем представляет особый интерес изучение потенциальных взаимосвязей между процессами ремоделирования стенки брюшной аорты и количественными параметрами периваскулярного аортального жира, а также проведение проспективных исследований, направленных на изучение механизмов, связывающих количественные характеристики подкожного и висцерального абдоминального ожирения с нарушениями метаболизма глюкозы (инсулина).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования установлены независимые детерминанты возрастания общего объема абдоминальной ВЖТ, которыми являются: увеличение окружности талии и снижение содержания в крови адипонектина и ХС-ЛВП. Наши данные демонстрируют существование взаимосвязи между процессами ремоделирования АА, накоплени-

ем абдоминальной ЖТ и нарушениями метаболизма глюкозы. Получены новые данные, предполагающие взаимосвязь расширения АА с увеличением количества абдоминальной ПЖТ независимо от пола. Между значениями диаметра АА, с одной стороны, и уровнем HbA1c и постпрандиальной гликемией – с другой, существуют обратные ассоциации.

Ограничениями исследования являются его одномоментный дизайн, небольшой объем и отсутствие возможности отдельного изучения количественных характеристик абдоминальной ЖТ и ее взаимосвязей у мужчин, женщин, пациентов с СД2 и ожирением. В силу отсутствия референсных значений для общего объема абдоминальной ВЖТ не было и возможности создания прогностической модели на этот показатель.

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu Z., Wu K.K.L., Jiang X., Xu A., Cheng K.K.Y. The role of adipose tissue senescence in obesity- and ageing-related metabolic disorders. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2020; 134 (2): 315–330. DOI: 10.1042/CS20190966.
2. Wajchenberg B.L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* 2000; 21 (6): 697–738. DOI: 10.1210/edrv.21.6.0415.
3. Freemantle N., Holmes J., Hockey A., Kumar S. How strong is the association between abdominal obesity and the incidence of type 2 diabetes? *Int. J. Clin. Pract.* 2008; 62 (9): 1391–1396. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2008.01805.x.
4. Mandviwala T., Khalid U., Deswal A. Obesity and cardiovascular disease: a risk factor or a risk marker? *Curr. Atheroscler. Rep.* 2016;18 (5): 21. DOI: 10.1007/s11883-016-0575-4.
5. Lind L., Strand R., Kullberg J., Ahlström H. Cardiovascular-related proteins and the abdominal visceral to subcutaneous adipose tissue ratio. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2021; 31 (2): 532–539. DOI: 10.1016/j.numecd.2020.09.010.
6. Marzetti M., Brunton T., McCreight L., Pearson E., Docherty S., Gandy S.J. Quantitative MRI evaluation of whole abdomen adipose tissue volumes in healthy volunteers – validation of technique and implications for clinical studies. *BJR*. 2018; 91 (1087): 108720180025. DOI: 10.1259/bjr.20180025.
7. Klingensmith J.D., Elliott A.L., Givan A.H., Faszold Z.D., Mahan C.L., Doedtman A.M., Fernandez-Del-Valle M. Development and evaluation of a method for segmentation of cardiac, subcutaneous, and visceral adipose tissue from Dixon magnetic resonance images. *J. Med. Imaging (Bellingham)*. 2019; 6 (1): 014004. DOI: 10.1117/1.JMI.6.1.014004.
8. Pescatori L.C., Savarino E., Mauri G., Silvestri E., Cariatì M., Sardanelli F., Sconfienza L.M. Quantification of visceral adipose tissue by computed tomography and magnetic resonance imaging: reproducibility and accuracy. *Radiol. Bras.* 2019; 52 (1): 1–6. DOI: 10.1590/0100-3984.2017.0211.
9. Cronin O., Liu D., Bradshaw B., Iyer V., Buttner P., Cunningham M., Walker P.J., Gollidge J. Visceral adiposity is not associated with abdominal aortic aneurysm presence and growth. *Vascular Medicine*. 2014; 19 (4): 272–280. DOI: 10.1177/1358863X14537883.

10. Golledge J., Clancy P., Jamrozik K., Norman P.E. Obesity, adipokines, and abdominal aortic aneurysm: Health in Men study. *Circulation*. 2007; 116 (20): 2275–2279. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.717926.
11. Erbel R., Aboyans V., Boileau C., Bossone E., Bartolomeo R.D., Eggebrecht H., Evangelista A., Falk V., Frank H., Gaemperli O., Grabenwöger M., Haverich A., Iung B., Manolis A.J., Meijboom F., Nienaber C.A., Roffi M., Rousseau H., Sechtem U., Sirnes P.A., Allmen R.S., Vrints C.J.; ESC Committee for Practice Guidelines. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2014; 35 (41): 2873–2926. DOI: 10.1093/eurheartj/ehu281.
12. Ахмеджанов Н.М., Бутрова С.А., Дедов И.И., Звенигородская Л.А., Кисляк О.А., Кошельская О.А., Кузнецова И.В., Кухарчук В.В., Литвин А.Ю., Медведева И.В., Мкртумян А.М., Мычка В.Б., Небиеридзе Д.В., Недогода С.В., Оганов В.Г., Огарков М.Ю., Перепеч Н.Б., Подзолков В.И., Сметник В.П., Сусеков А.В., Титов В.Н., Тюрина Т.В., Фурсов А.Н., Хирманов В.Н., Чазова И.Е., Чукаева И.И., Шестакова М.В., Шубина А.Т. Консенсус российских экспертов по проблеме метаболического синдрома в Российской Федерации: определение, диагностические критерии, первичная профилактика и лечение. *Профилактическая медицина*. 2010; 13 (5): 27–32.
13. Coolen B.F., Calcagno C., van Ooij P., Fayad Z.A., Strijkers G.J., Nederveen A.J. Vessel wall characterization using quantitative MRI: what's in a number? *MAGMA*. 2018; 31 (1): 201–222. DOI: 10.1007/s10334-017-0644-x.
14. Neeland I.J., Ayers C.R., Rohatgi A.K., Turer A.T., Berry J.D., Das S.R., Vega G.L., Khera A., McGuire D.K., Grundy S.M., de Lemos J.A. Associations of visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue with markers of cardiac and metabolic risk in obese adults. *Obesity*. 2013; 21 (9): E439–E447. DOI: 10.1002/oby.20135.
15. Груздева О.В., Бородинкина Д.А., Дылева Ю.А., Кузьмина А.А., Белик Е.В., Брель Н.К., Каретникова В.Н., Кашталап В.В., Бычкова Е.Е., Барбараш О.Л. Взаимосвязь толщины эпикардального жира и показателей адипофиброзного профиля при инфаркте миокарда. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (9): 533–540. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-9-533-540.
16. Reneau J., Goldblatt M., Gould J., Kindel T., Kastenmeier A., Higgins R., Rengel L.R., Schoyer K., James R., Obi B., Moosreiner A., Nicholson K., Sahoo D., Kidambi S. Effect of adiposity on tissue-specific adiponectin secretion. *PLoS One*. 2018; 13 (6): e0198889. DOI: 10.1371/journal.pone.0198889.
17. Frederiksen L., Nielsen T.L., Wraae K., Hagen C., Frystyk J., Flyvbjerg A., Brixen K., Andersen M. Subcutaneous rather than visceral adipose tissue is associated with adiponectin levels and insulin resistance in young men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94 (10): 4010–4015. DOI: 10.1210/jc.2009-0980.
18. Беспалова И.Д., Рязанцева Н.В., Калюжин В.В., Дзюман А.Н., Осихов И.А., Медянец Ю.А., Клиновский И.Ю., Мурашев Б.Ю., Афанасьева Д.С., Бычков В.А. Клинико-морфологические параллели при абдоминальном ожирении. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2014; 34 (4): 51–58.
19. Apoloni R.C., Zerati A.E., Wolosker N., Saes G.F., Wolosker M., Curado T., Puech-Leão P., De Luccia N. Analysis of the correlation between central obesity and abdominal aortic diseases. *Ann. Vasc. Surg.* 2019; 54: 176–184. DOI: 10.1016/j.avsg.2018.06.016.
20. Goldenberg L., Saliba W., Hayeq H., Hasadia R., Zeina A.R. The impact of abdominal fat on abdominal aorta calcification measured on non-enhanced CT. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (49): e13233. DOI: 10.1097/MD.00000000000013233.
21. Muenkaew M., Boonyasirinant T., Krittayaphong R. Correlation between aortic stiffness and visceral fat determined by magnetic resonance imaging. *J. Med. Assoc. Thai*. 2012; 95 (2): S117–S126.
22. Sutton-Tyrrell K., Newman A., Simonsick E.M., Havlik R., Pahor M., Lakatta E., Spurgeon H., Vaitkevicius P. Aortic stiffness is associated with visceral adiposity in older adults enrolled in the study of health, aging, and body composition. *Hypertension*. 2001; 38 (3): 429–433. DOI: 10.1161/01.hyp.38.3.429.
23. Mzayek F., Wang L.E., Relyea G., Yu X., Terry J.G., Carr J., Hundley G.W., Hall M.E., Correa A. Impact of bdominal Obesity on Proximal and Distal Aorta Wall Thickness in African Americans: The Jackson Heart Study. *Obesity (Silver Spring)*. 2019; 27 (9): 1527–1532. DOI: 10.1002/oby.22563.
24. Polat T.B., Urganci N., Caliskan K.C., Akyildiz B. Correlation of abdominal fat accumulation and stiffness of the abdominal aorta in obese children. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2008; 21 (11): 1031–1040. DOI: 10.1515/jpem.2008.21.11.1031.
25. Efe D., Aygün F., Acar T., Yildiz M., Gemici K. Investigation of relation between visceral and subcutaneous abdominal fat volumes and calcified aortic plaques via multislice computed tomography. *Vascular*. 2015; 23 (4): 396–402. DOI: 10.1177/1708538114552012.
26. Reijrink M., de Boer S.A., Spoor D.S., Lefrandt J.D., Lambers Heerspink H.J., Boellaard R., Greuter M.J., Borra R.J.H., Hillebrands J.L., Slart R.H.J.A., Mulder D.J. Visceral adipose tissue volume is associated with premature atherosclerosis in early type 2 diabetes mellitus independent of traditional risk factors. *Atherosclerosis*. 2019; 290: 87–93. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.09.016.
27. Wang H., Peng D.Q. New insights into the mechanism of low high-density lipoprotein cholesterol in obesity. *Lipids Health Dis.* 2011; 10: 176. DOI: 10.1186/1476-511X-10-176.
28. Yanai H., Yoshida H. Beneficial effects of adiponectin on glucose and lipid metabolism and atherosclerotic progression: mechanisms and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (5): 1190. DOI: 10.3390/ijms20051190.
29. Dereziński T., Zozulińska-Ziółkiewicz D., Uruska A., Dąbrowski M. Abdominal aorta diameter as a novel marker of diabetes incidence risk in elderly women. *Sci. Rep.* 2020; 10 (1): 13734. DOI: 10.1038/s41598-020-70736-1.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Наталье Юрьевне Марголис за помощь в статистической обработке результатов исследования.

Вклад авторов

Рюмшина Н.И. – анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание рукописи. Кошельская О.А. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Кологривова И.В. – анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания. Харитонов О.А. – анализ и интерпретация данных. Насекина К.А. – анализ и интерпретация данных. Усов В.Ю. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Рюмшина Надежда Игоревна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение рентгеновских и томографических методов диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6158-026X.

Кошельская Ольга Анатольевна, д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, отделение атеросклероза и хронической ИБС, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6679-1269.

Кологривова Ирина Вячеславовна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4537-0008.

Харитонов О.А., мл. науч. сотрудник, отделение атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2818-5882.

Насекина Кристина Алексеевна, студентка, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-0530-5703.

Усов Владимир Юрьевич, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения рентгеновских и томографических методов диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7978-5514.

(✉) **Кошельская Ольга Анатольевна**, e-mail: koshel@live.ru

Поступила в редакцию 14.04.2021

Подписана в печать 27.05.2021

Роль цитокинов в патогенезе инфекционных осложнений при хирургическом лечении механической желтухи желчнокаменного генеза

Смирнова О.В., Елманова Н.Г.

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера (НИИ МПС), Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН)
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить содержание цитокинов в сыворотке крови пациентов с механической желтухой желчнокаменного генеза до и после хирургического лечения в зависимости от развития послеоперационных осложнений.

Материалы и методы. Основная группа состояла из 70 пациентов с верифицированным на основании комплексного клинико-инструментального обследования диагнозом «механическая желтуха желчнокаменного генеза». У 54 больных послеоперационный период был без осложнений и у 16 больных выявлялись различные инфекционные осложнения в послеоперационном периоде. Контрольную группу составили 125 практически здоровых добровольцев. Концентрацию шести цитокинов (интерлейкина (IL) 2, IL-4, IL-18, IL-10, фактора некроза опухоли α (TNF α), интерферона γ (INF γ)) определяли с использованием набора реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) методом иммуноферментного анализа на иммуноферментном анализаторе Thermo Scientific (BioMerieux, Франция).

Результаты. Установлено наличие статистически значимо высоких концентраций провоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациентов с механической желтухой желчнокаменного генеза при поступлении относительно данных, полученных при исследовании сыворотки крови контрольной группы и больных с механической желтухой после операции. В послеоперационном периоде у пациентов с механической желтухой без осложнений статистически значимо снижаются показатели провоспалительных цитокинов и увеличивается IL-4, а при развитии инфекционных осложнений – статистически значимо увеличивается уровень провоспалительных цитокинов.

Заключение. В патогенезе механической желтухи важную роль играет локальный воспалительный процесс. Это подтверждается статистически значимыми изменениями изучаемых цитокинов. Установленное нарастание концентрации IL-4, обладающего противовоспалительной активностью, свидетельствует о его значимости в механизмах отсутствия развития инфекционных осложнений в послеоперационном периоде механической желтухи желчнокаменного генеза. Выявленное повышение в сыворотке крови уровня IL-18, TNF α , INF γ позволяет предположить их участие в патогенезе инфекционных осложнений в послеоперационном периоде у пациентов с механической желтухой желчнокаменного генеза.

Ключевые слова: цитокины, патогенез, послеоперационные осложнения, воспаление, механическая желтуха.

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

Источник финансирования. Исследование проводилось за счет средств государственного задания НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН.

Соответствие принципам этики. Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено НИИ МПС (протокол № 7 от 16.11.2012).

Для цитирования: Смирнова О.В., Елманова Н.Г. Роль цитокинов в патогенезе инфекционных осложнений при хирургическом лечении механической желтухи желчнокаменного генеза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 105–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-105-111>.

The role of cytokines in the pathogenesis of infectious complications in surgical treatment of obstructive jaundice of gallstone origin

Smirnova O.V., Elmanova N.G.

Research Institute of Medical Problems of the North (RI MPN), Federal Research Center “Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences” (FRC KSC SB RAS)
3G, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the content of cytokines in the blood serum of patients with obstructive jaundice of gallstone origin before and after surgical treatment, depending on the development of postoperative complications.

Materials and methods. The treatment group consisted of 70 patients with the diagnosis of obstructive jaundice of gallstone origin, verified following a comprehensive clinical and instrumental examination. In 54 patients, the postoperative period was uncomplicated, and in 16 patients, various infectious complications in the postoperative period were revealed. The control group consisted of 125 healthy volunteers. The concentration of six cytokines (interleukin (IL)-2, IL-4, IL-18, IL-10, tumor necrosis factor alpha (TNF α), and interferon gamma (INF γ)) was determined using reagent kits manufactured by Vector-Best LLC (Novosibirsk, Russian Federation) by enzyme-linked immunosorbent assay on the Thermo Scientific analyzer (BioMerieux, France).

Results. We identified significantly high concentrations of proinflammatory cytokines in the blood serum of patients with obstructive jaundice of gallstone origin upon admission, compared with the data obtained in the study of blood serum in the control group and in patients with obstructive jaundice after surgery. In the postoperative period in patients with obstructive jaundice without complications, the proinflammatory cytokines are significantly reduced and IL-4 is increased, whereas with the development of infectious complications, the level of proinflammatory cytokines is significantly elevated.

Conclusion. In the pathogenesis of obstructive jaundice, a local inflammatory process plays an essential role. This is confirmed by statistically significant changes in the studied cytokines. The established increase in the concentration of IL-4, which has anti-inflammatory activity, indicates its importance in the mechanisms underlying the absence of infectious complications in the postoperative period of obstructive jaundice of gallstone origin. The revealed increase in the levels of IL-18, TNF α , and INF γ in the blood serum of patients suggests their role in the pathogenesis of infectious complications in the postoperative period of obstructive jaundice of gallstone origin.

Key words: cytokines, pathogenesis, postoperative complications, inflammation, obstructive jaundice.

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 funding within the state assignment of RI MPN, FRC KSC SB RAS.

Conformity with the principles of ethics. All participants signed an informed consent to take part in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Research Institute of Medical Problems of the North (Protocol No. 7 or 16.11.2012).

For citation: Smirnova O.V., Elmanova N.G. The role of cytokines in the pathogenesis of infectious complications in surgical treatment of obstructive jaundice of gallstone origin. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 105–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-105-111>.

ВВЕДЕНИЕ

Механическая желтуха (МЖ) – острое клиническое состояние, обусловленное появлением препятствия для оттока желчи в двенадцатиперстную кишку [1]. МЖ доброкачественного генеза чаще вызвана желчнокаменной болезнью. В настоящее время многие исследователи указывают на факт увеличения количества пациентов с МЖ во многих странах мира, таким образом, МЖ является медико-социальной проблемой современного общества [2, 3]. Патогенез МЖ сложен, развитие локальной и системной воспалительной реакции, эндотоксикоза способствует деструкции и дезорганизации работы желудочно-кишечного тракта и требует неотложного хирургического пособия для восстановления проходимости желчных проходов и устранения всех осложнений [4–7]. Учитывая данные многочисленных научных исследований о ведущей роли в патогенезе МЖ деструктивно-воспалительного процесса, непосредственными участниками которого являются цитокины, можно предположить, что признаки дисбаланса продукции цитокинов оказывают влияние на течение послеоперационного периода у больных с МЖ. Данные таких исследований неоднозначны и малочисленны [8–10].

В результате инфицирования тканей в послеоперационном периоде у больного МЖ появляется сложная многокомпонентная последовательность реакций, направленная на изолирование и уничтожение патогенного организма, предотвращающая разрушение тканей, запуская процессы репарации и восстановление гомеостаза. Инициация и развитие воспалительного ответа контролируются провоспалительными цитокинами, продуцируемыми Т-клетками, нейтрофилами, макрофагами в ответ на бактериальный патоген. Клетки иммунной системы продуцируют интерлейкин (IL) 2, фактор некроза опухоли α (TNF α), интерферон γ (INF γ), IL-8. Провоспалительные цитокины выполняют защитную роль, стимулируя фагоцитарную и бактерицидную активность нейтрофилов и макрофагов, запуская антиген-специфический иммунитет, направленный на элиминацию патогена. Защитная роль провоспалительных цитокинов осуществляется в том случае, когда медиаторы работают локально в очаге воспаления, при этом избыточная системная гиперпродукция этих цитокинов способствует появлению бактериально-токсического шока и органных дисфункций. Для преодоления избыточных проявлений системного воспаления у больного МЖ включаются механизмы негативного контроля, обусловленные продукцией противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-10) и растворимых ингибиторов провос-

палительных цитокинов. Основой патогенеза инфекционных осложнений в послеоперационном периоде при МЖ является развитие цитокинового каскада, включающего провоспалительные и противовоспалительные медиаторы. Баланс между двумя противоположными группами определяет во многом течение и исход инфекционных осложнений при МЖ в послеоперационном периоде [11, 12].

Таким образом, изложенные выше данные позволяют сделать важное заключение об актуальности комплексного изучения содержания и баланса цитокинов до и после хирургического лечения больных с МЖ желчнокаменного генеза для понимания молекулярных механизмов развития послеоперационных осложнений и сформулировать цель настоящего исследования.

Цель работы – определить содержание цитокинов (IL-2, TNF α , INF γ , IL-18, IL-4 и IL-10) у больных с МЖ желчнокаменного генеза до и после хирургического лечения в зависимости от развития послеоперационных осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выполнения поставленной цели были обследованы 70 пациентов, средний возраст ($44,02 \pm 14,88$) лет с верифицированным на основании комплексного клинико-инструментального обследования диагнозом МЖ желчнокаменного генеза. Все больные поступили в хирургическое отделение клиники НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН. Всем пациентам диагноз выставлялся на основании стандартного обследования, включающего изучение анамнеза, клиники, развернутый анализ крови, биохимических показателей (уровень билирубина, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, общего белка и т.д.), инструментальное обследование (ультразвуковое исследование, магнитно-резонансная томография и т.д.).

В послеоперационном периоде у 16 из 70 больных (22,8%) развились воспалительные инфекционные осложнения, требующие дополнительной медикаментозной коррекции. В качестве контрольных значений определяемых в настоящем исследовании цитокинов в сыворотке крови были использованы данные, полученные у 125 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с группой обследованных больных, которые были отобраны при профилактических осмотрах в лечебно-профилактических учреждениях г. Красноярск. Обследование больных и практически здоровых людей проводилось с разрешения этического комитета НИИ медицинских проблем Севера (протокол № 7 от 16.11.2012), каждый участник подписал информи-

рованное согласие на обследование. В работе с обследованными пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые ст. 24 Конституции РФ и Хельсинкской декларацией, разработанной Всемирной медицинской ассоциацией.

Критериями исключения являлись: наличие туберкулеза, ВИЧ-инфекции, наркотической зависимости; отказ от участия в научном исследовании; возраст старше 80 лет. Материалом исследования выступали венозная кровь, которая дважды забиралась у пациента из локтевой вены до начала этиотропной терапии и спустя 7 сут после операционного лечения. Образцы сыворотки крови были заморожены и до проведения исследования хранились в холодильнике при -70°C . Однократно замороженная сыворотка крови размораживалась до комнатной температуры перед исследованием.

Концентрацию шести цитокинов: IL-2, IL-4, IL-18, IL-10, TNF α , INF γ – определяли с использованием набора реагентов (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) методом иммуноферментного анализа на иммуноферментном анализаторе Thermo Scientific (BioMerieux, Франция).

Концентрация цитокинов определялась в пг/мл [13, 14]. Анализ статистических данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Отсутствие нормального распределения признаков во всех полученных выборках обнаружено при использовании критерия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Статистическую значимость различий оценивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона для зависимых выборок и с помощью критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони для независимых выборок. Все данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1-Q_3]$. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании в сыворотке крови пациентов с неосложненной МЖ желчнокаменного генеза относительно данных, полученных у практически здоровых добровольцев, установлено наличие статистически значимо высоких концентраций цитокинов, имеющих провоспалительные свойства (табл. 1). Выявлено увеличение более чем в 60 раз концентрации TNF α у больных МЖ до операции относительно контрольной группы ($p = 0,0006$), после операции показатель снижался. Это указывает на повышение естественной цитотоксичности моноцитов, макрофагов и NK-клеток [15, 16]. Он выполняет важную роль при воспалении, способствует адгезии гранулоцитов к эндотелию сосудов, ускоряет

трансандотелиальную миграцию лейкоцитов в очаг воспаления, повышает фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов, реализуя развитие завершённого фагоцитоза [17].

Концентрация INF γ увеличена у всех больных МЖ с неосложненным послеоперационным периодом ($p = 0,001$), при этом статистически значимые различия выявляются у больных МЖ до операции относительно контрольной группы. Его образование и секреция возникают после повторной реакции предварительно сенсibilизированных лимфоцитов с антигеном. Интерферон γ стимулирует клетки иммунной системы для развития иммунного ответа.

Обнаружена интенсивная гиперпродукция цитокина IL-18 у больных МЖ до и после хирургического лечения ($p = 0,001$), наиболее выраженное увеличение показателя выявляется у больных до патогенетического лечения МЖ желчнокаменного генеза. Под воздействием IL-18 увеличивается антимикробная резистентность всего организма [18].

Гиперпродукция провоспалительных цитокинов при МЖ доказывает наличие локального и системного воспалительного процесса, который утяжеляет клиническое течение болезни. После проведенного хирургического лечения концентрация провоспалительных цитокинов снижается, но не достигает нормальных контрольных значений, доказывая, что сама операция является хирургической травмой, поддерживающей воспалительный процесс в организме [19–21].

Показано увеличение содержания цитокина, регулятора клеточного антигенспецифического иммунного ответа, IL-2. Медиана концентрации IL-2 в 7 раз выше у пациентов с МЖ до операции и 5 раз больше после операции относительно контрольной группы. Активируя различные сигнальные пути, он вызывает пролиферацию и активацию Т-клеток для осуществления иммунного ответа.

При оценке содержания цитокинов, повышение которых связано с активацией II типа воспаления, установлено статистически значимое снижение медианы концентрации IL-4 и IL-10 у пациентов с МЖ до этиотропного лечения относительно контрольной группы. Таким образом, у больных с МЖ желчнокаменного генеза до оперативного лечения превалирует I тип воспаления. В динамике после операционного лечения у больных с МЖ повышается концентрация цитокина IL-4 относительно контрольной группы, вероятно, выявленные изменения содержания IL-4 не исключают его способность участвовать в развитии соединительной ткани, фиброзированию в месте хирургической травмы. Не исключается роль провоспалительных цитокинов в ограничении мест-

ного воспаления и предотвращения развития системных явлений [22, 23].

У 16 пациентов с МЖ желчнокаменного генеза в послеоперационном периоде возникли инфекционные осложнения (табл. 2). При оценке содержания цитокинов установлено наличие статистически значимо более высокой концентрации $\text{TNF}\alpha$, $\text{INF}\gamma$, IL-18, обладающих провоспалительными свойствами, исходно и в послеоперационном периоде. При этом медиана концентрации противовоспалительных цитокинов оставалась на низком уровне. Острая гиперпродукция уровня провоспалительных цитокинов в кровотоке способствует развитию системной воспалительной реакции, называемой цитокиновым штормом, с соответствующими клиническими проявлениями, для коррекции которого требуется вовлечение всех органов и систем организма при выраженном нарушении гемостаза. Длительная патологически высокая концентрация провоспалительных цитокинов вызывает серьезные септические осложнения, септический шок и гибель пациента [17, 24, 25]. Таким образом, в состояниях, когда концентрация цитокинов длительное время превышает физиологические значения, изменяется их функция с защитной на патологиче-

скую [15, 26]. Цитокины вследствие неадекватной гиперпродукции оказывают сами гистодеструктивное действие, вызывая состояние полиорганной недостаточности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило установить, что в сыворотке крови пациентов с МЖ желчнокаменного генеза до операции выявляются статистически значимо более высокие концентрации цитокинов, обладающих провоспалительной активностью (IL-2, $\text{TNF}\alpha$, $\text{INF}\gamma$, IL-18), что свидетельствует о значимости в патогенезе МЖ желчнокаменного генеза воспалительного процесса I типа. Установлено, что в сыворотке крови у пациентов с МЖ и неосложненным послеоперационным периодом наблюдается статистически значимо более высокая концентрация IL-4, действие которого направлено на компенсацию последствий развития воспалительного процесса, восстановлению поврежденной ткани гепатобилиарной системы; выявляется сочетанный I и II типы воспаления. Выявленная высокая концентрация $\text{TNF}\alpha$, $\text{INF}\gamma$, IL-18 в послеоперационном периоде МЖ позволяет предположить их участие в развитии инфекционных осложнений.

Таблица 1

Содержание цитокинов в сыворотке крови у пациентов с МЖ и неосложненным послеоперационным периодом в динамике, пг/мл						
Показатель	Контрольная группа, $n = 125$ (1)		Больные МЖ до операции, $n = 54$ (2)		Больные МЖ после операции, $n = 54$ (3)	
	Me	Q_1-Q_3	Me	Q_1-Q_3	Me	Q_1-Q_3
IL-2	1,1	0,5–3,05	7,25	4,72–9,00	5,5	3,0–7,3
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,001$	
$\text{TNF}\alpha$	0,54	0,38–0,88	35,7	4,82–86,5	8,1	3,1–51
			$p_{1-2} = 0,0006$		$p_{1-3} = 0,001$	
$\text{INF}\gamma$	0,6	0,22–4,0	9,2	2,8–21,83	7,3	2,7–8,1
			$p_{1-2} = 0,001$			
IL-18	1,6	0,1–2,1	90	56,9–245,2	61,7	53,88–99,3
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,001$	
IL-4	2,15	0,6–4,8	0,01	0,009–2,2	38,4	4,3–377,6
			$p_{1-2} = 0,003$		$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	
IL-10	14,8	8,65–26,85	2,6	1,1–5,4	2,1	1,05–2,75
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,04$	

Примечание. Статистически значимые различия между контрольной группой и группой больных МЖ до операции – p_{1-2} ; после операции – p_{1-3} . Статистически значимые различия между группой больных МЖ после операции и группой больных МЖ до операции – p_{2-3} (здесь и в табл. 2).

Таблица 2

Концентрация цитокинов в сыворотке крови пациентов с МЖ с осложненным послеоперационным периодом в динамике, пг/мл						
Показатель	Контрольная группа, $n = 125$ (1)		Больные МЖ до операции, $n = 16$ (2)		Больные МЖ после операции, $n = 16$ (3)	
	Me	Q_1-Q_3	Me	Q_1-Q_3	Me	Q_1-Q_3
IL-2	1,1	0,5–3,05	9,43	6,12–11,7	12,26	7,96–15,21
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,001$	

Окончание табл. 2

Показатель	Контрольная группа, n=125 (1)		Больные МЖ до операции, n = 16 (2)		Больные МЖ после операции, n = 16 (3)	
TNF α	0,54	0,38–0,88	46,41	6,27–112,5	60,33	8,15–146,19
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,001$	
INF γ	0,6	0,22–4,0	12,0	3,64–28,4	15,6	4,73–36,9
			$p_{1-2} = 0,001$			
IL-18	1,6	0,1–2,1	117	73,97–318,8	80,21	70,04–129,1
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,0006$	
IL-4	2,15	0,6–4,8	0,013	0,012–2,86	0,017	0,015–2,9
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,00001$	
IL-10	14,8	8,65–26,85	2,2	0,19–4,4	0,9	0,85–2,75
			$p_{1-2} = 0,001$		$p_{1-3} = 0,001$	

ЛИТЕРАТУРА

- Гальперин Э.И. Классификация тяжести механической желтухи. *Анналы хирургической гепатологии*. 2012; 2 (17): 26–33.
- Воронова Е.А., Пахомова Р.А. Современные представления о классификации механической желтухи. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 6: 298.
- Калаханова Б.Х., Чеченин Г.М. Современный подход к выбору сроков эндобилиарного протезирования у больных механической желтухой опухолевого генеза. *Клиническая медицина*. 2014; 6 (4): 97–101.
- Даденко Б.М., Борисенко В.Б. Механическая желтуха, острый холангит, билиарный сепсис: их патогенетическая взаимосвязь и принципы дифференциальной диагностики. *Новости хирургии*. 2013; 21 (5): 31–39.
- Кошевский П.П., Алексеев С.А., Бовтук Н.Я., Картун Л.В. Коррекция эндотоксикоза и дисбаланса противовоспалительных цитокинов в раннем послеоперационном периоде у пациентов с механической желтухой и желчной гипертензией неопухолевой этиологии. *Российский медицинский журнал*. 2014; 74 (1): 74–78.
- Рутенберг Г.М., Румянцев Г.М., Протасов А.В. Эффективность применения малоинвазивных оперативных доступов при хирургическом лечении холедохолитиаза. *Эндоскопическая хирургия*. 2008; 14 (1): 3–8.
- Kint J.F., van den Bergh J.E., van Gelder R.E. Percutaneous treatment of common bile duct stones: results and complications in 110 consecutive patients. *Dig. Surg.* 2015; 32 (1): 9–15. DOI: 10.1159/000370129
- Мостюк Е.М., Дергач В.Я., Кривенцов М.А., Шелепа Е.Д., Сегаль Д.Ф. Прогноз и профилактика послеоперационной печеночной недостаточности при механической желтухе. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2015; 2 (18): 48–51.
- Гаджиев Дж.Н., Тагиев Э.Г., Гаджиев Н.Дж. Состояние цитокинового статуса у больных с механической желтухой доброкачественного генеза. *Хирургия*. 2015; 5: 56–58.
- Воронова А.А., Винник Ю.С., Пахомова Р.А. Хирургическая тактика доброкачественной хирургической желтухи в зависимости от ее степени тяжести. *Фундаментальные исследования*. 2015; 1(8): 1554–1557.
- Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3 (2): 16–22.
- Хаитов Р.М. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016: 716.
- Смирнова О.В., Титова Н.М., Каспаров Э.В., Елманова Н.Г. Характеристика цитокиновой регуляции у больных с синдромом механической желтухи доброкачественного, доброкачественного опухолевого и злокачественного генезов. *В мире научных открытий*. 2016; 11 (83): 27–41.
- Смирнова О.В., Титова Н.М., Манчук В.Т., Елманова Н.Г. Особенности цитокиновой регуляции у больных механической желтухой различного генеза. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 4: 425.
- Безбазов Х.С., Осмонов Т.А., Безбазов Б.Х., Раимкулов А.Э., Ермаков Т.А. Результаты чрескожных чреспеченочных эндобилиарных вмешательств в хирургии желчных путей. *Анналы хирургической гепатологии*. 2006; 11 (4): 44–49.
- Xu F., Dai C., Peng S., Zhao Y., Jia C.-J., Xu Y.-Q. Preconditioning with glutamine protects against ischemia/reperfusion-induced hepatic injury in rats with obstructive jaundice. *Pharmacology*. 2014; 93 (3-4): 155–165. DOI: 10.1159/000360181.
- Chen J., Wu F., Long Y., Yu W. Glutathione supplementation attenuates oxidative stress and improves vascular hyporesponsiveness in experimental obstructive jaundice. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2015; 486148. DOI: 10.1155/2015/486148.
- Смирнова О.В., Цуканов В.В., Титова Н.М., Губанов Б.Г. Особенности цитокиновой регуляции у больных механической желтухой злокачественного генеза. *Медицинская иммунология*. 2018; 20 (1): 135–144. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-1-135-144.
- Тарасенко С.В., Натальский А.А., Никифоров А.А. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков, TNF α и IL-4 у больных механической желтухой. *Цитокины и воспаление*. 2014; 13 (1): 51–59.
- Jones C., Badger S., Black J. The use of antiendotoxin peptides in obstructive jaundice endotoxemia. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 24 (3): 248–254. DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834dfb8c.
- Гальперин Э.И., Ахаладзе Г.Г., Ветшев П.С., Дюжева Т.Г. Дифференциальный подход к применению минимально инвазивных методов лечения опухолевой механической желтухи. *Анналы хирургической гепатологии*. 2019; 24 (2): 10–24. DOI: 10.16931/1995-5464.2019210-24.
- Беляев А.Н., Хвостунов С.И., Беляев С.А., Костин С.В. Метаболическая коррекция церебральных нарушений при

- обтурационном холестазе (экспериментальное исследование). *Анналы хирургической гепатологии*. 2016; 21 (2): 86–97.
23. Ветшев П.С., Стойко Ю.М., Левчук А.Л., Бардаков В.Г. Возможности современных методов диагностики и обоснование лечебной тактики при механической желтухе. *Вестник хирургической гастроэнтерологии*. 2008; 2: 24–32.
24. Артемов А.В., Розиков Ю.Ш., Буланов Н.Н., Чеминаева Н.Р. Эффективность новых способов диагностики и лечения при заболеваниях внепеченочных желчных протоков. *Медицинская визуализация*. 2006; 6: 60–64.
25. Badger S.A., Jones C. Cytokine response to portal endotoxaemia and neutrophil stimulation in obstructive jaundice. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 24 (1): 25–32. DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834b0dd3.
26. Крышен В.П., Рязанов Д.Ю., Полудов А.А., Задорожный В.В., Рубан А.Г. Лечебно-диагностическая тактика у больных с синдромом обтурационной желтухи. *Kharkiv Surgical School*. 2013; 5 (62): 19–25.

Сведения об авторах

Смирнова Ольга Валентиновна, д-р мед. наук, доцент, зав. лабораторией клинической патофизиологии, НИИ МПС – ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск. ORCID 0000-0003-3992-9207.

Елманова Нина Георгиевна, мл. науч. сотрудник, лаборатория клинической патофизиологии, НИИ МПС – ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск.

(✉) **Смирнова Ольга Валентиновна**, e-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Поступила в редакцию 17.04.2020

Подписана в печать 29.09.2020

Частота встречаемости и клинические характеристики сезонного аффективного расстройства у студентов-медиков старшего курса обучения

Украинцев И.И.¹, Счастный Е.Д.², Бохан Н.А.^{1,2}

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634055, г. Томск, Московский тракт, 2

² Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (ТНИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение частоты встречаемости, клинических особенностей и прогнозирования развития сезонного аффективного расстройства (САР) у студентов-медиков 6-го курса обучения.

Материалы и методы. В скрининге на обнаружение САР с применением опросника для оценки сезонного паттерна (SPAQ, 1987) участвовали 119 студентов последнего курса медицинского университета, в том числе 78 представителей женского пола (65,5%) и 41 – мужского (34,5%) ($p = 0,001$). У женщин возраст составил 23 (22; 23) года, у мужчин – 23 (22; 24). Статистическую обработку проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона и метода ранговой корреляции Спирмена (r_s).

Результаты. Получены данные о распространенности аффективных расстройств с сезонным паттерном у студентов-медиков: САР – 9,2%, суб-САР – 13,5%, психологическая ундуляция восприятия времен года (ПУВВГ) – 16,8%. Количество студентов, не проявляющих сезонной ундуляции шести основных характеристик, фиксируемых опросником SPAQ, составляло 72 (60,5%) ($p = 0,001$). Выявлены статистически значимые различия более высокого уровня медианы балла по общей сезонной шкале опросника SPAQ в случае САР по сравнению с ПУВВГ обследуемых как с учетом фактора пола, так и с его отсутствием ($p = 0,001$). Применение бинарной логистической регрессии позволило определить группы студентов с наличием или отсутствием САР по шкале SPAQ. Полученные данные определили величину вклада следующих факторов: пол, сезонность, масса тела и количества часов сна в сутки весной.

Заключение. Проведенное исследование позволило получить логистическую регрессионную модель, позволяющую прогнозировать наибольшую вероятность развития САР.

Ключевые слова: сезонное аффективное расстройство, студенты медицинского университета, опросник SPAQ.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания (бюджетное финансирование в рамках комплексной темы НИР АААА-А19-119020690013-2 «Комплексное исследование клинко-психопатологических закономерностей и патобиологических механизмов формирования и прогрессивности социально значимых психических и поведенческих расстройств с разработкой инновационных методов ранней диагностики, персонализированных стратегий терапии и профилактики»).

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ (протокол № 115 от 26.11.2018).

Для цитирования: Украинцев И.И., Счастный Е.Д., Бокхан Н.А. Частота встречаемости и клинические характеристики сезонного аффективного расстройства у студентов-медиков старшего курса обучения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 112–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-112-119>.

Incidence rate and clinical characteristics of seasonal affective disorders in senior medical students

Ukrainets I.I.¹, Schastnyy E.D.², Bokhan N.A.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634055, Russian Federation

² Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the incidence rate, clinical features, and prognosis of seasonal affective disorder (SAD) in senior (6th-year) medical students.

Materials and methods. SAD screening using the Seasonal Pattern Assessment Questionnaire (SPAQ, 1987) included 119 undergraduate medical students. 78 students were females (65.5%) and 41 – males (34.5%) ($p = 0.001$). The average age of women was 23 (22; 23) years, the average age of men – 23 (22; 24) years. Statistical processing was performed using the Mann – Whitney U-test, Pearson's χ^2 test, and Spearman's rank correlation coefficient (r_s).

Results. The data on the prevalence of affective disorders with a seasonal pattern in medical students were obtained: SAD – 9.2%, sub-SAD – 13.5%, psychological undulation of season perception (PUSP) – 16.8%. The number of students who did not exhibit seasonal undulation of the six main characteristics recorded by the SPAQ was 72 (60.5%) ($p = 0.001$). There were statistically significant differences in the higher median Global Seasonality Score of the SPAQ for SAD compared with PUSP, both with and without account of the gender factor ($p = 0.001$). The use of a binary logistic regression model made it possible to identify groups of students with or without SAD according to the SPAQ. The data obtained determined the contribution of the following factors: gender, seasonality, body weight, and the number of sleep hours per day in spring.

Conclusion. The study made it possible to obtain a logistic regression model that allowed to predict the greatest likelihood of developing SAD.

Key words: seasonal affective disorder, medical students, Seasonal Pattern Assessment Questionnaire (SPAQ).

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 carried out within the state assignment (budgetary funding within the comprehensive research topic AAAA-A19-119020690013-2 “A comprehensive study of clinical and psychopathological patterns and pathobiological mechanisms of the formation and progression of socially sensitive mental and behavioral disorders with the development of innovative methods for early diagnosis, personalized treatment, and prevention strategies”).

Conformity with the principles of ethics. All participants of the study signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 115 of 26.11.2018).

For citation: Ukrainets I.I., Schastnyy E.D., Bokhan N.A. Incidence rate and clinical characteristics of seasonal affective disorders in senior medical students. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 112–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-112-119>.

ВВЕДЕНИЕ

Этиология и патофизиология сезонного аффективного расстройства (САР) связана с определенным временем года и интенсивностью светового потока. Многолетние клинико-биологические исследования САР позволяют выделить характерные особенности, включающие повторяющиеся аффективные эпизоды, быструю реакцию на нефармакологическое лечение, специфические нейровегетативные особенности и пищевые паттерны [1]. В последние годы получены новые результаты, объясняющие основные биологические гипотезы САР с акцентом на циркадные ритмы, нейротрансмиттеры и молекулярную генетику. Обсуждаются интегративные вопросы изучения САР, включая исследовательскую ценность гипотезы двойной уязвимости, которая концептуализирует сезонность как дименсиональную пространственную конструкцию и важность изучения эндофенотипов. Хронотипы определяются как индивидуальное предпочтение активности и сна в течение суток. Субъекты утреннего и вечернего типа различаются по времени цикла «сон – бодрствование», времени пиковой производительности и ощущению после пробуждения.

Циркадианная дисрегуляция имеет важное значение в развитии аффективных расстройств и широко распространена среди лиц с расстройствами настроения [2]. Изменения сна являются наиболее значимым диагностическим критерием данных расстройств. Пациенты с биполярным аффективным расстройством (БАР) обычно имеют более нерегулярный сон и соответствующие социальные паттерны, патологическую секрецию мелатонина и кортизола. Многочисленные исследования о влиянии хронотипа на симптомы настроения имеют противоречивые результаты. Вечерний хронотип часто ассоциируется с аффективной патологией. Большое когортное исследование показало, что депрессивные и тревожные расстройства связаны с вечерним суточным ритмом с учетом соответствующих социально-демографических, клинических параметров, соматического здоровья и факторов, обусловленных сном [3]. Вечерняя активность чаще встречается у взрослых пациентов с БАР. Исследование М.С. Melo и соавт. (2020) показало, что вечерний хронотип предсказывает плохой прогноз для БАР, что подтверждает необходимость лечения нарушений суточного ритма даже в период эутимии, чтобы улучшить качество жизни пациента и предотвратить развитие аффективных эпизодов [2].

У молодых респондентов сезонная изменчивость симптомов легкой депрессии показана в канадской

популяции [4]. Более высокие уровни депрессивных симптомов были зарегистрированы в зимние месяцы по сравнению с летними.

А.В. Жедик и соавт. [5] при изучении 81 студента медицинского университета всех курсов (средний возраст $18,8 \pm 0,8$ лет) выявили признаки САР у 40 лиц (женщин – 37, мужчин – 3). Авторы связывают данное расстройство с высокими умственными и психологическими нагрузками. В другом исследовании ими была показана большая распространенность САР у студентов женского пола, значительная роль в развитии данного расстройства отводится особенностям характера и темперамента студентов [6]. Влияние фактора пола продемонстрировано и в исследовании, показавшем превалирование тревожных нарушений у студентов женского пола [7].

Цель настоящего исследования – изучение частоты встречаемости, клинических особенностей и прогнозирования развития сезонного аффективного расстройства у студентов-медиков 6-го курса обучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены студенты-медики старшего курса обучения. Критериями включения в исследование являлись: возраст 18–30 лет, способность дать письменное информированное согласие. Критериями невключения являлись: наличие нарушений органических, неврологических и тяжелых соматических расстройств, приводящих к органной недостаточности; отказ от участия в исследовании. Исследование осуществлено в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации, разработанными Всемирной медицинской ассоциацией, «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266.

В скрининге на обнаружение САР с применением опросника для оценки сезонного паттерна (SPAQ, 1987) участвовали 119 студентов последнего курса медицинского университета, в том числе 78 представителей женского пола (65,5%) и 41 – мужского (34,5%) ($p = 0,001$). У женщин возраст составил 23 (22; 23) года, у мужчин – 23 (22; 24).

При изучении распространенности суб-САР и САР используется SPAQ (Seasonal Pattern Assessment Questionnaire) [8] – опросник для оценки сезонного паттерна. В нашей стране была разработана модифицированная версия этого опросника [9], которая и использовалась в данном исследовании. Для диагно-

за CAP необходимо иметь более 11 баллов по общей сезонной шкале с оценкой проблемы как выраженной или тяжелой. Диагностика субсиндромальных форм CAP определяется наличием 11 и более баллов по общей сезонной шкале при отсутствии проблемы или 9–10 баллов при проблеме выраженной или тяжелой степени. Отсутствие CAP определяется в случае следующих вариантов: отсутствия проблемы; при оценке проблемы как умеренной и наличии менее 9 баллов по общей сезонной шкале. Вся обследованная группа была оценена с точки зрения удельного веса следующих четырех основных категорий: 1 – наличие CAP, 2 – отсутствие CAP, 3 – психологическая ундуляция восприятия времен года (ПУВВГ), 4 – субсиндромальное CAP.

Отнесение обследованного к какой-либо категории на основании скринингового исследования опиралось на совокупную балльно-категориальную оценку. Как представлено в тексте SPAQ, данный опросник включает в себя шесть вопросов по поводу сезонных изменений сна, активности, настроения, массы тела, аппетита и энергичности, на основании которых вычисляется балл по общей сезонной шкале (Global Seasonal Scale (GSS)), где каждому вопросу соответствует ответ, оцениваемый в диапазоне 0–4 балла. Таким образом, максимально возможный результат может составлять 24 балла. В опросник SPAQ также включен вопрос о трудностях, являющихся следствием этих изменений (сезонность как проблема), подразумевающий один из следующих ответов: отсутствие проблемы, умеренная, выраженная и тяжелая проблема.

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета стандартных программ IBM SPSS Statistics 26. Статистическое представление количественных данных было выполнено с вычислением медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Качественные данные представлены частотными показателями (n (%)). Статистическую обработку проводили с использованием метода ранговой корреляции Спирмена (r_s). Анализ качественных признаков проводился через исследование их частот посредством таблиц сопряженности с использованием критерия согласия χ^2 Пирсона.

Для построения бинарной логистической модели использовался метод пошагового включения. Рассчитывалось значение весовых коэффициентов (B), их стандартная ошибка (SE) и уровень значимости (p). Для оценки качества прогностической модели, построенной на основании алгоритма логистической регрессии, применялся ROC-анализ, проводился расчет чувствительности (Se), специфичности (Sp) и площади под кривой (AUC). Оценка значений спец-

ифичности и чувствительности позволила проверить адекватности модели.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Студенты достаточно часто недооценивают проблему, которую им доставляют сезонные изменения настроения. Необходимым требованием для диагностики CAP является обозначение сезонных колебаний, по крайней мере, как «выраженной» проблемы и 11 баллов и более по общей сезонной шкале. С учетом данной категоризации изучена встречаемость CAP у студентов-медиков старшего курса обучения и получены следующие результаты (рис. 1).

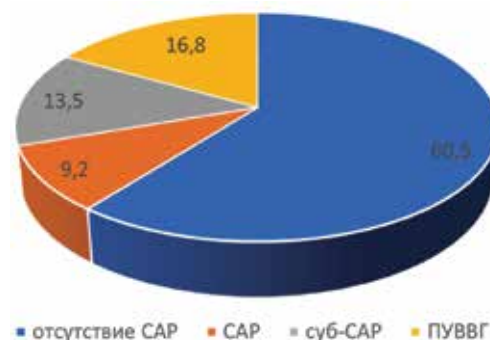


Рис. 1. Частота встречаемости CAP, суб-CAP и психологической ундуляции восприятия времен года

Из данного рисунка видно, что распространенность CAP составляет 9,2% (11 человек), суб-CAP – 13,5% (16 человек), психологической ундуляции восприятия времен года – 16,8% (20 человек). Количество студентов, не проявляющих сезонной ундуляции шести основных характеристик, фиксируемых опросником SPAQ, составляла 60,5% (72 человека).

Следующий рисунок (рис. 2) иллюстрирует частоту встречаемости CAP, суб-CAP, психологической ундуляции восприятия времен года в зависимости от пола.

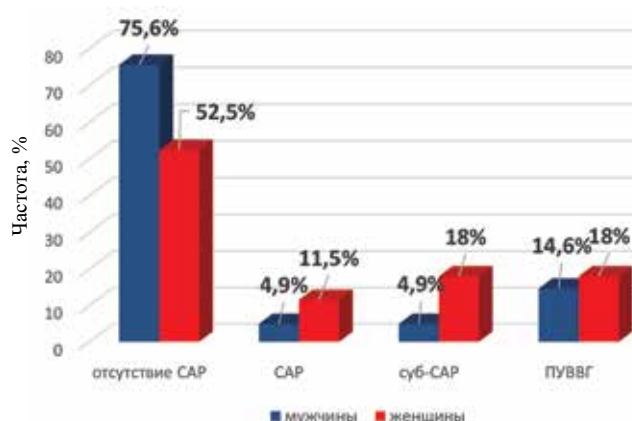


Рис. 2. Частота встречаемости CAP, суб-CAP, психологической ундуляции восприятия времен года с учетом пола

Данный рисунок показывает, что при оценке различий в выделенных группах изучаемого расстройства с учетом пола у женщин удельный вес САР (11,5%), суб-САР (18,0%) и ПУВВГ (18,0%) различается по сравнению с соответствующими показателями (4,9; 4,9 и 14,6%) у мужчин ($p = 0,034$, критерий χ^2 Пирсона).

Далее был проведен статистический анализ корреляций между различными переменными с целью выделения наиболее значимых соотношений между ними. При рассмотрении соотношения сезонной ундуляции шести основных характеристик у пациентов с САР, определяемых опросником SPAQ, наиболее тесная прямая корреляционная связь на значимом уровне ($p = 0,03$) отмечена между энергичностью и социальной активностью ($r_s = 0,74$). У пациентов с САР и суб-САР выявлена корреляционная взаимосвязь между повышением аппетита и продолжительностью сна ($r_s = 0,52$), а также между увеличением аппетита ($r_s = 0,52$) (предпочтение к углеводистой пище) и весом тела в осенне-зимние месяцы (сентябрь и январь). Полученные данные показывают практическую значимость для диагностики САР, суб-САР уже на этапе скрининга именно сезонной ундуляции вышеуказанных шести основных характеристик по общей сезонной шкале SPAQ.

Получены статистически значимые взаимосвязи ($p < 0,05$) между итоговой оценкой по общей сезонной шкале и двумя характеристиками, оцениваемыми по этой шкале: с продолжительностью сна ($r_s = 0,74$) и массой тела ($r_s = 0,82$).

Также анализировалась оценка сезонных вариаций шести базисных характеристик (продолжительность сна, социальная активность, настроение (общее самочувствие), масса тела, аппетит, энергичность) со степенью выраженности данной проблемы (отсутствие проблемы, умеренная, выраженная и тяжелая проблема) и с учетом пола (рис. 3).

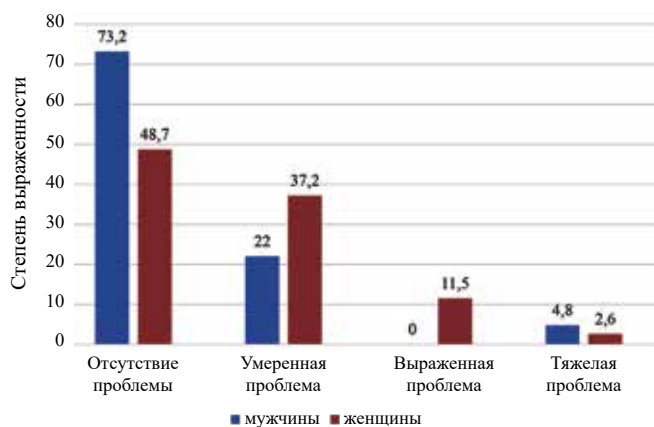


Рис. 3. Влияние фактора пола на оценку проблемы сезонности настроения и поведения

При оценке различий в выделенных группах у женщин удельный вес умеренной проблемы статистически значимо встречается чаще, чем у мужчин (37,2 и 22,0% соответственно; $p = 0,046$, критерий χ^2 Пирсона). В противоположность этому, у мужчин удельный вес отсутствия проблемы статистически значимо встречается чаще, чем у женщин (73,2 и 48,7% соответственно; $p = 0,01$, критерий χ^2 Пирсона).

При отнесении обследуемых без учета фактора пола к суб-САР, при оценке сезонности как проблемы получена корреляционная взаимосвязь с характеристикой, измеряемой по общей сезонной шкале SPAQ – настроение ($r_s = -0,51$). При отнесении обследуемых без учета фактора пола к категории имеющих психологическую ундуляцию, при оценке сезонности как проблемы корреляционная взаимосвязь получена с другими характеристиками, измеряемыми по общей сезонной шкале SPAQ: продолжительность сна ($r_s = 0,60$) и снижение аппетита ($r_s = 0,46$).

Для выбора группы факторов, определяющих возможность отнесения студентов к группе с наличием или отсутствием САР по шкале SPAQ, применялся регрессионный анализ в виде бинарной логистической регрессии. Создана логистическая регрессионная модель, позволяющая прогнозировать наибольшую вероятность развития САР. Интерпретация результатов определяется значениями коэффициентов регрессии и их уровнем значимости. Из полученных данных при применении логистической регрессии определена величина вклада следующих факторов. Показатели пола: $B = 1,615$; $SE = 0,760$; $Wald = 4,511$ (статистика Вальда); $Sig = 0,034$ (уровень значимости); $Exp(B) = 5,029$. Показатели сезонности как проблема: $B = 2,345$; $SE = 0,625$; $Wald = 14,070$; $Sig = 0,001$; $Exp(B) = 10,434$. Показатели массы тела: $B = 0,622$; $SE = 0,316$; $Wald = 3,879$; $Sig = 0,04$; $Exp(B) = 1,863$. Показатели количества часов сна в сутки весной: $B = 0,542$; $SE = 0,195$; $Wald = 7,686$; $Sig = 0,006$; $Exp(B) = 1,719$.

На 1-м этапе определяли значение функции $Z(x)$ по формуле

$$Z = -10,378 + 1,615 \cdot X_1 + 2,345 \cdot X_2 + 0,622 \cdot X_3 + 0,542 \cdot X_4,$$

где Z – САР; коэффициент $B = -10,378$; X_1 , X_2 , X_3 , X_4 – значения факторов; X_1 – пол; X_2 – шкала оценки сезонности как проблемы опросника SPAQ; X_3 – показатели количества часов сна в сутки весной.

Основные результаты бинарной логистической регрессии у студентов-медиков характеризовались следующими показателями: $B = -10,378$; $SE = 2,496$; $Wald = 17,295$; $Sig = 0,001$; $Exp(B) = 0,001$.

Далее оценивали вероятность развития сезонного аффективного расстройства у студентов с помощью формулы:

$$P = e^z / (1 + e^z),$$

где P – вероятность принадлежности студентов к группе с наличием/отсутствием САР; e – основание натурального логарифма ($e = 2,7183$).

Согласно проведенному анализу, при помощи алгоритма логистической регрессии, были выявлены показатели и весовые коэффициенты, позволяющие построить разделяющую функцию с достаточными операционными характеристиками, при уменьшении количества входных параметров качество распознавания данной модели ухудшалось.

Для оценки качества модели использовался ROC-анализ. Для переменной «Шкала оценки сезонности как проблемы» опросника SPAQ AUC = 0,792; SE = 0,050; асимптотическая значимость – 0,001; нижняя граница – 0,693 и верхняя граница – 0,891 асимптотического 95%-го доверительного интервала; Se = 89,0%; Sp = 63,0%. Если использовать данную модель, то в 83,1% случаев она даст правильный результат, что является достаточно хорошим показателем для медико-биологических систем.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование продолжает циркадианно-хронобиологическое направление, показывающее тесную связь развития САР с молодым возрастом [10, 11]. С диагностической и профилактической позиций важным является выделение трех основных категорий САР на основе совокупной балльно-категориальной оценки. Категория психологической ундуляции восприятия времен года по своим клиническим характеристикам близко граничит с суб-САР, что позволяет создать своеобразный непрерывный ряд сезонных паттернов изменения настроения и поведения от нормы до клинически наиболее выраженного сезонного аффективного расстройства. Субсиндромальные формы САР, соответственно, по хронобиологическим показателям примыкают ближе к полюсу САР, чем к здоровым лицам.

Анализ и систематизация эпидемиологических исследований путем поиска в электронных базах данных Medline, Excerpta Medica, PsychLIT позволили по 20 ретроспективным исследованиям оценить распространенность САР [12], которое варьировало от 0 до 9,7%, что было подтверждено и в нашем исследовании (9,2%).

В подростковом возрасте, как правило, превалируют «атипичные» симптомы депрессии, включающие социальное удаление, повышенную сонливость, переживание, особенно тягу к углеводам. Наличие атипич-

ных депрессивных симптомов в структуре текущего эпизода депрессии часто коррелирует с биполярным течением расстройства настроения. Нарушение сна связано со снижением качества жизни и риском рецидива при БАР. При этом сомнологические расстройства с высокой частотой сохраняются при БАР, несмотря на адекватное фармакологическое лечение [13]. В современной литературе встречается незначительное количество исследований, посвященных изучению нарушений сна при САР. Не до конца ясным остается вопрос о нарушениях сна, при которых ведущую роль играют циркадианные или поведенческие отклонения у пациентов с САР. Это находит свое подтверждение в расхождении между самоотчетом и актиграфической (полисомнографической) продолжительностью сна при САР. Некоторые исследования в значительной степени игнорируют период летней ремиссии при САР, что могло бы дать ценную информацию о роли нарушений сна в возникновении и повторении эпизодов зимней депрессии. Поэтому в планируемые исследования следует ввести комплексную, включающую все сезоны года, оценку сна и циркадианных ритмов, чтобы максимально охарактеризовать соответствующие фенотипы [14].

Полученные нами различия о преобладании САР у женщин согласуются с данными других исследователей, в которых показана прямая корреляция возраста с частотой сезонного аффективного расстройства. В частности, этот показатель был выше у девочек постпубертатного возраста, что, вероятно, связано с половыми нейрогормональными особенностями [15, 16].

При изучении крупной выборки у молодых лиц с депрессией была показана большая частота ангедонии и анергии [17]. При этом в исследовании N.A. Majrashi и соавт. [18] обнаружена отрицательная корреляция длины светового периода с плохим настроением и ангедонией у женщин. У мужчин не наблюдалось никаких опосредованных эффектов. Данное исследование расширяет понимание нейробиологических факторов, влияющих на патофизиологию САР.

Практически важным является применение оперативных способов диагностики расстройств настроения в практическом здравоохранении (интеллектуальные системы экспресс-диагностики), что позволяет своевременно выявлять лиц повышенной группы риска и в дальнейшем по отношению к ним проводить интервенционные мероприятия, направленные на повышение качества жизни [19]. Своевременная диагностика всех категорий САР у студентов позволит эффективно использовать имеющийся профилактический и лечебный потенциал [20–22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные показывают, что при сезонных аффективных расстройствах наиболее существенное значение для субъективной оценки сезонных колебаний как проблемы различной степени выраженности имеют вегетативные симптомы: сезонные колебания продолжительности сна ($r_s = 0,74$) и массы тела ($r_s = 0,82$). Выявленные закономерности подтверждают ранее полученные данные о взаимосвязи характерных ритмов сезонных колебаний настроения (вегетативных, поведенческих характеристик, школьной успеваемости) с САР [23]. Также полученные в данном исследовании результаты сопоставимы с проведенными работами, подтверждающими довольно высокую распространенность САР и суб-САР в различных возрастных группах [24].

Эти данные имеют, прежде всего, практическое значение для наиболее своевременного первичного выявления суб-САР и САР с направленностью на диагностику именно сезонных колебаний вегетативных проявлений субдепрессивных или депрессивных расстройств, а не только циркадианных изменений собственно настроения.

Своевременная диагностика и дальнейшее использование терапевтического и профилактического подходов определяют совокупность действий, цель которых состоит в регулировании биопсихосоциального функционирования студентов-медиков [19]. При этом применяются не только собственно лечебные методики, но и ритмостабилизирующие мероприятия (правильный режим дня, планирование ритма нагрузок в студенческих программах, световой режим).

ЛИТЕРАТУРА

1. Riccobono G., Iannitelli A., Pompili A., Iorio C., Stratta P., Rossi R., Bersani G., Pacitti F. Night Eating Syndrome, circadian rhythms and seasonality: a study in a population of Italian university students. *Rivista di Psichiatria*. 2020; 55 (1): 47–52. DOI: 10.1708/3301.32719.
2. Melo M.C., Garcia R.F., Araújo C.F., Luz J.H., Bruin P.F., Bruin V.M. Chronotype in bipolar disorder: an 18-month prospective study. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2020; 42 (1): 68–71. DOI: 10.1590/1516-4446-2019-0489.
3. Antypa N., Vogelzangs N., Meesters Y., Schoevers R., Penninx B.W. Chronotype associations with depression and anxiety disorders in a large cohort study. *Depression and Anxiety*. 2016; 33 (1): 75–83. DOI: 10.1002/da.22422.
4. Takaesu Y. Circadian rhythm in bipolar disorder: A review of the literature. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 2018; 72 (9): 673–682. DOI: 10.1111/pcn.12688.
5. Жедик А.В., Короткая В.А. Распространенность сезонного аффективного расстройства среди студентов БГМУ [Электронный ресурс]. Актуальные проблемы современной
6. Короткая В.А. Распространенность сезонного аффективного расстройства среди студентов БГМУ [Электронный ресурс]. Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2018: сб. тез. докл. LXXII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 18–20 апр. 2018 г.; под ред. А.В. Сикорского, О.К. Дорониной. Минск: БГМУ, 2018: 1504–1507.
7. Украинцев И.И., Счастный Е.Д., Бохан Н.А. Частота встречаемости тревожных и личностных нарушений и их взаимосвязь у студентов медицинского университета шестого года обучения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (4): 143–149. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-4-143-149.
8. Rosenthal N.E., Bradt G.H., Wehr T.A. Seasonal Pattern Assessment Questionnaire (SPAQ). National Institute of Mental Health, Bethesda, USA, 1984.
9. Путилов А.А. Хронофизиологические механизмы, опосредующие действие яркого света на активность и настроение человека: дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 1999: 383.
10. Lukmanji A., Williams J.V.A., Bulloch A.G.M., Patten S.B. Seasonal variation in specific depressive symptoms: A population based study. *Journal of Affective Disorders*. 2020; 261: 153–159. DOI:10.1016/j.jad.2019.10.003.
11. Wescott D.L., Soehner A.M., Roecklein K.A. Sleep in seasonal affective disorder. *Current Opinion in Psychology*. 2019; 34: 7–11. DOI: 10.1016/j.copsyc.2019.08.023.
12. Magnusson A. An overview of epidemiological studies on seasonal affective disorder. *Acta Psychiatr. Scand*. 2000; 101 (3): 176–184.
13. Harvey A.G., Kaplan K.A., Soehner A. Interventions for sleep disturbance in bipolar disorder. *Sleep Med. Clin*. 2015; 10 (1): 101–105. DOI: 10.1016/j.jsmc.2014.11.005.
14. Wescott D.L., Soehner A.M., Roecklein K.A. Sleep in seasonal affective disorder. *Curr. Opin. Psychol*. 2020; 34: 7–11. DOI: 10.1016/j.copsyc.2019.08.023.
15. Low K.G., Feissner J.M. Seasonal affective disorder in college students: prevalence and latitude. *J. Am. Coll. Health*. 1998; 47 (3): 135–137. DOI: 10.1080/07448489809595634.
16. Swedo S.E., Pleeter J.D., Richter D.M., Hoffman C.L., Allen A.J., Hamburger S.D., Turner E.H., Yamada E.M., Rosenthal N.E. Rates of seasonal affective disorder in children and adolescents. *Am. J. Psychiatry*. 1995; 152 (7): 1016–1019. DOI: 10.1176/ajp.152.7.1016.
17. Корнетов А.Н. Онтогенетические аспекты депрессивных расстройств. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2003; 103 (8): 80–81.
18. Majrashi N.A., Ahearn T.S., Waiter G.D. Brainstem volume mediates seasonal variation in depressive symptoms: A cross sectional study in the UK Biobank cohort. *Sci. Rep*. 2020; 10 (1): 3592. DOI: 10.1038/s41598-020-60620-3.
19. Yankovskaya A.E., Kornetov A.N., Il'inskikh N.N., Obukhovskaya V.B. An expansion of intelligent systems complex for express-diagnostics and prevention of organizational stress, depression, and deviant behavior on the basis of the biopsy-

- chosocial approach. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017; 27 (4): 783–788. DOI: 10.1134/S1054661817040204.
20. Pjrek E., Friedrich M.E., Cambioli L., Dold M., Jäger F., Komorowski A., Lanzenberger R., Kasper S., Winkler D. The Efficacy of Light Therapy in the Treatment of Seasonal Affective Disorder: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Psychotherapy and Psychosomatics*. 2020; 89 (1): 17–24. DOI: 10.1159/000502891.
 21. Lam R.W., Teng M.Y., Jung Y.E., Evans V.C., Gottlieb J.F., Chakrabarty T., Michalak E.E., Murphy J.K., Yatham L.N., Sit D.K. Light Therapy for Patients With Bipolar Depression: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Canadian Journal of Psychiatry*. 2020; 65 (5): 290–300. DOI: 10.1177/0706743719892471.
 22. May I.C. Light therapy for preventing seasonal affective disorder: Summary of a Cochrane Review. *Explore: The Journal of Science and Healing*. 2020; 16 (2): 133–134. DOI: 10.1016/j.explore.2019.12.004.
 23. Симуткин Г.Г., Попова Н.М. Сезонное аффективное расстройство у школьников. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2005; 2 (36): 65–68.
 24. Симуткин Г.Г. Клинико-конституциональные и хронобиологические закономерности при сезонных аффективных расстройствах: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2002: 50.

Сведения об авторах

Украинцев Игорь Иванович, канд. мед. наук, ассистент кафедры психиатрии, наркологии и психотерапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5112-2188.

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 05.05.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Приверженность лечению больных воспалительными заболеваниями кишечника

Андреев К.А., Горбенко А.В., Скирденко Ю.П., Николаев Н.А., Ливзан М.А., Бикбава Г.Р., Федорин М.М.

Омский государственный медицинский университет (ОмГМУ)
Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12

РЕЗЮМЕ

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – это распространенная патология, снижающая качество и продолжительность жизни пациента. Краеугольным камнем лечения больных ВЗК является полифармакотерапия, основанная на применении салицилатов, антибиотиков, иммуномодулирующих и биологических препаратов, использовании местных лекарственных форм. Показано, что сложные схемы лечения снижают качество жизни и отрицательно сказываются на приверженности лекарственной терапии больных ВЗК.

Одной из ведущих причин неэффективности лечения является низкий уровень приверженности, что приводит к прогрессированию заболевания, инвалидизации и увеличению финансовых затрат. В настоящий момент известно много факторов, влияющих на приверженность терапии, часть из них модифицируема, что создает возможности для повышения эффективности существующих медицинских вмешательств. Однако имеющиеся данные об уровне приверженности больных ВЗК не отличаются многочисленностью и однородностью. Так, низкий уровень приверженности лекарственной терапии больных ВЗК регистрируется в 7–72% случаев.

Важной проблемой понимания приверженности больных ВЗК является отсутствие исследований об уровне приверженности медицинскому сопровождению и модификации образа жизни. Тогда как течение ВЗК и особенности лечения, связанные с длительностью терапии, необходимой модификацией образа жизни (питания), а также регулярный контроль лабораторных и инструментальных параметров диктуют необходимость оценки приверженности модификации образа жизни и медицинскому сопровождению наряду с приверженностью лекарственной терапии.

Ключевые слова: воспалительные заболевания кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, приверженность, качество жизни.

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 от 17.03.2020 «Разработка технологии здоровьесбережения коморбидного больного гастроэнтерологического профиля на основе контроля приверженности»).

Для цитирования: Андреев К.А., Горбенко А.В., Скирденко Ю.П., Николаев Н.А., Ливзан М.А., Бикбава Г.Р., Федорин М.М. Приверженность лечению больных воспалительными заболеваниями кишечника. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 120–128. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-120-128>.

Adherence to treatment in patients with inflammatory bowel disease

Andreev K.A., Gorbenko A.V., Skirdenko Yu.P., Nikolaev N.A., Livzan M.A.,
Bikbavova G.R., Fedorin M.M.

Omsk State Medical University
12, Lenina Str., Omsk, 644099, Russian Federation

ABSTRACT

Inflammatory bowel disease (IBD) is a common pathology that reduces the quality and duration of a patient's life. The cornerstone of treatment of IBD patients is polypharmacotherapy based on the use of salicylates, antibiotics, immunomodulatory and biological drugs, and topical dosage forms. Multicomponent treatment has shown to reduce the quality of life and negatively affect adherence to drug therapy in IBD patients.

One of the leading causes of treatment failure is low treatment adherence, which leads to disease progression, disability, and increased financial costs. Currently, there are many factors that affect adherence to therapy, some of them are modifiable, which creates opportunities to improve the effectiveness of existing medical interventions. However, the available data on the level of adherence in IBD patients are not numerous and homogeneous, so a low level of adherence to drug therapy in IBD patients is registered in 7–72% of cases.

An important issue in understanding adherence in IBD patients is a lack of research on the level of adherence to counselling and lifestyle modification. However, the course of IBD, treatment features related to the duration of therapy and necessary lifestyle modifications (nutrition), as well as regular monitoring of laboratory and instrumental parameters determine the need to assess adherence to lifestyle modification and counselling along with adherence to drug therapy.

Key words: inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, treatment adherence, quality of life.

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 carried out with the state support for the leading scientific schools of the Russian Federation (Grant No. SS-2558.2020.7, Agreement No. 075-15-2020-036 of 17.03.2020 "Development of Health-Preserving Technology for a Comorbid Gastroenterological Patient Based on Adherence Control").

For citation: Andreev K.A., Gorbenko A.V., Skirdenko Yu.P., Nikolaev N.A., Livzan M.A., Bikbavova G.R., Fedorin M.M. Adherence to treatment in patients with inflammatory bowel disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 120–128. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-120-128>.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Эволюция человечества давно вышла за рамки исключительно биологии. Социализация, урбанизация и технический прогресс принесли блага и сделали привычную нам жизнь комфортной, а развитие науки и техники позволило улучшить методы диагностики, лечения и профилактики. Однако заболеваний в целом меньше не становится, но их спектр меняется. Так, в развитых странах болезни, ассоциированные с образом жизни, встречаются все чаще [1]. Ярким следствием нынешнего стиля жизни являются воспалительные заболевания кишечника (ВЗК).

На сегодняшний день накоплены доказательства влияния средовых факторов на состояние слизистой оболочки кишечника, состав микробиоты и ее взаимодействие с кишечной стенкой, которые запускают

прогрессирующую иммунную реакцию у генетически предрасположенных лиц [2]. Патогенез воспалительных заболеваний кишечника изучен не до конца, но известно, что при ВЗК под влиянием комплекса факторов (генетических, микробных, диетических, психологических) развивается дисфункция кишечного барьера, что способствует транслокации микроорганизмов и продуктов микробного происхождения и приводит к активации иммунного ответа. Иммунноопосредованная реакция по отношению к собственной микрофлоре кишечника считается основой патогенеза [3].

Улучшение санитарно-гигиенических условий жизни в детстве, по некоторым данным, приводит к снижению антигенного воздействия на организм, что может послужить развитию гиперреактивности при контакте с микроорганизмами уже во взрослой

жизни [4]. Доказано, что диета является одним из важных средовых факторов течения ВЗК [2]. Нехватка времени, стресс и гиподинамия значительно изменили наше питание за последние 30 лет [5], в рационе современного человека все больше полуфабрикатов, усилителей вкуса, сахара и его заменителей, высококалорийной пищи, животных белков и меньше пищевых волокон [6].

Немногие заболевания оказывают столь сильное воздействие на жизнь человека, как ВЗК [7]. Дебютируя в молодом возрасте (20–30 лет), в расцвете социальной активности [3], недуг течет длительно, мучительно для пациента, с постоянным чередованием ремиссий и рецидивов [8]. Основной жалобой пациентов является хроническая диарея, с частотой стула до 20 раз/сут, в том числе и в ночное время [3]. Язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) не только значительно снижают качество жизни больного, но и повышают риск развития рака толстой кишки, встречаемость которого достигает 15% спустя 30 лет течения болезни, и часто приводят к инвалидности [9].

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Ведущую роль в лечении ВЗК играет многокомпонентная фармакологическая терапия, основанная на длительном применении салицилатов, антибиотиков, иммуномодулирующих и биологических препаратов [10]. Однако данные группы препаратов характеризуются развитием ряда побочных эффектов: тошнота, рвота, повышение температуры, усиление диареи, повышение артериального давления, судороги, боль в суставах, мышцах, нарушение процессов роста у детей и развитие инфекционных осложнений [11]. Помимо этого, ученые из Италии выяснили, что применение местных форм препаратов в виде суппозиторий и ректальных пен ассоциировано с низким уровнем приверженности по сравнению с пероральными формами, 68 и 40% некомплаентных пациентов в соответствующих группах [12]. Многогранная клиническая картина, сложная схема терапии и ее нежелательные эффекты создают трудности для социально активной жизни пациента [3].

Все вышеперечисленное значительно снижает качество жизни и отрицательно сказывается на приверженности лекарственной терапии [7]. Приверженность пациентов лечению при всех хронических заболеваниях снижается с течением времени, в том числе из-за необходимости длительного приема препаратов [13]. В амбулаторно-поликлинических условиях распространенность некомплаенса среди больных хроническими заболеваниями составляет 30–60% [14]. Низкая приверженность лечению является одной из главных причин низкой эффективно-

сти терапии хронических заболеваний и несет за собой ряд отрицательных экономических последствий как для самого пациента, так и для системы здравоохранения [15].

Так, на лечение больных ВЗК государственные системы медицинского обслуживания тратят огромные финансовые ресурсы. Например, на лечение одного больного ВЗК в Бельгии в течение полугода затрачивается 2 500 евро, в Великобритании в год уходит более 2 тыс. фунтов стерлингов [16]. В США стоимость лечения одного больного ВЗК обходится около 35 тыс. долларов, что в пересчете на всех больных в стране составляет порядка 2 млрд долларов [17]. В России отсутствует единая официальная экономическая оценка затратам на терапию больных ВЗК [18]. Однако коллегами из Татарстана в 2019 г., на основании тарифных соглашений с фондом обязательного медицинского страхования, рассчитано, что затраты на лечение одного пациента с ВЗК составляют от 50 до 200 тыс. руб. в год, в зависимости от степени тяжести, формы оказания помощи и давности установления диагноза [19].

В результате анкетирования 100 больных ВЗК, проведенного Московским областным научно-исследовательским клиническим институтом им. М.Ф. Владимирского, выяснилось, что 40% респондентов нарушали назначенную им схему лечения, а одной из основных причин пациенты отметили высокую стоимость лечения [20]. Немалую часть затрат берет на себя пациент, что с учетом трудностей, связанных с невозможностью полноценной трудовой деятельности, приносит огромный финансовый ущерб и сказывается на готовности к лечению [1]. Больные ВЗК вынуждены пожизненно получать фармакотерапию, что является краеугольным камнем в терапии [21, 22].

Данные о приверженности терапии у пациентов с желудочно-кишечной патологией на сегодняшний день остаются немногочисленными, неоднородными. Учеными из Лондона было проанализировано 17 исследований, в которых приняли участие 4 322 пациента с ВЗК, отсутствие приверженности лечению выявлялось в 7–72% случаев [23]. Лечение больных ВЗК включает не только использование лекарств, но и соблюдение диеты, что со временем снижает приверженность пациентов терапии в целом [24]. При этом вопросу изучения такой составляющей приверженности, как приверженность модификации образа жизни (в случае ВЗК – приверженность соблюдению диеты), посвящено крайне мало исследований.

Приверженность играет важную роль при лечении пациентов с ВЗК. При изучении когорты из 99 пациентов с ЯК, находящихся в ремиссии более

полугода и получающих поддерживающую терапию месалазином, ученые из Мичиганского и Чикагского университетов пришли к выводу, что у нонкомплаентных пациентов риск развития рецидива выше в 5 раз [25]. Позднее луизианские коллеги провели масштабное ретроспективное исследование, в котором в течение 10 лет приняли участие 13 062 пациента с ЯК. Оказалось, что у пациентов с низким уровнем приверженности риск рецидива выше на 60% [26]. Исследователи из Солфордской королевской больницы провели сходное ретроспективное исследование, однако в одной из групп испытуемых они периодически меняли форму применения месалазина. В результате было выявлено, что риск рецидива у этой группы пациентов был выше в 3,5 раза [27].

Помимо значительного влияния на эффективность терапии, уменьшение риска осложнений и инвалидизации, высокий уровень приверженности лечению значимо отражается на финансовых затратах [28]. Так, регулярное применение салицилатов у больных ВЗК на 62% снижает затраты на госпитализацию, на 13% в амбулаторно-поликлиническом звене, на 45% в отношении неотложной помощи и на 50% – общие затраты системы здравоохранения на лечение больных, приверженных терапии [14]. Таким образом, повышение приверженности пациента лечению имеет важное значение, по некоторым данным даже большее, чем совершенствование конкретных методов лечения [24].

В ходе исследования, проведенного в г. Челябинске, по итогам анкетирования 133 пациентов с ВЗК, низкий уровень приверженности был выявлен у 58,4% респондентов. Для оценки уровня приверженности использовался собственный опросник, включающий также вопросы о причинах несоблюдения рекомендаций врача. Среди социально-экономических причин были выявлены следующие: недостаточность финансовых средств (31,5%), нерегулярное снабжение льготными препаратами (26%) и отсутствие препаратов в аптеке (14,6%).

Что касается причин, связанных с самим пациентом, то 49,7% респондентов отметили недостаточную информированность о своем заболевании, 42,2% – отсутствие веры в успех лечения, 24,5% выразили опасение о «привыкании» к препаратам, 12,6% – сомнения в необходимости терапии и лишь 13% опрошенных указали на забывчивость. Плохую переносимость препаратов, аллергическую реакцию и развитие нежелательных эффектов отметили 3,8; 2,7 и 6,3% респондентов соответственно [29]. Анализируя причины низкого уровня приверженности, следует отметить, что большая часть из них связана с финансовой, логистической и информационной

сторонами вопроса, т.е. являются потенциально модифицируемыми.

На приверженность пациентов с ЯК влияет большое количество факторов: активность и длительность течения заболевания, стоимость лечения, нежелательные явления терапии, индивидуальные психосоциальные особенности и уровень сотрудничества пациента и врача [30]. Низкая приверженность лечению может быть особенно выражена у пациентов в ремиссии из-за отсутствия симптомов. Считается, что большое количество таблеток и сложные схемы лечения являются одними из главных факторов, определяющих низкий уровень приверженности [31]. Это подтверждается результатами опроса, проведенного среди 1 595 пациентов с ВЗК в США. Так, 65% (944) респондентов демонстрировали низкий уровень приверженности, при этом опрошенные отметили неудобство частого приема препаратов в течение дня, а также использование ректальных форм [32].

Государственным научным центром колопроктологии им. А.Н. Рыжих было проведено исследование, в котором приняли участие 380 пациентов с активной формой язвенного колита. Оказалось, что в группе однократного приема и в группе трехкратного приема суточной дозы месалазина сопоставимое (79,1% и 75,7%) число пациентов перешло в клиническую ремиссию. На основании чего исследователи рекомендуют отдавать предпочтение однократному приему суточной дозы перорального месалазина, так как это положительно сказывается на уровне приверженности и в конечном счете увеличивает эффективность всего лечения [33].

С точки зрения влияния на приверженность важным является и общее количество принимаемых препаратов в сутки. Среди пациентов, принимающих четыре и более лекарственных средств каждый день, встречается большое число недостаточно приверженных, чем в группе с меньшим количеством принимаемых препаратов в сутки (60 и 40% соответственно) [34]. Это становится особенно актуально ввиду распространенной коморбидности среди пациентов в настоящее время.

Так, коллегами из Научно-исследовательского института физиологии и фундаментальной медицины было выяснено, что в половине случаев у пациентов с ВЗК встречаются проявления неалкогольной жировой болезни печени. Абдоминальное ожирение, метаболический синдром, возраст старше 40 лет и артериальная гипертензия служили основными факторами, ассоциированными с наличием у больных ВЗК неалкогольного стеатогепатоза. Совместное течение БК и неалкогольного стеатогепатита харак-

теризовалось необходимостью в большей дозировке азатиоприна [35]. Оценка коморбидного фона у больных ВЗК является серьезной задачей в совместной работе врача и пациента при подборе индивидуализированной схемы лечения.

По данным С. Selinger и соавт., в Австралии нонкомплаентность поддерживающей терапии выявлена у 30% пациентов с ВЗК. При этом среди пациентов, получающих биологическую терапию, низкий уровень приверженности был выявлен лишь в 5,3% случаев [36]. Учеными из университетской клиники французского Технополиса Нанси-Брабуа был проведен систематический обзор по анализу уровня приверженности терапии ингибиторами фактора некроза опухоли (анти-ФНО). По данным 13 исследований, в которых приняли участие 93 998 пациентов с ВЗК, общий уровень приверженности составил 82,6% [37].

Таким образом, применение биологической терапии при лечении воспалительных заболеваний кишечника можно рассматривать как фактор, ассоциированный с высокой приверженностью лечению. Выявленный факт нуждается в более тщательном изучении. Отсутствие же приверженности к анти-ФНО терапии приводит к последующей иммуногенности и отсутствию ответа на проводимую биологическую терапию [14].

Изучение социально-психологических факторов как модификаторов уровня приверженности показало, что среди нонкомплаентных больных значимо чаще встречаются работающие лица (85,9%, $p < 0,05$) в возрасте 40–49 лет (25,6%, $p < 0,05$), окончившие среднее образовательное учреждение (56,4%, $p < 0,05$), с выявленной неконструктивной моделью детско-родительских отношений (85,9%, $p < 0,05$), а также находящихся в неблагоприятной, конфликтной среде в семье (18,2%, $p < 0,05$) [38]. Ранее исследователями из Италии установлено, что в возрастной группе моложе 40 лет значимо чаще встречается недостаточная приверженность (43% против 34%). Продолжительность заболевания менее 5 лет также характеризовалась меньшим уровнем приверженности (24% против 15%). Но самое интересное, что при сочетании двух этих факторов уровень нонкомплаентности достигал 75% [39]. Что касается гендерных различий, то однозначного мнения нет. В одних исследованиях предиктором низкого уровня приверженности является мужской пол, в других – женский, а в ходе некоторых исследований вообще не выявлено значимых различий между мужчинами и женщинами [34, 40, 41].

Тревожные расстройства у гастроэнтерологических пациентов, длительное время находящихся

ся на лечении, снижают приверженность терапии. Установлено, что коррекция психического статуса пациента и активная позиция лечащего врача положительно сказываются на комплаентности пациента [42]. Формирование полной картины болезни, четкая постановка задач и целей терапии положительно сказываются на готовности пациента к медицинскому сопровождению и модификации образа жизни, повышая в конечном счете уровень интегральной приверженности лечению [43].

Ученые из детского медицинского центра в Цинциннати исследовали качество жизни и приверженность у 36 взрослых пациентов, страдающих ВЗК. В результате обнаружена связь недостаточной приверженности применению азатиоприна и низким качеством жизни [44]. В свою очередь научный коллектив из Венгрии при исследовании 592 пациентов с ВЗК не выявил взаимосвязи между уровнем приверженности и качеством жизни, однако обнаружили большую частоту инвалидизации при низкой приверженности [45]. Австралийскими учеными обнаружено, что низкий уровень приверженности лекарственной терапии – один из самых значимых факторов риска инвалидизации пациентов с ВЗК ($p < 0,0001$) [46].

В вопросах приверженности часто ключевым моментом оказывается налаженное партнерство между пациентом и врачом, а также эффективный диалог, являющийся центральным звеном в определении уровня комплаентности терапии [12]. Взаимодействие между врачом и пациентом оказывает огромное влияние на эффективность проводимой терапии и снижает затраты на лечение. Обнаружено, что неназначение повторного посещения лечащим врачом сопровождается большим развитием депрессий у пациентов, снижает уровень доверия к врачу и ухудшает приверженность, приводя в конечном счете к отказу от рекомендованного лечения [47, 48].

В качестве основной цели лечения больных ВЗК Комитетом по выбору терапевтических мишеней (Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease committee, STRIDE) было определено достижение высокого уровня качества жизни. Решающий подход в достижении ремиссии и третичной профилактики больных ВЗК заключается в концепции treat-to-target (T2T), основанной на субъективных потребностях пациента [49]. Создаются индивидуальные схемы терапии с учетом объема поражения, степени тяжести недуга, переносимости фармакотерапии, образа жизни и диетотерапии. От больных ВЗК требуются действия по контролю семиотики, а работа врача нацелена на биохимические, морфологические и эндоскопические критерии активности заболевания [50].

Для оценки приверженности выделяют две группы методов. К прямым методам оценки относится биохимический анализ крови на содержание лекарственных средств и их метаболитов в моче и крови. Косвенные методы включают в себя подсчет таблеток, журнал выдачи лекарственных средств и журнал пациента о приеме препаратов, вопросники, использование электронных устройств. Все методы далеко не идеальны, однако чаще всего используются вопросники приверженности. Применение авторских анкет для оценки уровня приверженности затрудняет оценку результатов и делает почти невозможным сравнение ее с другими.

Унифицированные опросники облегчают процесс анализа и сравнения полученных данных. Первой шкалой, применяемой у пациентов с ВЗК, стала Модифицированная шкала Мориски – Грина [51]. Однако она показывает лишь уровень приверженности лекарственной терапии без учета остальных компонентов комплаенса, таких как приверженность медицинскому сопровождению, модификации образа жизни, оценка которых критически важна для понимания приверженности терапии ВЗК [52]. Рекомендованный Российским научным медицинским обществом терапевтов опросник количественной оценки приверженности лечению (КОП-25) позволяет количественно (т.е. в %) рассчитать в отдельности приверженность лекарственной терапии, модификации образа жизни, медицинскому сопровождению и имеет высокие показатели специфичности (78%), чувствительности (94%), надежности (94%) согласно независимой оценке [52].

В настоящее время день общепринятых методов по увеличению уровня приверженности нет. За рубежом активно используют методологические системы по обучению пациентов, цифровые устройства напоминания приема препаратов и налаживание максимально эффективной логистики снабжения фармакологическими препаратами для удобства пациентов [53, 54]. Австралийскими коллегами установлено, что индивидуальная консультация неприверженных больных ВЗК с клиническим фармакологом в отношении лекарственной терапии повышала их приверженность до уровня группы исходно приверженных и сохранялась минимум 15 мес [55].

Что касается систем напоминания (текстовые и голосовые напоминания в телефоне, таблетницы и т.д.), то, по данным метаанализа, проведенного учеными из Северной Каролины, наблюдалось значимое увеличение уровня приверженности по сравнению с группами контроля вне зависимости от используемого метода напоминания [56]. В России самым широко распространенным методом воздействия

на приверженность стали «Школы здоровья», в том числе для больных ВЗК [53]. Однако отсутствуют данные, показывающие долгосрочные результаты у больных, страдающих ВЗК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного обзора литературы выявлено, что высокий уровень приверженности лечению у пациентов повышает эффективность проводимой терапии, снижает риск развития рецидивов и осложнений, существенно сказывается на экономии финансовых ресурсов как государственных систем здравоохранения, так и самих пациентов. По совокупности результатов исследований приверженность лекарственной терапии больных воспалительными заболеваниями кишечника находится на низком уровне, тогда как приверженность модификации образа жизни и приверженность медицинскому сопровождению у пациентов с ВЗК не изучена вовсе. Важность изучения приверженности модификации образа жизни больных ВЗК продиктована большим вкладом диетотерапии, однако готовность больных к ней на данный момент неизвестна.

Изучение приверженности медицинскому сопровождению позволит понять готовность к регулярному посещению врача, контролю клинических, лабораторных и инструментальных критериев течения болезни. Выявленные причины низкой приверженности в подавляющем большинстве являются потенциально модифицируемыми. Возможности модификации приверженности больных ВЗК как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе требуют дальнейшего изучения для разработки эффективных алгоритмов ее повышения.

Важным фактором, ассоциированным с высоким уровнем приверженности, является совместная работа врача и пациента в ходе подбора индивидуальной схемы лечения на основании личных потребностей больного ВЗК и оценке коморбидного фона, для достижения главной цели – повышения качества жизни пациента. Комплексный подход к изучению вопроса приверженности лечению больных ВЗК поможет унифицировать как методы оценки и анализа уровня комплаентности, так и сформировать методы по воздействию на нее.

ЛИТЕРАТУРА

1. Князев В.О., Шкурко В.Т., Фадеева А.Н., Бакулин Г.И., Бордин С.Д. Эпидемиология хронических воспалительных заболеваний кишечника. Вчера, сегодня, завтра. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; 139 (3): 4–12.
2. Cuiv P.O., Begun J., Keely S. Towards an integrated understanding of the therapeutic utility of exclusive enteral nutrition

- in the treatment of Crohn's disease. *Food Funct.* 2016; 7 (4): 1741–1751. DOI: 10.1039/C5FO01196E.
3. Ивашкин В.Т., Шелыгин Ю.А., Белоусова Е.А., Абдулганиева Д.И., Алексеева О.А., Ачкасов С.И., Валуевских Е.Ю., Варданын А.В., Веселов А.В., Веселов В.В., Головенко О.В., Губонина И.В., Жигалова Т.Н., Кашников В.Н., Князев О.В., Макачук П.А., Москалев А.И. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению язвенного колита. *Колопроктология.* 2019; 18 (4): 7–36. DOI: 10.33878/2073-7556-2019-18-4-7-36.
4. Клаудио Ф. Этиопатогенез воспалительных заболеваний кишечника. *Колопроктология.* 2015; 51 (1): 5–20.
5. Ливзан М.А., Николаев Н.А., Скирденко Ю.П., Федорин М.М., Горбенко А.В., Андреев К.А., Андреева Е.К., Иванов А.И., Ивахненко А.Т. Пищевое поведение в студенческой среде. *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* 2019; 2: 13–16. DOI: 10.26269/tvs8-by34.
6. Бикбавова Г.Р., Ливзан М.А., Савалкин В.И., Турчанинов Д.В., Лопатина О.Е., Третьякова Т.В., Ахрамович А.П., Гордиенко Т.С. Влияние особенностей современного образа жизни на возникновение язвенного колита. *Архивъ внутренней медицины.* 2019; 9 (3): 188–193. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-3-188-193.
7. Паулино С., Диас Х. Роль диетотерапии при болезни Крона. *Педиатрия. Приложение.* 2018; 10–16. DOI: 10.26442/2413-8460_2018.2.10-16.
8. Савалкин В.И., Ахмедов В.А., Бикбавова Г.Р., Емельянова Ю.А. Современные взгляды на распространенность, факторы риска и причины формирования язвенного колита. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2017; 10 (146): 110–115.
9. Гусейнова З.К., Тайжанова Д.Ж., Тауешева З.Б., Мандыбаева М.К., Холошенко А.О. Частота распространенности и скрининг диагностика колоректального рака. *Медицинские науки.* 2015; 3 (2): 190–197.
10. Rubin D.T., Ananthakrishnan A.N., Siegel C.A., Sauer B.G., Long M.D. ACG Clinical guideline: ulcerative colitis in adults. *Am. J. Gastroenterol.* 2019; 114 (3): 384–413. DOI: 10.14309/AJG.0000000000000152.
11. Ahmed I., Roy B., Khan S., Septer S., Umar S. Microbiome, metabolome and inflammatory bowel disease. *Microorganisms.* 2016; 4 (2): 20. DOI: 10.3390/microorganisms4020020.
12. D'Incà R., Bertomoro P., Mazzocco K., Vettorato MG., Rumiat R., Sturniolo GC. Risk factors for non-adherence to medication in inflammatory bowel disease patients. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27 (2): 166–172. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03555.x.
13. Налётов С.В., Алесинский М.М., Налётова Е.Н. Комплаентность больных гипертонической болезнью в блокаде Донбассе. *Решение проблемы в тандеме врача и провизора.* 2017: 55.
14. Kane S., Shaya F. Medication non-adherence is associated with increased medical health care costs. *Dig. Dis. Sci.* 2008; 53 (4): 1020–1024. DOI: 10.1007/s10620-007-9968-0.
15. Микиртичан Г.Л., Каурова Т.В., Очкур О.К. Комплаентность как медико-социальная и этическая проблема педиатрии. *Вопросы современной педиатрии.* 2012; 11 (6): 5–10. DOI: 10.15690/vsp.v11i6.485.
16. Muller-Lissner S.A., Bollani S., Brummer R.J. et al. Epidemiological aspects of irritable bowel syndrome in Europe and North America. *Digestion.* 2001; 64 (3): 200–204. DOI: 10.1159/000048862.
17. Ward F.M., Bodger K., Laly M.G., Heatley R.V. Clinical economic review: medical management of inflammatory bowel disease. *Pharmacol. Ther.* 1999; 13 (1): 15–25. DOI: 10.1046/j.1365-2036.1999.00437.x.
18. Копосова К.А., Хлынова О.В. Проект маршрутизации пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника в пермском крае. *Дневник казанской медицинской школы.* 2016; 2: 32–35.
19. Безденежных Т.П., Федяев Д.В., Хачатрян Г.Р., Арутюнов Г.Г., Герасимова К.В. Экономическая оценка оптимизации оказания медицинской помощи пациентам с воспалительными заболеваниями кишечника на примере Республики Татарстан. *Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2019; 12 (1): 14–26. DOI: 10.17749/2070-4909.2019.12.1.14-26.
20. Бузунова Ю.М., Белоусова Е.А. Приверженность к лечению пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.* 2015; 1–2: M5–M5b.
21. Кувшинова Н.Ю. Проблема приверженности терапии в различных областях медицины. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2015; 17 (5–3): 1014–1020.
22. Парфёнов А.И., Каграманова А.В., Бабаян А.Ф., Князев О.В. Приверженность терапии больных с воспалительными заболеваниями кишечника. *Терапевтический архив.* 2018; 90 (12): 4–11. DOI: 10.26442/00403660.2018.12.000001.
23. Jackson C.A., Clatworthy J., Robinson A., Horne R. Factors associated with non-adherence to oral medication for inflammatory bowel disease: a systematic review. *Am. J. Gastroenterol.* 2010; 105 (3): 525–539. DOI: 10.1038/ajg.2009.685.
24. Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н. Актуальные возможности оптимизации антихеликобактерной терапии. *Лечащий врач.* 2014; 4: 73–79.
25. Kane S., Huo D., Aikens J., Hanauer S. Medication nonadherence and the outcomes of patients with quiescent ulcerative colitis. *Am. J. Med.* 2003; 114 (1): 39–43. DOI: 10.1016/s0002-9343(02)01383-9.
26. Khan N., Abbas A.M., Bazzano L.A., Koleva Y.N., Krousel-Wood M. Long-term oral mesalazine adherence and the risk of disease flare in ulcerative colitis: nationwide 10-year retrospective cohort from the veterans affairs healthcare system. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2012; 36 (8): 755–764. DOI: 10.1111/apt.12013.
27. Robinson A., Hankins M., Wiseman G., Jones M. Maintaining stable symptom control in inflammatory bowel disease: a retrospective analysis of adherence, medication switches and the risk of relapse. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2013; 38 (5): 531–538. DOI: 10.1111/apt.12396.
28. Нелидова А.В., Усачева Е.В., Замахина О.В., Супрун Е.В. Факторы, влияющие на приверженность к лечению у пациентов с коронарным атеросклерозом в отдаленном периоде сосудистого события. *Современные проблемы науки и образования.* 2015; 4: 354.

29. Василенко А.Г., Василенко З.Г., Недочукова Е.С., Смагина Н.В., Попп В.Я., Ромза Л.Б., Ефимов А.И., Левин М.З., Ефимов И.А. Анализ причин низкой приверженности к лечению пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. *Вестник Челябинской областной больницы*. 2014; 3: 31–33.
30. Kane S., Holderman W., Jacques P., Miodek T. Once daily versus conventional dosing of pH- dependent mesalamine long-term to maintain quiescent ulcerative colitis: Preliminary results from a randomized trial. *Patient Prefer Adherence*. 2008; 2: 253–258. DOI: 10.2147/PPA.S3698.
31. Ediger J.P., Walker J.R., Graff L., Lix L., Clara I., Rawsthorne P., Rogala L., Miller N., McPhail C., Deering K., Bernstein C.N. Predictors of medication adherence in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol*. 2007; 102 (7): 1417–1426. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01212.x.
32. Lachaine J. Medication adherence and persistence in the treatment of Canadian ulcerative colitis patients: analyses with the RAMQ database. *BMC Gastroenterol*. 2013; 13: 23. DOI: 10.1186/1471-230X-13-23.
33. Shapina M.V., Khalif I.L. Use of 5-aminosalicylic acid for treatment of ulcerative colitis in different dosage modes. *Med. Counc. Remedum, Ltd*. 2017; 15: 44–50. DOI: 10.21518/2079-701x-2017-15-44-50.
34. Kane S.V., Cohen R.D., Aikens J.E., Hanauer S.B. Prevalence of nonadherence with maintenance mesalamine in quiescent ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol*. 2001; 96 (10): 2929–2933. DOI: 10.1111/J.1572-0241.2001.04683.X.
35. Krasner Ya.A., Osipenko M.F., Valuyskikh E.Yu., Rezakova M.V., Babich K.A. Frequency and features of non-alcoholic fatty liver disease steatohepatitis in patients with inflammatory bowel disease. *J. Sib. Med. Sci*. 2019; 3: 63–73. DOI: 10.31549/2542-1174-2019-3-63-73.
36. Selinger C., Robinson A., Leong R. Non-adherence to inflammatory bowel disease maintenance medication: extent and predictors. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2011; 26: 56–56.
37. Lopez A., Billioud V., Peyrin-Biroulet C., Peyrin-Biroulet L. Adherence to anti-TNF therapy in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Inflamm. Bowel Dis*. 2013; 19 (7): 1528–1533. DOI: 10.1097/MIB.0B013E31828132CB.
38. Алексеева О.П., Касимова Л.Н., Горячева Е.Е. Приверженность к терапии у пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016; 26 (1): 20–28. DOI: 10.22416/1382-4376-2016-26-1-20-28.
39. Shale M.J., Riley S.A. Studies of compliance with delayed-release mesalazine therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther*. 2003; 18 (2): 191–198. DOI: 10.1046/J.1365-2036.2003.01648.X.
40. Cervený P., Bortlík M., Kubena A., Vlcek J., Lakatos P.L., Lukás M. Nonadherence in inflammatory bowel disease: results of factor analysis. *Inflamm. Bowel Dis*. 2007; 13 (10): 1244–1249. DOI: 10.1002/IBD.20189.
41. Mackner L.M., Crandall W.V. Oral medication adherence in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis*. 2005; 11 (11): 1006–1112. DOI: 10.1097/01.MIB.0000186409.15392.54.
42. Горячева Е.Е., Китаева И.И. Структура тревожных расстройств и приверженность к терапии у пациентов с функциональной патологией желудочно-кишечного тракта. *Неврологический вестник*. 2015; 44 (2): 72–76. DOI: 10.17816/NB13932.
43. Налетов А.В., Налетов С.В., Баранова А.С., Вьюниченко Ю.С. Проблема комплаентности в современной гастроэнтерологии. *Университетская клиника*. 2017; 13 (2): 213–218.
44. Hommel K.A., Davis C.M., Baldassano R.N. Medication adherence and quality of life in pediatric inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Psychol*. 2008; 33 (8): 867–874. DOI: 10.1093/jpepsy/jsn022.
45. Horváth G., Farkas K., Hollósi R. Is there any association between impaired health-related quality of life and non-adherence to medical therapy in inflammatory bowel disease? *Scand. J. Gastroenterol*. 2012; 47 (11): 1298–303. DOI: 10.3109/00365521.2012.703233.
46. Perry J., Chen A., Kariyawasam V., Choong C., Teh W.L., Mitrev N., Kohler F., Leong R.W.L. Medication non-adherence in inflammatory bowel diseases is associated with disability. *Intest. Res*. 2018; 16 (4): 571–578. DOI: 10.5217/IR.2018.00033.
47. Sewitch M.J., Abrahamowicz M., Barkun A., Bitton A., Wild G.E., Cohen A., Dobkin PL. Patient nonadherence to medication in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol*. 2003; 98 (7): 1535–1544. DOI: 10.1111/J.1572-0241.2003.07522.X.
48. López San Román A., Bermejo F., Carrera E., Pérez-Abad M., Boixeda D. Adherence to treatment in inflammatory bowel disease. *Rev. Esp. Enferm. Dig*. 2005; 97 (4): 249–257. DOI: 10.4321/S1130-01082005000400005.
49. Ungaro R., Colombel J.-F., Lissos T., Peyrin-Biroulet L. A treat-to-target update in ulcerative colitis: a systematic review. *Am. J. Gastroenterol*. 2019; 114 (6): 874–883. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000183.
50. Agrawal M., Colombel J.-F. Treat-to-target in inflammatory bowel diseases, what is the target and how do we treat? *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am*. 2019; 29 (3): 421–436. DOI: 10.1016/j.giec.2019.02.004.
51. Князев О.В., Бабаян А.Ф., Каграманова А.В., Парфенов А.И. Приверженность терапии воспалительных заболеваний кишечника. *Медицинский алфавит*. 2019; 1 (6): 13–19. DOI: 10.33667/2078-5631-2019-1-6(381)-13-18.
52. Драпкина О.М., Ливзан М.А., Мартынов А.И., Моисеев С.В., Николаев Н.А., Скиренко Ю.П. Первый российский консенсус по количественной оценке приверженности к лечению: основные положения, алгоритмы и рекомендации. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018; 13 (1-2): 259–271. DOI: 10.14300/mnnc.2018.13039.
53. Щукина Б.О., Григорян В.В. Организация специализированных подразделений центров ВЗК как путь оптимизации медицинской помощи пациентам с язвенным колитом и болезнью Крона. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; 146 (10): 116–123.
54. Choudhry N.K., Krumme A.A., Ercole P.M., Girdish C., Tong A.Y., Khan N.F., Brennan T.A., Matlin O.S., Shrank W.H., Franklin J.M. Effect of reminder devices on medication adher-

- ence: The REMIND randomized clinical trial. *JAMA Intern. Med. American Medical Association*. 2017; 177 (5): 624–631. DOI: 10.1001/jamainternmed.2016.9627.
55. Tiao D.K., Jeganathan J., Chen A. Impact of targeted pharmacist counselling intervention on IBD medication adherence. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2014; 29: 106.
56. Fenerty S.D., West C., Davis S.A., Kaplan S.G., Feldman S.R. The effect of reminder systems on patients' adherence to treatment. *Patient Prefer Adherence*. 2012; 6: 127–35. DOI: 10.2147/PPA.S26314.

Вклад авторов

Скирденко Ю.П., Николаев Н.А. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи. Горбенко А.В., Андреев К.А., Федорин М.М. – анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение для публикации рукописи. Ливзан М.А., Бикбавова Г.Р. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Андреев Кирилл Андреевич, инспектор, Управление по развитию регионального здравоохранения и медицинской деятельности, ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0001-9976-573X.

Горбенко Александр Васильевич, инспектор, Управление по развитию регионального здравоохранения и медицинской деятельности, ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0001-9703-9371.

Скирденко Юлия Петровна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра факультетской терапии и гастроэнтерологии, ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0002-6225-2444.

Николаев Николай Анатольевич, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры факультетской терапии и гастроэнтерологии, проректор по медицинской деятельности и региональному здравоохранению, ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0002-3758-4930.

Ливзан Мария Анатольевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии и гастроэнтерологии, ректор ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0002-6581-7017.

Бикбавова Галия Равильевна, канд. мед. наук, доцент кафедры госпитальной терапии, эндокринологии, ОмГМУ, г. Омск. ORCID 0000-0001-9252-9152.

Федорин Максим Михайлович, инспектор, Управление по развитию регионального здравоохранения и медицинской деятельности, ОмГМУ, г. Омск. ORCID /0000-0002-0238-4664.

(✉) Горбенко Александр Васильевич, e-mail: prime.dr.alex@gmail.com

Поступила в редакцию 14.08.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Потенциал использования микроРНК в судебно-медицинской экспертизе

Гареев И.Ф.¹, Бейлерли О.А.¹, Измайллов А.А.²

¹ Башкирский государственный медицинский университет (БГМУ)
Россия, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, 3

² Республиканский клинический онкологический диспансер
Россия, 450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, пр. Октября, 73/1

РЕЗЮМЕ

Применение молекулярно-генетических подходов для идентификации тканей и биологических жидкостей организма, которые часто дают важную информацию для реконструкции потенциального преступления, является актуальной темой судебно-медицинских исследований. МикроРНК – это короткие, в среднем 18–22 нуклеотида, одноцепочечные некодирующие РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне путем связывания с 3'-нетранслируемой областью (3'-НТО) специфических мРНК-мишеней, что приводит к уменьшению экспрессии белка посредством блокады трансляции и (или) способствуя деградации мРНК-мишеней. МикроРНК участвуют практически во всех биологических процессах, включая клеточную пролиферацию, апоптоз и дифференцировку клеток. Через воздействие на гены-мишени микроРНК участвуют в регуляции многих патологических процессов. Кроме того, во многих биологических жидкостях организма человека, таких как кровь, были обнаружены многочисленные микроРНК, называемые циркулирующими микроРНК. Молекулярно-генетические подходы, несомненно, превосходят гистологические и иммунологические анализы в характеристике тканей, и микроРНК, благодаря характерной для них тканеспецифичности и стабильности в биологических жидкостях, несомненно, имеют потенциал в применении в судебно-медицинской практике и заслуживают внимания экспертов.

Ключевые слова: микроРНК, биологические жидкости, судебно-медицинская экспертиза, экспрессия, циркулирующие.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и ГФЕН (проект № 21-51-53001).

Для цитирования: Гареев И.Ф., Бейлерли О.А., Измайллов А.А. Потенциал использования микроРНК в судебно-медицинской экспертизе. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 129–140. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-129-140>.

The potential use of miRNAs in forensic science

Gareev I.F.¹, Beylerli O.A.¹, Izmailov A.A.²

¹Bashkir State Medical University (BSMU)
3, Lenina Str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450008, Russian Federation

² *Republican Clinical Oncological Dispensary*

73/1, Oktyabrya Av., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450054, Russian Federation

ABSTRACT

The use of molecular genetic approaches to identification of tissues and biological fluids of the body, which often provide important information for reconstruction of a potential crime, is relevant for forensic studies. MicroRNAs (miRNAs) are short, single-stranded noncoding RNAs (containing on average 18–22 nucleotides) that regulate gene expression at the post-transcriptional level by binding to the 3'-untranslated region (3'-UTR) of specific mRNA targets, which results in a decrease in protein expression by blocking translation and / or promotes degradation of target mRNAs. MiRNAs are involved in virtually all biological processes, including cell proliferation, apoptosis, and differentiation. By acting on target genes, miRNAs are involved in regulation of many pathological processes. In addition, numerous miRNAs called circulating miRNAs were found in many biological fluids of the human body, for example, in blood. Molecular genetic approaches undoubtedly outperform histological and immunological tests in tissue characterization, and miRNAs, due to their characteristic tissue specificity and stability in biological fluids, have potential for application in forensic practice and are of great interest for experts.

Key words: microRNA, biological fluids, forensic science, expression, circulating.

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 Russian Foundation for Basic Research and National Natural Science Foundation (Project No. 21-51-53001).

For citation: Gareev I.F., Beylerli O.A., Izmailov A.A. The potential use of miRNAs in forensic science. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 129–140. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-129-140>.

ВВЕДЕНИЕ

МикроРНК короткие, в среднем 18–22 нуклеотида, одноцепочечные некодирующие РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне путем связывания с 3'-нетранслируемой областью (3'-НТО) специфических матричных РНК (мРНК)-мишеней, что приводит к уменьшению экспрессии белка посредством блокады трансляции и (или) способствуя деградации мРНК-мишеней [1]. Имеется множество работ, доказывающих важность микроРНК в регуляции многих биологических процессов, таких как нейрогенез, пролиферация и дифференцировка клеток, апоптоз, регуляция иммунных процессов, метаболизм жиров, гомеостаз глюкозы и т.д. [1, 2].

Показано, что нарушение регуляции или aberrantная экспрессия микроРНК, связанная с этими процессами, приводит к развитию различных заболеваний человека, таких как онкология, сердечно-сосудистые, аутоиммунные и нейродегенеративные заболевания [3]. Кроме того, во многих биологических жидкостях организма человека, таких как кровь, моча, спинномозговая жидкость, слюна, были обнаружены многочисленные микроРНК, называемые циркулирующими микроРНК

[4]. Благодаря связи с различными носителями эти циркулирующие микроРНК оказались чрезвычайно стабильными: устойчивыми к воздействию РНКаз, циклам замораживания/оттаивания и значительным колебаниям pH [5]. Кроме того, содержание циркулирующих микроРНК существенно не изменялось при длительной инкубации плазмы при комнатной температуре [6, 7].

Первоначально было показано, что различные внеклеточные везикулы (ВВ) служат носителями циркулирующих микроРНК. Действительно, почти все типы клеток образуют и выделяют несколько типов ВВ, включая микровезикулы и экзосомы [4, 8]. Микровезикулы образуются путем выпячивания плазматической мембраны из клетки наружу с последующим отделением образовавшегося пузырька от мембраны и имеют размер 100–1 000 нм. Экзосомы же имеют гораздо меньший размер (40–100 нм) и высвобождаются после слияния фракции мультивезикулярных телец с плазматической мембраной [9]. Следовательно, размеры некоторых микровезикул и экзосом могут быть очень похожими.

Учитывая это, многие авторы используют термин «внеклеточные везикулы» для обозначения смешанной популяции микровезикул и экзосом. Помимо ВВ, в биологических жидкостях мож-

но обнаружить апоптотические тельца размером 1–4 нм, которые также содержат микроРНК. Циркулирующие микроРНК были обнаружены и в составе липопротеинов высокой плотности, размер которых варьируется от 9 до 12 нм. Наконец, большая доля циркулирующих микроРНК была обнаружена в виде комплексов с Argonaute 2-белками (Ago2-микроРНК) [4, 10].

Идеальный биомаркер должен обладать рядом характеристик, такими как доступность с помощью неинвазивных методов, дешевизна для количественного определения, специфичность для заболевания или физиологического состояния и, в случае при патологических состояниях, должен быть надежным предиктором заболевания еще до появления клинических симптомов. Поскольку циркулирующие микроРНК обладают этими характеристиками, они являются очень перспективными, когда речь идет о разработке новых неинвазивных биомаркеров. Кроме того, по сравнению с ДНК и мРНК малый размер микроРНК делает их более стабильными и, следовательно, менее подверженными к деградации, что делает их хорошим вариантом для разработки биомаркеров [5].

Другим фактором, который играет ключевую роль в их стабильности, являются белки Ago2. Они являются каталитическим компонентом РНК-индуцируемого комплекса выключения гена (RISC). Взаимодействие Ago2 белков со зрелыми микроРНК делает их намного более устойчивыми к деградации [10]. По этим причинам и с учетом того, что микроРНК показывают разные профили экспрессии в зависимости от ткани или исследуемой жидкости, эта возможность была изучена не только в качестве ресурса для диагностики различных патологических состояний, но также и в качестве метода идентификации тканей или биологических жидкостей в условиях судебно-медицинской экспертизы [11].

Во время судебно-медицинской экспертизы правильная идентификация возможных обнаруженных тканей или биологических жидкостей имеет решающее значение для выявления возможных источников ДНК, которые впоследствии будут использоваться при идентификации донора биологического материала. За прошедшие годы разработано несколько методов идентификации биологического материала, например серологические тесты [11]. Однако эти методы демонстрируют низкие уровни чувствительности и специфичности. Таким образом, благодаря характеристикам микроРНК, недавно они были изучены в качестве альтернативы традиционным методам идентификации биологического материала при судебно-медицинских экспертизах.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ микроРНК И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЖИДКОСТИ

В 2009 г. Е.К. Hanson и соавт. были первыми, кто представил результаты по профилированию экспрессии циркулирующих микроРНК в области судебной медицины [12]. В хорошо спроектированном и всеобъемлющем исследовании авторы продемонстрировали, что циркулирующие микроРНК могут быть извлечены из различных биологических жидкостей человека и изучены. В итоге было исследовано 452 циркулирующих микроРНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Для крови, слюны, семенной жидкости, вагинального секрета и менструальной крови авторы разработали определенный анализ, состоящий из двух дифференциально экспрессируемых циркулирующих микроРНК, которые были использованы для успешного выявления и различения той или иной биологической жидкости организма.

В недавнем исследовании С. Courts и соавт. изучили изменение экспрессии у 800 циркулирующих микроРНК в венозной крови и слюне с помощью микрочипов и идентифицировали шесть дифференциально экспрессируемых циркулирующих микроРНК (miR-126, miR-150, miR-451, miR-200c, miR-203 и miR-205) для потенциальной идентификации определенной биологической жидкости организма [13]. В дальнейшем авторы исследовали изменение экспрессии у данных циркулирующих микроРНК с помощью ПЦР в реальном времени. Результаты продемонстрировали следующее: учитывая тот факт, что панель исследуемых циркулирующих микроРНК в работе Е.К. Hanson и соавт. содержала примерно вдвое меньше микроРНК, одна из шести кандидатных микроРНК для крови (miR-451) и слюны (miR-205) также была идентифицирована для соответствующей биологической жидкости.

В другом исследовании семь циркулирующих микроРНК были идентифицированы как потенциально специфичные микроРНК для той или иной биологической жидкости организма, которые могут быть использованы в качестве значимых маркеров в условиях судебно-медицинской экспертизы: miR-16 и miR-486 – для венозной крови, miR-888 и miR-891a – для семенной жидкости, miR-214 – для менструальной крови, miR-124a – для вагинального секрета и miR-138-2 для слюны [14]. По результатам исследования Z. Wang и соавт. было предложено пять специфичных циркулирующих микроРНК для биологических жидкостей организма: miR-16 и miR-486 – для венозной крови, miR-888 и miR-891a – для семенной жидкости и miR-214 – для менструальной крови).

Хотя текущее исследование подтверждает потенциальное использование этих микроРНК для определения происхождения той или иной биологической жидкости для последующих экспертиз, авторы не смогли идентифицировать циркулирующие микроРНК, специфичные для слюны и вагинального секрета.

Е. Sauer и соавт. подтвердили истинно специфичный для семенной жидкости циркулирующую miR-891a-5p как маркер среди пяти исследованных биологических жидкостей организма (венозная кровь, слюна, семенная жидкость, вагинальный секрет и менструальная кровь) [15]. Кроме того, циркулирующие miR-10a-5p, miR-10b-5p и miR-135-5p оказались сверхэкспрессированными в образцах семенной жидкости по сравнению с образцами венозной и менструальной крови, слюны и вагинального секрета, что делает их дополнительно подходящими маркерами. К тому же циркулирующая miR-144-3p продемонстрировала специфический профиль экс-

прессии для отделения образцов крови от образцов, не относящихся к ней.

Е. Sauer и соавт. также был предложен алгоритм принятия решения для обнаружения каждой из пяти биологических жидкостей с использованием как можно меньше комбинаций циркулирующих микроРНК, чтобы упростить процедуру анализа. Для идентификации семенной жидкости был использован miR-891a-5p, miR-144-3p – для отделения крови от образцов, не относящихся к крови, а затем комбинация miR-144-3p и miR-203a-3p для различения образцов венозной крови от менструальной крови и аналогичная комбинация miR-203a-3p и miR-124-3p, чтобы различать образцы слюны от вагинального секрета.

В табл. 1 представлены результаты работ по дифференциально экспрессируемым циркулирующим микроРНК в биологических жидкостях организма человека, наиболее важных для судебно-медицинского исследования [12–20].

Таблица 1

Биологические жидкости и специфические для них циркулирующие микроРНК						
Метод исследования	Биологическая жидкость					Источник
	Венозная кровь	Менструальная кровь	Вагинальный секрет	Семенная жидкость	Слюна	
ПЦР в реальном времени	miR-451, miR-16	miR-451 и miR-412	miR-124a и miR-372	miR-135b и miR-10b	miR-658 и miR-205	[12]
Микрочипы, ПЦР в реальном времени	miR-126, miR-150 и miR-451	–	–	–	miR-200c, miR-203 и miR-205	[13]
Микрочипы, ПЦР в реальном времени	miR-16 и miR-486	miR-214	–	miR-888 и miR-891a	–	[14]
ПЦР в реальном времени	miR-144-3p и miR-144-3p + miR-203a-3p	miR-144-3p	miR-124-3p	miR-891a-5p	miR-203a-3p + miR-124-3p	[15]
ПЦР в реальном времени	–	–	–	–	miR-200c-3p, miR-203a и miR-205-5p	[16]
ПЦР в реальном времени	miR-16 и miR-451	–	miR-1280 и miR-4286	miR-10b	–	[17]
ПЦР в реальном времени	miR-451	miR-412	miR-124a	miR-891a	miR-205	[18]
ПЦР в реальном времени	miR-451	–	–	–	miR-205	[19]
ПЦР в реальном времени	miR-144-3p и miR-451a-5p	–	miR-1260b	miR-888-5p и miR-891a-5p	miR-203a-3p и miR-223-3p	[20]

Примечание. miR – микроРНК; ПЦР – полимеразная цепная реакция (здесь и в табл. 3, 4); «–» – биологические жидкости, которые не были исследованы в данной работе или не было найдено для них специфических циркулирующих микроРНК; «+» – комбинация циркулирующих микроРНК.

МикроРНК И ИХ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОСТЬ

Было обнаружено, что некоторые ткане- или органоспецифичные циркулирующие микроРНК могут быть идентифицированы в основном в кровотоке [21–23]. В частности, из органов с высокой степенью васкуляризации, таких как почки, печень, головной мозг и легкие, происходит секреция специфических для них

микроРНК в кровоток, и их обнаружение представляется важным в судебно-медицинской экспертизе.

Y. Sun и соавт. обнаружили пять микроРНК (miR-192, miR-194, miR-204, miR-215 и miR-216), которые были преимущественно экспрессированы в тканях почки человека по сравнению с другими органами/тканями, такими как сердце, селезенка, легкое, поперечнополосатая мускулатура и предстательная железа [24].

Окончание табл. 2

Клетка, орган или ткань	МикроРНК	Источник
Печень	miR-122 miR-148	[31, [33] [32]
Скелетная мышечная ткань	miR-1-3p, miR-133a-3p и miR-206	[33]
Кожа	miR-203a-3p и miR-205-5p miR-943	[33] [34]
Сердце	miR-208b-3p and miR-499a-5p	[33]
Эндотелиальная клетка	miR-126	[35]
Сосудистая гладкомышечная клетка	miR-143/145	[36]
Эритроциты	miR-16	[36], [37]
Тромбоциты	miR-223	[36], [38]

Позже К. Chandrasekaran и соавт. также выявили эти пять микроРНК в тканях почки и пришли к выводу, что данные микроРНК являются одними из немногих микроРНК, которые были признаны специфичными для почек [25]. К тому же данные микроРНК были обнаружены в стабильной форме в плазме/сыворотке, и, поскольку они преимущественно высоко экспрессируются в почках, этот орган может секретируют их в кровоток, следовательно, они имеют почечное происхождение. В случае с головным мозгом считаются специфичными miR-124 и miR-128, где также данные микроРНК были обнаружены в плазме и сыворотке у здоровых людей [26, 27].

Подобными микроРНК являются miR-129-5p, miR-191 и miR-342-3p, поскольку они могут быть обнаружены в плазме и демонстрируют высокий уровень экспрессии в ткани головного мозга по сравнению с другими тканями согласно miRNAmap [28]. Согласно miRNAmap miR-21, miR-30b, miR-30c-1 и miR-146b-5p высоко экспрессируются в легких по сравнению с другими органами и тканями [29]. Эти микроРНК также присутствуют в плазме и сыворотке. Исходя из их профиля экспрессии, в кровотоке они, вероятно, происходят из легочной ткани в результате процесса ирригации легких [30]. Что касается печени человека, то известно, что miR-122 является специфичной для печени микроРНК, которая может быть обнаружена также в стабильной форме в плазме, и, следовательно, ее происхождение в плазме происходит из клеток печени [31]. Аналогично miR-148, которая также может быть обнаружена в плазме, сверхэкспрессирована в печени, и результаты экспериментальной работы подтвердили специфичность miR-148 для печени [32].

В табл. 2 представлены микроРНК с их специфическим профилем экспрессии по отношению к той или иной клетке, ткани или органу человека [24–38].

Таблица 2

Специфические микроРНК для определенного типа клетки, органа или ткани		
Клетка, орган или ткань	МикроРНК	Источник
Почка	miR-192, miR-194, miR-204, miR-215 и miR-216 miR-10b-5p и miR-204-5p	[24], [25] [33]
Головной мозг	miR-124 miR-128 miR-129-5p, miR-191 и miR-342-3p miR-9-5p, miR-124-3p и miR-219a-5p	[26] [27] [28] [33]
Легкие	miR-21, miR-30b, miR-30c-1 и miR-146b-5p miR-146b-5p и miR-233-3p	[29], [30] [33]

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Повреждение головного мозга при различных патологиях представляет собой тяжелое состояние, где задействовано множество процессов [39]. По этой причине идентификация специфических циркулирующих и (или) тканевых биомаркеров, которые могут указывать на тот или иной процесс повреждения головного мозга, является актуальной. В своей работе F. Sessa и соавт. изучили изменение профиля экспрессии пяти микроРНК (miR-21, miR-34, miR-124, miR-132 и miR-200b) в аутопсийном материале головного мозга из трех отобранных групп: наркоманы (кокаин); смертельные случаи, связанные с ишемическим инсультом; пожилые люди [40].

Результаты данного исследования показали: более высокая экспрессия miR-132 и miR-34 может использоваться в качестве маркера повреждения головного мозга от употребления наркотиков (кокаина); сверхэкспрессия miR-200b и miR-21 может указывать на случаи возрастных когнитивных нарушений и, наконец, последствия ишемического инсульта могут быть связаны с изменениями уровня экспрессии miR-200b, miR-21 и miR-124, причем значительно более высокий уровень экспрессии имела miR-124. Изменение профиля экспрессии данных микроРНК могут быть очень полезны в качестве легкодоступных тканевых биомаркеров в судебно-медицинских исследованиях, чтобы установить точную причину смерти в случаях с патологией головного мозга. Эти результаты предполагают, что изменение профиля экспрессии данных циркулирующих микроРНК в биологических жидкостях человека можно изучать у живых людей с повреждением головного мозга, связанным со старением, злоупотреблением наркотиками и инсультом.

В другом предварительном исследовании С. Lux и соавт. предположили, что дифференцирование между выстрелами в голову или другими областями тела может быть выполнено путем обнаружения микроРНК (или ее отсутствия), специфически или преимуще-

ственно экспрессируемых определенных микроРНК в веществе головного мозга (см. раздел «МикроРНК и их тканеспецифичность») [41]. Цель данного исследования состояла в том, чтобы изучить возможности и ограничения в отношении идентификации мозговой ткани от крови, мышечной и жировой ткани посредством анализа дифференциально экспрессируемых miR-124a и miR-124 в данных образцах, а также убедиться в том, были ли эти микроРНК достаточно устойчивыми, чтобы выдерживать физическое воздействие, связанное с огнестрельным ранением.

Сравнительный анализ уровня экспрессии этих микроРНК, представленных в [41], позволил надежно определять ткань мозга и дифференцировать ее от крови, мышечной и жировой ткани. При этом данные микроРНК не только демонстрировали специфичность к ткани мозга, но также, как и ожидалось, были гораздо менее подвержены деградации по сравнению с геном *Clorf61*. Если в дальнейших исследованиях может быть установлена специфичность к тканям мозга, анализ экспрессии miR-124/miR-124a может использоваться в качестве дополнительного инструмента для идентификации мозговой ткани при судебно-медицинских экспертизах.

P. Menathung и соавт. отметили, что циркулирующие miR-133a, miR-208b и miR-499 могут быть обнаружены и находиться в стабильной форме в крови человека после смерти от инфаркта миокарда (ИМ) в течение 18 ч [42]. Данное исследование непосредственно было основано на уже обнаруженных данных микроРНК в образцах ткани из зоны инфаркта, фиксированной формалином и заключенной в парафин, экспрессия которых сохранялась в течение недели после смерти. Известно, что miR-133a выполняет антиапоптотическую функцию поврежденного кардиомиоцита [43]. Сверхэкспрессия данной микроРНК ингибирует функцию проапоптотических генов, например каспазы-9 и фактора активации апоптотической протеазы 1 (*APAF1*), защищая поврежденные клетки от апоптоза [43]. Авторы наблюдали подавление экспрессии miR-133a в кардиомиоцитах во время острого периода ИМ, но с высоким уровнем экспрессии в кровотоке (возможно, в составе апоптотических телец). Известно, что miR-208b расположен в интроне гена *MYH7* [44].

В исследовании M.F. Corsten и соавт. обнаружено, что у пациентов с ИМ уровень экспрессии циркулирующей miR-208b был повышен в 1 600 раз. В исследовании P. Menathung и соавт. отмечено, что уровень был довольно низким после 18 ч, тем не менее, возможно, его следует рассматривать как эффект посмертной деградации этой циркулирующей микроРНК [44]. Недавние работы продемонстри-

ровали, что miR-499 является специфичной для повреждения миокарда, уровень экспрессии которой в кровообращении после острого ИМ был высоким [45]. В соответствии с этим циркулирующая miR-499 также присутствовала с высоким уровнем экспрессии в образцах посмертной крови у пациентов после ИМ. Это исследование подчеркивает стабильность некоторых микроРНК в постмортальной ткани, подтверждая их использование во время патолого-анатомического исследования. Кроме того, данный результат был дополнительно подтвержден при использовании miR-499 для диагностики или определения ИМ как причины смерти в посмертной крови.

Утопление представляет собой дилемму для судебной медицины. Несомненно, что значительная часть случаев утопления происходит из-за убийств. Тем не менее есть случаи, когда утопление происходит в результате несчастного случая. Имеются исследования, где была продемонстрирована связь между изменениями микроокружения клеток, особенно активацией ионного канала/транспорта, и определенными уровнями экспрессии микроРНК [46]. В своем исследовании S. Yu и соавт. идентифицировали 158 дифференциально экспрессируемых микроРНК в тканях мозга мышей с помощью микрочипов, используемых в их экспериментальной модели утопления [47]. Среди них авторы классифицировали четыре микроРНК (miR-6394, miR-706, miR-30c-1-3p и miR-6238), экспрессия которых была значительно повышена при моделях утопления пресной водой, и четыре микроРНК (miR-494-3p, miR-669h-3p, miR-135a-1-3p и miR-5109) с пониженной экспрессией при модели утопления соленой водой.

Данные результаты предполагают, что разные модели утопления вызывают изменения в профиле экспрессии микроРНК в ткани мозга мышей. Другой вопрос заключался в том, почему эти микроРНК были по-разному экспрессированы при различных моделях утопления. Чтобы ответить на этот вопрос, авторы проанализировали целевые гены дифференциально экспрессируемых микроРНК и изучили их экспрессию в мозге мышей. Среди восьми микроРНК-кандидатов идентифицировали ген аквапорина 4 (*AQP4*) в качестве мишени для miR-30c-1-p и ген *HCN1* в качестве мишени для miR-706 с использованием анализа генов-мишеней *TargetScan*, *miRDB* и *MGI*. Однако только изменение экспрессии miR-706 статистически различалось ($p < 0,01$) между моделью утопления пресной водой и моделью утопления соленой водой, что измерялось с помощью ПЦР в реальном времени.

Экспрессия гена *HCN1* была проверена с помощью ПЦР в реальном времени, и она была понижена в тканях мозга мышей модели утопления пресной во-

дой и повышена в модели утопления соленой водой. Управляемые циклическими нуклеотидами гиперполяризационно-активируемые каналы (HCN) относятся к семейству катионных каналов с поровой петлей и состоят из четырех представителей (HCN1–4). Каналы HCN активируются мембранной гиперполяризацией и проницаемы для Na^+ и K^+ .

В головном мозге *HCN1* экспрессируется в неокортексе, гиппокампе, коре мозжечка и стволе мозга [48]. Фактически концентрация натрия в крови увеличивается при утоплении в соленой воде, а в условиях гипернатриемии возрастает осмолярность мозга и внутриклеточная концентрация натрия. Повышенная экспрессия гена *HCN1* и различия в экспрессии miR-706 могут быть объяснены этими изменениями микросреды в данной модели утопления. Наконец, miR-706 был сверхэкспрессирован в нейронах кортекса и гиппокампа, которые являются известными областями экспрессии *HCN1*. Все это подтверждает, что miR-706 может помочь в расследовании на месте преступления и помочь понять патобиологические процессы в мертвом теле.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является наиболее частой причиной инвалидности и смерти среди населения в возрасте до 45 лет во всем мире [49]. Выявление ЧМТ становится одной из основных задач в судебно-клинической медицине. Многие выжившие после ЧМТ в той или иной степени остаются с некоторыми функциональными нарушениями, особенно когнитивными, в том числе нарушением памяти. Гиппокамп имеет решающее значение для обучения и памяти, и он довольно уязвим при ЧМТ, показывая более существенные и более ранние патологические изменения, чем другие области мозга [49]. В одном из исследований анализ микрочипов показал, что 205 микроРНК продемонстрировали значительные изменения экспрессии в гиппокампе крыс модели контролируемого коркового повреждения (ККП) [50].

Это свидетельствует о том, что ЧМТ резко изменяет большое количество транскриптов зрелой микроРНК, показывая чрезвычайно чувствительные реакции изменения экспрессии микроРНК при ЧМТ. К тому же данные анализа микрочипов показали, что miR-142-3p и miR-221 были единственными микроРНК, экспрессия которых либо увеличивалась, либо уменьшалась во всех трех временных промежутках после ЧМТ (1-, 2- и 5-е сут). Специфические микроРНК, такие как miR-142-3p и miR-221, могут потенциально использоваться в качестве чувствительных и информативных биомаркеров для судебно-медицинской экспертизы ЧМТ и, таким образом, внести некоторые улучшения в исследования по когнитивным расстройствам, связанных с ЧМТ.

Другая группа исследователей также использовала модель ККП на крысах для анализа изменения экспрессии микроРНК через 1 и 7 сут после ЧМТ [51]. В этой экспериментальной работе 60-дневные крысы были подвергнуты ККП, а затем умерщвлены через 1 и 7 сут для извлечения тотальной РНК из нейронов дорсального гиппокампа. Методы исследования, такие как секвенирование нового поколения (NGS) в сочетании с биоинформатическим анализом, были использованы для обнаружения сигнатур микроРНК, измененные после ККП, и сигнальных путей, регулируемые этими микроРНК. В частности, было предсказано, что микроРНК (например, miR-21 и miR-23b), которые показали изменение в экспрессии во время острого посттравматического периода (1-е сут после ККП), будут нацелены на гены-мишени, участвующие в апоптозе, фолдинге белка и аэробном гликолизе. Напротив, предполагается, что эти же микроРНК, экспрессия которых будет изменена через 7 сут после травмы, будут нацелены на гены-мишени, связанные с процессами репарации.

Судебно-медицинская экспертиза самопроизвольных аборт является недостаточно изученной, весьма сложной и потому вызывает значительные трудности у экспертов при разрешении ряда специфических вопросов. Этиология самопроизвольных аборт сложна и многофакторна. Хотя исследователи определили некоторые причины, включая хромосомные аномалии плода, ответ иммунной системы матери, эндокринные факторы, аномалии репродуктивного тракта, инфекции половых путей и факт экологического риска, примерно половина этих случаев остается необъяснимой [52]. Возникновение и развитие самопроизвольных аборт включает и эпигенетические нарушения, а именно дисрегуляцию микроРНК [53].

Н. Chen и соавт. идентифицировали несколько генов и микроРНК, которые потенциально могут участвовать в развитии и прогрессировании самопроизвольных аборт, включая *FCGR1A*, *FCGR3A*, *CXCL8*, *HCK*, *PLEK*, *IL10*, *EVI2A*, *GMFG*, *ESR1*, *MMP10*, miR-498 и miR-4530 [54]. Хотя требуются дальнейшее изучение *in vivo* и *in vitro*, данные результаты предоставляют важную информацию для выяснения патологического процесса самопроизвольных аборт и могут обеспечить теоретическую основу для будущих исследований в области судебной медицины.

В области биомедицины старение человека представляет большой интерес, в частности, с точки зрения выявления диагностических предикторов возрастных заболеваний, таких как онкология. Существует потенциал для перевода результатов биомедицинских исследований в судебной медицине для оценки возраста донора конкретного биологического образца с

помощью анализа микроРНК. Н. Noren Hooten и соавт. профилировали экспрессию 800 микроРНК в периферической крови с помощью анализа микрочипов и ПЦР в реальном времени как в молодых (~30 лет), так и в старых (~64 лет) когортах и сообщили, что экспрессия большинства микроРНК уменьшается с возрастом [55]. Это предполагает, что изменения в экспрессии циркулирующих микроРНК могут иметь потенциал в качестве индикатора возраста донора.

В другой работе для определения оценки посмертных интервалов (PMI) авторы также исследовали изменение экспрессии микроРНК (miR-122 и miR-133a в тканях сердца, miR-122 – в тканях печени и miR-133a – в тканях поперечнополосатой мускулатуры) *in vivo* [56]. PMI определяется как период времени, прошедший с момента смерти. В настоя-

щее время для оценки PMI используются различные методы (например, физические, физико-химические, биохимические, микробиологические и энтомологические), однако все они имеют свои ограничения.

Как было отмечено, микроРНК имеют высокую стабильность в различных типах тканей, в том числе постмортальных. Это говорит о том, что микроРНК менее чувствительны к условиям окружающей среды и поэтому подходят в качестве стабильных маркеров. Хотя результаты исследования многообещающие, существует множество переменных, которые следует учитывать при оценке PMI [56]. Они намного сложнее в реальных сценариях с людьми, чем в лабораторных условиях с использованием моделей животных.

Основные экспериментальные исследования представлены в табл. 3.

Таблица 3

Исследования, посвященные изучению микроРНК в судебно-медицинской экспертизе						
Автор	Направление исследования	Метод исследования	Модель исследования	МикроРНК	Тип образца	Экспрессия
F. Sessa и соавт. [40]	Повреждение головного мозга	ПЦР в реальном времени	Люди	miR-132, miR-34, miR-124, miR-200b и miR-21	Аутопсийный материал головного мозга	Повышена
G. Lux и соавт. [41]	Идентификация выстрелов в голову путем обнаружения микроРНК, преимущественно экспрессируемой в ткани мозга	ПЦР в реальном времени	Люди	miR-124a и miR-124	Аутопсийный материал: периферическая кровь, мышечная и жировая ткань из ЧЛО, мозговая ткань	Повышена
P. Menathung и соавт. [42]	Инфаркт миокарда	ПЦР в реальном времени	Люди	miR-133a, miR-208b и miR-499	Постмортальная периферическая кровь	Повышена
S. Yu и соавт. [47]	Утопление	Микрочипы, ПЦР в реальном времени	<i>In vivo</i>	miR-6394, miR-706, miR-30c-1-3p и miR-6238 miR-494-3p, miR-669h-3p, miR-135a-1-3p и miR-5109	Ткань головного мозга	Повышена Понижена
T.Y. Sun и соавт. [50]	ЧМТ	Микрочипы, ПЦР в реальном времени	<i>In vivo</i>	miR-142-3p miR-221	Ткань головного мозга (гиппокамп)	Понижена (1-е и 3-е сут) и повышена (5-е сут) Повышена (1-, 3- и 5-е сут)
B. Martinez и соавт. [51]	ЧМТ	Микрочипы, ПЦР в реальном времени	<i>In vivo</i>	miR-21 miR-23b	Ткань головного мозга (гиппокамп)	Повышена (1-е и 7-е сут) Понижена (1-е и 7-е сут)
H. Chen и соавт. [40]	Самопроизвольный аборт	Микрочипы, биоинформатический анализ	Люди	miR-498 и miR-4530	Ворсины хориона	Повышена
H. Noren Hooten и соавт. [55]	Возраст донора	ПЦР в реальном времени	Люди	miR-103, miR-107, miR-128, miR-130a, miR-155, miR-24, miR-221, miR-496 и miR-1538	Периферическая кровь	Понижена
C. Tu и соавт. [56]	Оценка посмертных интервалов	ПЦР в реальном времени	<i>In vivo</i>	miR-122, miR-133a, miR-122 и miR-133a	Сердце, печень и поперечно-полосатая мускулатура	Повышена

МИКРОРНК И ПСИХИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ В СУДЕБНОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ

Было подтверждено, что микроРНК участвуют в развитии нервной системы и ее функциях [2]. Исследования показали, что они также участвуют в возникновении нейропсихиатрических расстройств, включая шизофрению [57]. Судебно-психиатрическая оценка шизофрении включает оценку по многим аспектам, но эффективной биологической идентификации шизофрении не существует. Ряд данных свидетельствует о том, что этиология шизофрении может включать как генетические факторы, так и факторы окружающей среды [58].

Таким образом, вклад окружающей среды в прогрессирование шизофрении осуществляется через эпигенетические механизмы, и изучение психических заболеваний с точки зрения эпигенетики информирует и освещает ее патогенез [58]. Доказано,

что некоторые аберрантно экспрессируемые микроРНК были недавно выделены из ткани мозга, цельной периферической крови, сыворотки и плазмы и признаны потенциальными биомаркерами в диагностике шизофрении [59–65]. Данные работы подтверждают, что изменение профиля экспрессии некоторых микроРНК в биологических жидкостях можно использовать для определения биомаркеров шизофрении и дифференцировать от других психических заболеваний. Это может помочь выяснить этиологию шизофрении с неоднозначными клиническими симптомами и выявить потенциальные различия между другими психическими расстройствами со схожими клиническими симптомами [66].

В табл. 4 представлены исследования по изучению циркулирующих микроРНК как потенциальных биомаркеров при шизофрении, преимущественно опубликованные за последние 5 лет.

Таблица 4

Циркулирующие микроРНК как потенциальные биомаркеры при шизофрении					
МикроРНК	Образец	Экспрессия	Кол-во участников «шизофрения / контроль»	Метод исследования	Источник
miR-22-3p, miR-92a-3p и miR-137	Периферическая кровь	Повышена	10/10	ПЦР в реальном времени	[60]
miR-34a-5p miR-432-5p miR-449a	Сыворотка	Повышена Понижена Повышена	40/40	ПЦР в реальном времени	[61]
miR-30a-5p	Мононуклеарные клетки периферической крови	Понижена	38/50	ПЦР в реальном времени	[62]
miR-223	Плазма	Повышена	21/21	Микрочипы, ПЦР в реальном времени	[63]
miR9-5p, miR29a-3p, miR106b-5p, miR125a-3p, и miR125b-3p	Периферическая кровь	Повышена	16/16	ПЦР в реальном времени	[64]
miR-132, miR-195, miR30e, miR-212, miR-34a, miR-30e и miR-7	Мононуклеарные клетки периферической крови и плазма	Повышена	25/13	ПЦР в реальном времени	[65]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МикроРНК как тканевые и (или) жидкостные биомаркеры обладают огромным потенциалом в судебно-медицинской экспертизе и имеют несколько применений. В случае идентификации жидкостей организма обнаружение специфичных для них циркулирующих микроРНК может быть очень полезным для идентификации донора образца. Кроме того, микроРНК обладают высокой стабильностью и могут быть обнаружены в поврежденных образцах и в отдаленные сроки посмертного периода. Более того, микроРНК с дифференцированным профилем экспрессии между здоровыми людьми и людьми с определенными патологиями могут быть очень полезны

при идентификации подозреваемых и (или) жертв, помогая при этом сократить список подозреваемых.

Несмотря на то, что анализ экспрессии микроРНК широко изучается во всем мире, эти поиски в основном сосредоточены на его применении в области биомедицинских/онкологических исследований. Чтобы по-настоящему раскрыть весь потенциал микроРНК в области судебной медицины, очень важно понять молекулярную сложность имеющихся образцов. Внедрение анализа микроРНК в рабочий процесс судебной экспертизы поможет решить несколько проблем, с которыми в настоящее время сталкиваются судебные эксперты. Обеспечивая стабильную работу в неблагоприятных условиях,

анализ микроРНК дает надежный доступ к информации, который ранее был невозможен.

Как упоминалось ранее, судебно-медицинское применение анализа микроРНК только начинает реализовываться. Опубликованных исследований в этой области не очень много, но их количество растет. В судебной медицине методы, которые когда-то казались современными, теперь устаревают. Крайне важно, чтобы исследователи работали над разработкой методов для использования в судебно-медицинских расследованиях, которые дают результаты в рекордно короткие сроки, обеспечивают более высокую степень дискриминации и являются достаточно надежными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lu T.X., Rothenberg M.E. MicroRNA. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018; 141 (4): 1202–1207. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.08.034.
2. Van Meter E.N., Onyango J.A., Teske K.A. A review of currently identified small molecule modulators of microRNA function. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019; 188: 112008. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.112008.
3. Vishnoi A., Rani S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview. *Methods in Molecular Biology*. 2017; 1509: 1–10. DOI: 10.1007/978-1-4939-6524-3_1.
4. Valihrach L., Androvic P., Kubista M. Circulating miRNA analysis for cancer diagnostics and therapy. *Molecular Aspects of Medicine*. 2019; 72: 100825. DOI: 10.1016/j.mam.2019.10.002
5. Sanz-Rubio D., Martin-Burriel I., Gil A., Cubero P., Forner M., Khalyfa A., Marin J.M. Stability of circulating exosomal miRNAs in healthy subjects. *Scientific Reports*. 2018; 8 (1): 10306. DOI: 10.1038/s41598-018-28748-5.
6. Matias-Garcia P.R., Wilson R., Mussack V., Reischl E., Waldenberger M., Gieger C., Anton G., Peters A., Kuehn-Stein A. Impact of long-term storage and freeze-thawing on eight circulating microRNAs in plasma samples. *PLoS One*. 2020; 15 (1): e0227648. DOI: 10.1371/journal.pone.0227648.
7. Ward Gahlawat A., Lenhardt J., Witte T., Keitel D., Kaufhold A., Maass K.K., Pajtlar K.W., Sohn C., Schott S. Evaluation of storage tubes for combined analysis of circulating nucleic acids in liquid biopsies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (3): 704. DOI: 10.3390/ijms20030704.
8. Desmond B.J., Dennett E.R., Danielson K.M. Circulating extracellular vesicle microRNA as diagnostic biomarkers in early colorectal cancer – a review. *Cancers (Basel)*. 2019; 12 (1): 52. DOI: 10.3390/cancers12010052.
9. Lv Y., Tan J., Miao Y., Zhang Q. The role of microvesicles and its active molecules in regulating cellular biology. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019; 23 (12): 7894–7904. DOI: 10.1111/jcmm.14667.
10. Fuji T., Umeda Y., Nyuya A., Taniguchi F., Kawai T., Yasui K., Toshima T., Yoshida K., Fujiwara T., Goel A., Nagasaka T. Detection of circulating microRNAs with Ago2 complexes to monitor the tumor dynamics of colorectal cancer patients during chemotherapy. *International Journal of Cancer*. 2019; 144 (9): 2169–2180. DOI: 10.1002/ijc.31960.
11. Silva S.S., Lopes C., Teixeira A.L., Carneiro de Sousa M.J., Medeiros R. Forensic miRNA: potential biomarker for body fluids? *Forensic Science International: Genetics*. 2015; 14: 1–10. DOI: 10.1016/j.fsigen.2014.09.002.
12. Hanson E.K., Lubenow H., Ballantyne J. Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. *Analytical Biochemistry*. 2009; 387 (2): 303–314. DOI: 10.1016/j.ab.2009.01.037.
13. Courts C., Madea B. Specific micro-RNA signatures for the detection of saliva and blood in forensic body-fluid identification. *Journal of Forensic Sciences*. 2011; 56 (6): 1464–1470. DOI: 10.1111/j.1556-4029.2011.01894.x.
14. Wang Z., Zhang J., Luo H., Ye Y., Yan J., Hou Y. Screening and confirmation of microRNA markers for forensic body fluid identification. *Forensic Science International: Genetics*. 2013; 7 (1): 116–123. DOI: 10.1016/j.fsigen.2012.07.006.
15. Sauer E., Reinke A.K., Courts C. Differentiation of five body fluids from forensic samples by expression analysis of four microRNAs using quantitative PCR. *Forensic Science International: Genetics*. 2016; 22: 89–99. DOI: 10.1016/j.fsigen.2016.01.018.
16. Wang Z., Zhang J., Wei W., Zhou D., Luo H., Chen X., Hou Y. Identification of saliva using microRNA biomarkers for forensic purpose. *Journal of Forensic Sciences*. 2015; 60 (3): 702–706. DOI: 10.1111/1556-4029.12730.
17. Sirker M., Fimmers R., Schneider P.M., Gomes I. Evaluating the forensic application of 19 target microRNAs as biomarkers in body fluid and tissue identification. *Forensic Science International: Genetics*. 2017; 27: 41–49. DOI: 10.1016/j.fsigen.2016.11.012.
18. O'Leary K.R., Glynn C.L. Investigating the isolation and amplification of microRNAs for forensic body fluid identification. *Microna*. 2018; 7 (3): 187–194. DOI: 10.2174/2211536607666180430153821.
19. Lewis C.A., Layne T.R., Seashols-Williams S.J. Detection of microRNAs in DNA extractions for forensic biological source identification. *Journal of Forensic Sciences*. 2019; 64 (6): 1823–1830. DOI: 10.1111/1556-4029.14070.
20. Fujimoto S., Manabe S., Morimoto C., Ozeki M., Hamano Y., Hirai E., Kotani H., Tamaki K. Distinct spectrum of microRNA expression in forensically relevant body fluids and probabilistic discriminant approach. *Scientific Reports*. 2019; 9 (1): 14332. DOI: 10.1038/s41598-019-50796-8.
21. Sehgal A., Chen Q., Gibbins D., Sah D.W., Bumcrot D. Tissue-specific gene silencing monitored in circulating RNA. *RNA*. 2014; 20 (2): 143–149. DOI: 10.1261/rna.042507.113.
22. Thomou T., Mori M.A., Dreyfuss J.M., Konishi M., Sakaguchi M., Wolfrum C., Rao T.N., Winnay J.N., Garcia-Martin R., Grinspoon S.K., Gordon P., Kahn C.R. Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues. *Nature*. 2017; 542 (7642): 450–455. DOI: 10.1038/nature21365.
23. Siracusa J., Koulmann N., Banzet S. Circulating myomiRs: a new class of biomarkers to monitor skeletal muscle in physiology and medicine. *Journal Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2018; 9 (1): 20–27. DOI: 10.1002/jcsm.12227.

24. Sun Y., Koo S., White N., Peralta E., Esau C., Dean N.M., Perera R.J. Development of a micro-array to detect human and mouse microRNAs and characterization of expression in human organs. *Nucleic Acids Research*. 2004; 32 (22): e188. DOI: 10.1093/nar/gnh186.
25. Chandrasekaran K., Karolina D.S., Sepramaniam S., Arumugam A., Wintour E.M., Bertram J.F., Jeyaseelan K. Role of microRNAs in kidney homeostasis and disease. *Kidney International*. 2012; 81 (7): 617–627. DOI: 10.1038/ki.2011.448.
26. Sun Y., Luo Z.M., Guo X.M., Su D.F., Liu X. An updated role of microRNA-124 in central nervous system disorders: a review. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2015; 9: 193. DOI: 10.3389/fncel.2015.00193.
27. McSweeney K.M., Gussow A.B., Bradrick S.S., Dugger S.A., Gelfman S., Wang Q., Petrovski S., Frankel W.N., Boland M.J., Goldstein D.B. Inhibition of microRNA 128 promotes excitability of cultured cortical neuronal networks. *Genome Research*. 2016; 26 (10): 1411–1416. DOI: 10.1101/gr.199828.115.
28. Wang K., Yuan Y., Cho J.H., McClarty S., Baxter D., Galas D.J. Comparing the microRNA spectrum between serum and plasma. *PLoS One*. 2012; 7 (7): e41561. DOI: 10.1371/journal.pone.0041561.
29. Ludwig N., Leidinger P., Becker K., Backes C., Fehlmann T., Pallasch C., Rheinheimer S., Meder B., Stähler C., Meese E., Keller A. Distribution of miRNA expression across human tissues. *Nucleic Acids Research*. 2016; 44 (8): 3865–3877. DOI: 10.1093/nar/gkw116.
30. Weber J.A., Baxter D.H., Zhang S., Huang D.Y., Huang K.H., Lee M.J., Galas D.J., Wang K. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clinical Chemistry*. 2010; 56 (11): 1733–1741. DOI: 10.1373/clinchem.2010.147405.
31. Stojkovic S., Koller L., Sulzgruber P., Hülsmann M., Huber K., Mayr M., Hengstenberg C., Wojta J., Niessner A. Liver-specific microRNA-122 as prognostic biomarker in patients with chronic systolic heart failure. *International Journal of Cardiology*. 2020; 303: 80–85. DOI: 10.1016/J.IJCARD.2019.11.090.
32. Ponsuksili S., Trakooljul N., Hadlich F., Haack F., Murani E., Wimmers K. Genetic architecture and regulatory impact on hepatic microRNA expression linked to immune and metabolic traits. *Open Biology*. 2017; 7 (11): 170101. DOI: 10.1098/rsob.170101.
33. Sauer E., Extra A., Cachée P., Courts C. Identification of organ tissue types and skin from forensic samples by microRNA expression analysis. *Forensic Science International: Genetics*. 2017; 28: 99–110. DOI: 10.1016/j.fsigen.2017.02.002.
34. Sirker M., Fimmers R., Schneider P.M., Gomes I. Evaluating the forensic application of 19 target microRNAs as biomarkers in body fluid and tissue identification. *Forensic Science International: Genetics*. 2017; 27: 41–49. DOI: 10.1016/j.fsigen.2016.11.012.
35. Van Solingen C., Bijkerk R., de Boer H.C., Rabelink T.J., van Zonneveld A.J. The role of microRNA-126 in vascular homeostasis. *Current Vascular Pharmacology*. 2015; 13 (3): 341–351. DOI: 10.2174/15701611113119990017.
36. Gareev I., Yang G., Sun J., Beylerli O., Chen X., Zhang D., Zhao B., Zhang R., Sun Z., Yang Q., Li L., Pavlov V., Saffin S., Zhao S. Circulating microRNAs as potential noninvasive biomarkers of spontaneous intracerebral hemorrhage. *World Neurosurgery*. 2020; 133: e369–e375. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.09.016.
37. Гареев И.Ф., Бейлерли О.А. Циркулирующие микроРНК как биомаркеры: какие перспективы? *Профилактическая медицина*. 2018; 21 (6): 142–150. DOI: 10.17116/profmed201821061142.
38. Taghizadeh M., Ahmadizad S., Naderi M. Effects of endurance training on hsa-miR-223, P2RY12 receptor expression and platelet function in type 2 diabetic patients. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2018; 68 (4): 391–399. DOI: 10.3233/CH-170300.
39. Corraliza-Gomez M., Sanchez D., Ganfornina M.D. Lipid-binding proteins in brain health and disease. *Frontiers in Neurology*. 2019; 10: 1152. DOI: 10.3389/fneur.2019.01152.
40. Sessa F., Maglietta F., Bertozzi G., Salerno M., Di Mizio G., Messina G., Montana A., Ricci P., Pomara C. Human Brain Injury and miRNAs: An Experimental Study. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (7): 1546. DOI: 10.3390/ijms20071546.
41. Lux C., Schyma C., Madea B., Courts C. Identification of gunshots to the head by detection of RNA in backscatter primarily expressed in brain tissue. *Forensic Science International*. 2014; 237: 62–69. DOI: 10.1016/j.forsciint.2014.01.016.
42. Menathung P., Saengkaeotrakul P., Rasmeepaisarn K., Vongpaisarnsin K. Circulatory microRNA in acute myocardial infarction: A candidate biomarker for forensic investigation. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2017; 6: e294–e295. DOI: 10.1016/j.fsigss.2017.09.136.
43. Li N., Zhou H., Tang Q. miR-133: A suppressor of cardiac remodeling? *Frontiers in Pharmacology*. 2018; 9: 903. DOI: 10.3389/fphar.2018.00903.
44. Corsten M.F., Dennert R., Jochems S., Kuznetsova T., Devaux Y., Hofstra L., Wagner D.R., Staessen J.A., Heymans S., Schroen B. Circulating microRNA-208b and microRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2010; 3 (6): 499–506. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.110.957415.
45. Chen X., Zhang L., Su T., Li H., Huang Q., Wu D., Yang C., Han Z. Kinetics of plasma microRNA-499 expression in acute myocardial infarction. *Journal of Thoracic Disease*. 2015; 7 (5): 890–896. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.11.32.
46. Gomes A., da Silva I.V., Rodrigues C.M.P., Castro R.E., Soveral G. The emerging role of microRNAs in aquaporin regulation. *Frontiers in Chemistry*. 2018; 6: 238. DOI: 10.3389/fchem.2018.00238.
47. Yu S., Na J.Y., Lee Y.J., Kim K.T., Park J.T., Kim H.S. Forensic application of microRNA-706 as a biomarker for drowning pattern identification. *Forensic Science International*. 2015; 255: 96–101. DOI: 10.1016/j.forsciint.2015.06.011.
48. Luo P., He G., Liu D. HCN channels: new targets for the design of an antidepressant with rapid effects. *Journal of Affective Disorders*. 2019; 245: 764–770. DOI: 10.1016/j.jad.2018.11.081.
49. Capizzi A., Woo J., Verduzco-Gutierrez M. Traumatic brain injury: an overview of epidemiology, pathophysiology, and medical management. *Medical Clinics of North America*. 2020; 104 (2): 213–238. DOI: 10.1016/j.mcna.2019.11.001.

50. Sun T.Y., Chen X.R., Liu Z.L., Zhao L.L., Jiang Y.X., Qu G.Q., Wang R.S., Huang S.Z., Liu L. Expression profiling of microRNAs in hippocampus of rats following traumatic brain injury. *Journal of Huazhong University of Science and Technology (Medical Sciences)*. 2014; 34 (4): 548–553. DOI: 10.1007/s11596-014-1313-1.
51. Martinez B., Peplow P.V. MicroRNAs as diagnostic markers and therapeutic targets for traumatic brain injury. *Neural Regeneration Research*. 2017; 12 (11): 1749–1761. DOI: 10.4103/1673-5374.219025.
52. Inzani E., Marshall H.H., Thompson F.J., Kalema-Zikusoka G., Cant M.A., Vitikainen E.I.K. Spontaneous abortion as a response to reproductive conflict in the banded mongoose. *Biology Letters*. 2019; 15 (12): 20190529. DOI: 10.1098/rsbl.2019.0529.
53. Barchitta M., Maugeri A., Quattrocchi A., Agrifoglio O., Agodi A. The Role of miRNAs as biomarkers for pregnancy outcomes: a comprehensive review. *International Journal of Genomics*. 2017; 2017: 8067972. DOI: 10.1155/2017/8067972.
54. Chen H., Cheng S., Liu C., Fu J., Huang W. bioinformatics analysis of differentially expressed genes, methylated genes, and mirnas in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Journal of Computational Biology*. 2019; 26 (12): 1418–1426. DOI: 10.1089/cmb.2019.0158.
55. Noren Hooten N., Abdelmohsen K., Gorospe M., Ejiogu N., Zonderman A.B., Evans M.K. microRNA expression patterns reveal differential expression of target genes with age. *PLoS One*. 2010; 5 (5): e10724. DOI: 10.1371/journal.pone.0010724.
56. Tu C., Du T., Ye X., Shao C., Xie J., Shen Y. Using miRNAs and circRNAs to estimate PMI in advanced stage. *Legal Medicine (Tokyo)*. 2019; 38: 51–57. DOI: 10.1016/j.legalmed.2019.04.002.
57. Ivanova E., Bozhilova R., Kaneva R., Milanova V. The dysregulation of microRNAs and the role of stress in the pathogenesis of mental disorders. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2018; 18 (21): 1893–1907. DOI: 10.2174/1568026619666181130135253.
58. Cao T., Zhen X.C. Dysregulation of miRNA and its potential therapeutic application in schizophrenia. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2018; 24 (7): 586–597. DOI: 10.1111/cns.12840.
59. Santarelli D.M., Carroll A.P., Cairns H.M., Tooney P.A., Cairns M.J. Schizophrenia-associated microRNA-gene interactions in the dorsolateral prefrontal cortex. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2019; 17 (6): 623–634. DOI: 10.1016/j.gpb.2019.10.003.
60. Ma J., Shang S., Wang J., Zhang T., Nie F., Song X., Zhao H., Zhu C., Zhang R., Hao D. Identification of miR-22-3p, miR-92a-3p, and miR-137 in peripheral blood as biomarker for schizophrenia. *Psychiatry Research*. 2018; 265: 70–76. DOI: 10.1016/j.psychres.2018.03.080.
61. He K., Guo C., Guo M., Tong S., Zhang Q., Sun H., He L., Shi Y. Identification of serum microRNAs as diagnostic biomarkers for schizophrenia. *Hereditas*. 2019; 156: 23. DOI: 10.1186/s41065-019-0099-3.
62. Liu S., Zhang F., Shugart Y.Y., Yang L., Li X., Liu Z., Sun N., Yang C., Guo X., Shi J., Wang L., Cheng L., Zhang K., Yang T., Xu Y. The early growth response protein 1-miR-30a-5pneurogenic differentiation factor 1 axis as a novel biomarker for schizophrenia diagnosis and treatment monitoring. *Translational Psychiatry*. 2017; 7 (1): e998. DOI: 10.1038/tp.2016.268.
63. Zhao Z., Jinde S., Koike S., Tada M., Satomura Y., Yoshikawa A., Nishimura Y., Takizawa R., Kinoshita A., Sakakibara E., Sakurada H., Yamagishi M., Nishimura F., Inai A., Nishioka M., Eriguchi Y., Araki T., Takaya A., Kan C., Umeda M., Shimazu A., Hashimoto H., Bundo M., Iwamoto K., Kakiuchi C., Kasai K. Altered expression of microRNA-223 in the plasma of patients with first-episode schizophrenia and its possible relation to neuronal migration-related genes. *Translational Psychiatry*. 2019; 9 (1): 289. DOI: 10.1038/s41398-019-0609-0.
64. Camkurt M., Karababa F., Erdal M., Bayazit H., Kandemir S., Ay M., Kandemir H., Ay O., Cicek E., Selek S., Tasdelen B. Investigation of dysregulation of several microRNAs in peripheral blood of schizophrenia patients. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*. 2016; 14 (3): 256–260. DOI: 10.9758/cpn.2016.14.3.256.
65. Sun X.Y., Lu J., Zhang L., Song H.T., Zhao L., Fan H.M., Zhong A.F., Niu W., Guo Z.M., Dai Y.H., Chen C., Ding Y.F., Zhang L.Y. Aberrant microRNA expression in peripheral plasma and mononuclear cells as specific blood-based biomarkers in schizophrenia patients. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2015; 22 (3): 570–574. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.08.018.
66. Kalia M., Costa E., Silva J. Biomarkers of psychiatric diseases: current status and future prospects. *Metabolism*. 2015; 64 (3): S11–S15. DOI: 10.1016/j.metabol.2014.10.026.

Сведения об авторах

Гареев Ильгиз Фанилевич, канд. мед. наук, науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, БГМУ, г. Уфа. ORCID 0000-0002-4965-0835.

Бейлерли Озал Арзуман оглы, науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, БГМУ, г. Уфа. ORCID 0000-0002-6149-5460.

Измайлов Адель Альбертович, д-р мед. наук, профессор, гл. врач, Республиканский клинический онкологический диспансер, г. Уфа. ORCID 0000-0002-8461-9243.

(✉) **Гареев Ильгиз Фанилевич**, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Поступила в редакцию 28.04.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Роль нарушений обмена кальция в индукции иммунной гиперчувствительности при сердечно-сосудистых заболеваниях

Деева Н.С., Шабалдин А.В., Антонова Л.В.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ)
Россия, 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

РЕЗЮМЕ

Нарушение внеклеточного и внутриклеточного гомеостаза кальция способно оказывать повреждающее действие на функционирование как отдельных органов и систем, так и на весь организм в целом. В сердечно-сосудистой системе дисбаланс кальциевого обмена запускает каскад реакций аутовоспалительного характера, приводящих к стойким морфологическим и функциональным нарушениям. В данном обзоре нарушение кальциевого гомеостаза рассматривается как предиктор развития иммунной гиперчувствительности при сердечно-сосудистой патологии. Проанализировано развитие патологии сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, кальцификация клапанов сердца и эссенциальная гипертензия) при нарушении кальциевого обмена и патологических механизмах, которые данные нарушения вызывают. Кальциевые сенсоры, полиморфные варианты генов и гормоны, участвующие в обмене кальция, могут выявить особенности кальциевого обмена и внести свой вклад в персонализированный подход в лечение сердечно-сосудистой патологии.

Ключевые слова: метаболизм кальция, атеросклероз, кальцификация клапанов сердца, аутовоспаление, эссенциальная гипертензия, аллергические реакции.

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

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0002 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

Для цитирования: Деева Н.С., Шабалдин А.В., Антонова Л.В. Роль нарушений обмена кальция в индукции иммунной гиперчувствительности при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 141–151. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-141-151>.

The role of calcium metabolism disorders in induction of hypersensitivity in cardiovascular diseases

Deeva N.S., Shabaldin A.V., Antonova L.V.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (RICICD)
6, Sosnovy Blvd., Kemerovo, 650002, Russian Federation

ABSTRACT

Impairment of extracellular and intracellular calcium homeostasis can have a damaging effect on the functioning of both individual organs and systems and the whole organism. In the cardiovascular system, disorders of calcium metabolism trigger a cascade of auto-inflammatory responses, leading to persistent morphological and functional disturbances. In this review, impaired calcium homeostasis is defined as a predictor of the development of hypersensitivity in cardiovascular diseases. We analyzed the development of a cardiovascular pathology (atherosclerosis, aortic valve calcification, and essential hypertension) with impaired calcium metabolism and pathological mechanisms that cause the disturbances. Calcium sensors, polymorphic variants of genes, and hormones involved in calcium metabolism can reveal the features of calcium metabolism and contribute to a personalized approach to treatment of cardiovascular diseases.

Key words: calcium metabolism, atherosclerosis, aortic valve calcification, auto-inflammation, essential hypertension, allergic reactions.

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 a comprehensive basic research program of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the fundamental topic of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases No. 0546-2019-0002 “Pathogenetic substantiation of the development of implants for cardiovascular surgery based on biocompatible materials with implementation of a patient-oriented approach using mathematical modeling, tissue engineering, and genomic predictors”.

For citation: Deeva N.S., Shabaldin A.V., Antonova L.V. The role of calcium metabolism disorders in induction of hypersensitivity in cardiovascular diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 141–151. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-141-151>.

ВВЕДЕНИЕ

Кальций принимает участие в огромном количестве биохимических реакций, обеспечивающих процессы жизнедеятельности человека [1]. Роль особенностей обмена кальция активно изучается в вопросах трансплантологии и имплантологии, в том числе при протезировании клапанов сердца и сосудистых протезов [2, 3].

Биологическая роль кальция крайне разнообразна: прямо или опосредованно, он принимает участие практически во всех физиологических процессах. Ионы кальция участвуют в процессах стабилизации клеточных мембран, активации ферментов, свертывании крови, процессах клеточной гибели. Кроме того, они обеспечивают мембранный транспорт, межклеточную коммуникацию, передачу информации в клетку, регулируют внутриклеточный и внеклеточный сигналинг, активно участвуют в ремоделировании, в том числе миокарда, а также принимают участие в работе генома клетки [3, 4].

Внутриклеточный сигналинг кальций реализует как вторичный и третичный мессенджер в передаче сигнала к молекулам-мишеням. Межклеточным сигналингом кальций обеспечивает координацию биохимических процессов в многоклеточном организме. Кроме того, посредством этого механизма кальций влияет на эффективность работы иммунной системы, а через его нарушения индуцируются иммунные

гиперреактивности, одним из проявлений которых являются иммуновоспалительные реакции [1, 5].

При отсутствии аномалий конституций, нарушений баланса питания, макро- и микроэкологии кальций является важным регулятором нормальных клеточных процессов, пролиферации и дифференцировки клеток. При медико-социальных, пищевых, бытовых, экологических отклонениях обмен кальция может существенно нарушаться, и его влияние на вышеописанные процессы будет носить патологический характер, в том числе через гиперактивацию иммунной системы и запрограммированную гибель клеток – апоптоз [1, 5, 6]. Исходя из этого, кальциевый гомеостаз крайне важен для организма, а его нарушение лежит в основе патогенеза многих хронических заболеваний человека – иммуновоспалительных реакций, определяющих формирование патологии сердечно-сосудистой системы [1, 3].

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КАК ОСНОВА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

В классическом представлении иммунная гиперчувствительность проявляется пятью основными типами иммунопатологических (аллергических) реакций, предложенных P.G.H. Gell и R. Coombs в 1968 г.: гиперчувствительность немедленного типа (атопическая), цитотоксическая (цитолитическая), имму-

нокомплексная (преципитирующая), замедленного типа (клеточная) и рецепторная антителозависимая гиперчувствительность [7, 8]. Эти реакции являются ведущими звеньями патогенеза не только аллергических, но и аутоиммунных заболеваний [7–9].

Как известно, реакции иммунной гиперчувствительности включают в себя три фазы развития, развивающиеся параллельно друг другу: 1) иммунологическая (взаимодействие антигена с антителами и (или) сенсибилизированными CD4+ Т-хелперами и с CD8+ цитотоксическими Т-лимфоцитами); 2) патохимическая (выброс медиаторов, инициирующих воспаление); 3) патофизиологическая (стадия клинических проявлений). Деление на пять типов гиперчувствительности связано, прежде всего, с характером первой иммунологической фазы. Влияние обмена кальция на эти типы иммунной гиперчувствительности реализуется через патохимическую и патофизиологическую стадии процесса [8].

В то же время с 1999 г. введена новая группа патологий, обозначенная как аутовоспалительные заболевания. История их открытия связана с идентификацией заболеваний, наследуемых по аутосомно-доминантному и аутосомно-рецессивному типам, а также семейных моногенных заболеваний, проявляющихся семейными периодическими лихорадками, холодовыми аллергиями, неинфекционными дерматитами [10]. Гены, определяющие эти заболевания, как правило, кодируют активность инфламмосом и детерминируют гиперактивность врожденного клеточного иммунитета [10].

Дальнейшие исследования позволили выделить группу полигенных аутовоспалительных заболеваний, к которым относится атеросклероз [11]. Для данной патологии особое значение имеет активация врожденного иммунитета, без вовлечения в процесс адаптивного (приобретенного) иммунитета, с развитием системного воспалительного ответа и мультиорганным поражением [12]. Именно атеросклероз является основным хроническим заболеванием, определяющим сердечно-сосудистый континуум.

Другой значимой патологией сердечно-сосудистой системы являются приобретенные пороки сердца, формирование которых также проходит при участии иммуновоспалительных реакций, в том числе конституционально закрепленных. Такой патологией является острая ревматическая лихорадка у детей и ревматическая болезнь у взрослых. Этиология и патогенез этого заболевания продолжают изучаться.

Остаются актуальными концепции о существовании особых ревматогенных М-штаммов пиогенного стрептококка, аутоиммунного поражения аутоантигенов миокарда, иммунокомплексных воспалитель-

ных реакциях [13]. Соответственно, по иммуновоспалительной классификации данное заболевание можно отнести к смешанной группе [14]. Вполне вероятно, что высокая аутовоспалительная активность присуща и формированию приобретенных пороков сердца после инфекционного эндокардита [15]. Конституциональные и микроэкологические предпосылки для формирования приобретенных пороков сердца сохраняются и на момент их хирургического лечения. Это значит, что данные факторы могут определять ранние и отдаленные последствия, в том числе кальцификацию импланта [16].

Применение мультиомиксных технологий для поиска геномных, эпигеномных, транскриптомных и микробиомных маркеров иммуновоспалительных заболеваний создает новые перспективы в их лечении [9]. В то же время нарушения кальциевого обмена могут вносить существенный вклад в молекулярные, клеточные и генетические механизмы патогенеза, лежащие в основе данной патологии.

Остановимся на роли кальция в формировании и поддержании иммунной гиперчувствительности, реализующейся как через классические аллергические (иммунопатологические) реакции пяти типов, так и через аутовоспалительные реакции, связанные с активацией врожденного клеточного иммунитета. Как уже говорилось выше, роль кальция в этих реакциях сводится к его внеклеточной и внутриклеточной регуляторной функции.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН КАЛЬЦИЯ

Концентрация кальция в крови строго контролируется несколькими гормонами с механизмами обратной связи, а его концентрация внутри и вне клетки – сложной системой насосов, каналов, обменников и широким спектром Ca^{2+} -связывающих белков [6]. Основным гормоном, регулирующим внеклеточный кальциевый гомеостаз, является паратиреоидный гормон (ПТГ), синтезирующийся в околощитовидной железе (ОЩЖ). Кальций-чувствительный рецептор (CaSR), экспрессируемый на поверхности клеток ОЩЖ, активирует данный синтез и секрецию ПТГ. В кровяном русле ПТГ связывается с трансмембранным рецептором костной ткани PTH1R (рецептор ПТГ I типа), сопряженным с G-белком, что приводит к увеличению остеолитической активности остеокластов и усиливает резорбцию кости. В почечном нефроне ПТГ влияет на увеличение реабсорбции кальция [17].

ПТГ может оказывать витамин D-опосредованное увеличение всасывания кальция в кишечнике путем стимулирования образования кальцитриола в почках. Кальцитриол (витамин D – $1,25(\text{OH})_2\text{D}$) синтезируют

ется из неактивного предшественника витамина D3 (холекальциферол) через двойное гидроксирование последовательно в печени и почках с участием фермента 1 α -гидроксилазы. ПТГ стимулирует транскрипцию гена *CYP27B1*, который кодирует 1 α -гидроксилазу [18] и фактор роста фибробластов 23 (FGF-23). FGF-23 в противовес оказывает ингибирующее влияние на 1 α -гидроксилазу, а также стимулирует синтез 24-гидроксилазы (*CYP24*), которая превращает кальцитриол в неактивные метаболиты [18, 19].

Особое значение в регуляции обмена кальция имеет витамин D. Биологические эффекты витамина D достигаются через стимуляцию экспрессии белковых транспортеров (TRPV 5, TRPV 6, кальций-связывающий белок кальбайнин – CaBP-9k, CaBP-28k и др.), которые способствуют всасыванию кальция в кишечнике, стимуляцию остеокластной резорбции и усилению реабсорбции кальция в почечных канальцах [6, 18]. Конечным итогом действия ПТГ и витамина D является повышение уровня кальция в крови.

Противоположным действием в регуляции обмена кальция обладает кальцитонин. Данный гормон оказывает краткосрочное гипокальциемическое действие. Синтезируется парафолликулярными С-клетками щитовидной железы, сигналом для его секреции служит гиперкальциемия. Механизм его действия обусловлен ингибцией в костной ткани активности остеокластов, уменьшающей резорбцию костной ткани и усиление экскреции ионов кальция в почечных канальцах [6, 17].

Помимо трех основных гормонов, регулирующих обмен кальция в организме, в последнее время обнаружены новые регуляторы кальциевого обмена, к которым можно отнести клото. Клото (*klotho*) – белковый гормон, представлен двумя формами: трансмембранной и экстрацеллюлярной/секреторной. Клото синтезируется в почках, кишечнике, головном мозге и некоторых других органах. Трансмембранный клото является кофактором для FGF-23, синтезируемого остеocytes. Связываясь вместе, они способны оказывать биологический эффект, взаимодействуя с рецепторами органов и тканей, тем самым реализуя свое эндокринное действие.

FGF-23 способен регулировать уровень витамина D посредством ингибирования 1 α -гидроксилазы и опосредованно влиять на кальциевый обмен [18, 19]. Выявлена ассоциация дефицита клото с атеросклерозом и кальцификацией сосудов. Низкий уровень данного белка в крови коррелирует со степенью выраженности стеноза коронарных артерий. Доказано, что низкая концентрация клото в крови и низкая экспрессия гена клото в стенке сосудов ассоциированы с высоким риском развития ишемической болезни

сердца. При этом высокое содержание клото в крови связано со сниженным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний [20].

Витамин D, помимо фосфорно-кальциевого обмена, принимает участие во многих физиологических процессах в организме. Внескелетные эффекты витамина D возможны благодаря наличию рецепторов витамина D (VDR) практически во всех клетках и тканях организма: клетках иммунной системы, гладкомышечных клетках сосудов, клетках эндотелия и кардиомиоцитах [18]. VDR имеет сходство с рецепторами тиреоидных и стероидных гормонов, является фактором транскрипции и регулирует синтез белков, в связи с чем активная форма витамина D приравнивается к стероидным гормонам [21].

Витамин D прямо или опосредованно регулирует около 200 генов. Витамин D участвует в контроле секреции провоспалительных цитокинов, молекул адгезии, пролиферации гладкомышечных клеток сосудов и кардиомиоцитов, оказывая ингибирующее влияние на процессы, связанные с атеросклерозом и кальцификацией сосудов, подавляет экспрессию гена ренина, тем самым регулирует активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [16, 18]. Опосредованно витамин D снижает синтез матриксных металлопротеиназ, что значительно ограничивает рост атеросклеротической бляшки [22], блокирует синтез провоспалительных цитокинов и молекул клеточной адгезии, сохраняя целостность сосудистой стенки и ее компонентов, в том числе ограничивает процесс кальцификации сосудов [16].

Таким образом, конституционально обусловленные нарушения внеклеточного обмена кальция могут быть связаны с геномными и эпигеномными индивидуальными особенностями, которые необходимо учитывать при оценке иммунной гиперчувствительности при патологии сердечно-сосудистой системы. В этой связи важный вклад в индивидуальные особенности кальциевого обмена вносят полиморфные варианты генов ПТГ, кальцитонина, *CYP27B1*, *CYP24*, *TRPV 5*, *TRPV 6*, *CaBP-9k*, *CaBP-28k*, *FGF-23*, *VDR* и др. [15, 18, 21]. Кроме того, хромосомные микроделеции, моногенные аномалии и операции на щитовидной железе могут также влиять на внеклеточный обмен кальция [23]. Нарушения внеклеточного обмена кальция создают предпосылки как для изменения межклеточного сигналинга, так и для внутриклеточного.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН КАЛЬЦИЯ

В клетке кальций находится в трех состояниях: 1) ионизированный (свободный); 2) локализованный в клеточных органеллах (эндоплазматический, сарко-

плазматический ретикулум, ядро, митохондрии); 3) хелатированный (связанный). Концентрация внутриклеточного кальция примерно в 10 тыс. раз меньше по сравнению с внеклеточным. Концентрация свободного кальция в покое в цитозоле достигает 100–200 нМ, чему способствуют Ca^{2+} -АТФаза и Na/Ca^{2+} -обменники, к тому же многие белки в цитоплазме связывают ионы кальция, выполняя роль буферов [6].

Более 200 генов в геноме человека кодируют Ca^{2+} -связывающие белки [5]. Биохимическое действие кальция в клетке опосредовано Ca^{2+} -связывающим мотивом EF-hand (EF-рука) и некоторыми другими Ca^{2+} -связывающими белками (кальциевые сенсоры), с которыми ассоциированы регуляция ионных токов, передача сигналов, процессы пролиферации и дифференцировки клеток [24]. Тропонин С, с участием ионов кальция, в поперечнополосатых мышцах регулирует взаимодействие между актином и миозином, а мутации в нем ассоциированы с некоторыми формами наследственных заболеваний сердца [5, 25].

Кальсеквестрин, кальрегулин, кальретикулин оказывают регулирующие влияние на транспортировку кальция и выполняют роль буфера для кальция. Аннексин V, относящийся к фосфолипид-связывающим белкам, в присутствии ионов кальция способен с высокой селективностью и аффинностью связываться с фосфатидилсеринем, который при апоптозе выходит на поверхность клеточной мембраны. Благодаря своей высокой специфичности аннексин V используется как диагностический маркер апоптоза [26]. Одним из наиболее важных кальциевых сенсоров является кальмодулин, имеющий четыре высокоаффинных Ca^{2+} -связывающих центра, что делает его многофункциональным регуляторным элементом [24].

Таким образом, ионы кальция могут регулировать активность порядка 100 ферментов, а также ионных насосов и компонентов цитоскелета. Увеличение концентрации кальция является пусковым моментом для экзоцитоза медиаторов в пресинаптических нервных окончаниях, сокращения миоцитов, высвобождения эндо- и экзокринных гормонов, миграции лейкоцитов, опухолевых клеток и многое другое. Описано значительное количество заболеваний, связанных с дефектом Ca^{2+} -транспортеров, каналов, сенсорных белков, а также ферментов, которые ими модулируются [5]. Некоторые Ca^{2+} -связывающие белки ассоциированы с онкологией и являются диагностическими маркерами [5, 27].

Стоит отметить сложноорганизованную систему регуляции внутриклеточного кальциевого обмена, его значительную роль в регуляции многих биохимических

процессов, а также в формировании широкого спектра заболеваний, в том числе иммуновоспалительных заболеваний сердечно-сосудистой системы [3, 28, 29]. Важное значение принадлежит полиморфным вариантам генов Ca^{2+} -транспортеров и сенсорным белкам в детерминировании нарушений внутриклеточного обмена кальция. Остановимся на роли кальция в поддержании аутовоспалительных заболеваний, связанных с активацией врожденного иммунитета через апоптоз и пироптоз.

РОЛЬ КАЛЬЦИЯ В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА

Определенные индивидуальные особенности могут способствовать значительному повышению концентрации уровня кальция в клетке до 1 000 нМ. Такое состояние достигается путем открытия Ca^{2+} -каналов в плазматической мембране или мембране эндоплазматического ретикулума посредством дигидропиридинового и рианоинового рецепторов [30, 31].

Вышеперечисленные механизмы приводят к резкому и краткосрочному повышению концентрации кальция в цитоплазме, так называемые пики кальция [5]. Определенные сигналы способны увеличивать частоту этих пиков, приводя к длительному повышению уровня кальция в цитозоле, что оказывает цитотоксическое действие на клетку, которая крайне чувствительна к изменению концентрации кальция. Фосфолипаза A2, находящаяся на внутренней мембране митохондрий, активируется цитозольным кальцием, что приводит к повреждению фосфолипидной мембраны митохондрий и нарушает их работу [30]. На первых порах митохондрии успешно справляются с повышением цитозольного кальция, так как могут накапливать его в виде нерастворимой соли – гидроксиапатита, но это временная и вынужденная мера. Пока митохондрии активно «прячут» кальций, они не способны синтезировать аденозинтрифосфорную кислоту (АТФ), недостаток которого не дает выйти лишнему кальцию из клетки через насосы. В результате разрыва дыхательной цепи развивается окислительный стресс, что потенцирует образование пор в митохондриальной мембране. Гидролиз фосфолипидной мембраны ведет к накоплению свободных жирных кислот в митохондриях, что коррелирует со степенью их повреждения. Если не разорвать данный порочный круг, клетка погибнет [5].

В результате цитозольной перегрузки кальция запускается внутренний (митохондриальный) путь апоптоза, который связан с изменением мембранного потенциала и высвобождением проапоптотических белков, принадлежащих к семейству Bcl-2 (B-cell lymphoma-2): Bax (Bcl-2-associated X-protein)

и Bak (Bcl-2 homologous antagonist/killer) [5, 32]. Данные события нарушают целостность митохондриальной мембраны, формируя апоптотические поры, и способствуют выходу митохондриальных белков, таких как цитохром С и AIF (apoptosis-inducing factor, фактор инициации апоптоза), способных инициировать апоптоз, независимый от каспаз [28, 30, 32]. Цитохром С связывается с адаптерным белком APAF-1 (apoptosis protease activating factor-1, фактор активации апоптотических протеаз 1-го типа), в результате чего образуется апоптосома, превращающая прокаспазу-9 в активную каспазу-9. Далее запускается каскад, в котором активируются эффекторные каспазы: 3, 6, 7 [5, 32].

Активированные каспазы способны расщеплять насосы, расположенные в плазматической мембране (PMCA), что еще больше перегружает клетку кальцием и приводит к еще большей активации протеаз и каспаз [5]. Таким образом активированные каспазы запускают цепь биохимических процессов, влекущих за собой деструкцию клетки.

В литературе описано, что уровень кальция определяет пути апоптоза или некроза, по которым будет осуществляться механизм клеточной гибели. Небольшое увеличение уровня кальция способно инициировать апоптоз, в то время как его значительное увеличение связано с развитием некроза [28]. Развитие некроза связано с активацией, повышенным уровнем кальция, Ca^{2+} -зависимых фосфолипаз и нуклеаз, а также кальпаинов, что вызывает деструктивные изменения клеточных структур. Важное значение имеет энергообеспечение клетки, где при высоких запасах АТФ гибель клетки запускается по механизмам апоптоза, а при энергетическом истощении реализуется механизм некроза [28, 30].

РОЛЬ КАЛЬЦИЯ В РЕГУЛЯЦИИ ПИРОПТОЗА

Одним из защитных регуляторных механизмов врожденного иммунитета является пироптоз – вид программируемой некротической гибели лейкоцитов, чаще моноцитов/макрофагов [33]. Но в отличие от апоптоза, пироптоз протекает с развитием воспаления, так как сопровождается выбросом провоспалительных цитокинов. Развитие данного процесса возможно благодаря образованию мультибелкового комплекса – инфламмасомы. Инфламмасома имеет сенсорные молекулы, которые делают возможным связывание каспазы 1 с адапторным белком PYCARD/ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD). Активация каспазы 1 приводит к активации про-интерлейкинов (IL) 1 β и IL-18 [34].

Помимо прочего при пироптозе происходит формирование пор в цитоплазматической мембране, обусловленное действием эффекторного белка гасдермина D [33], в результате разницы осмотического давления, внутрь клетки устремляются ионы Na^+ и вода. Клетка подвергается лизису, а все ее содержимое, включая провоспалительные цитокины и связанные с повреждением молекулярные паттерны – DAMPs, выходят в межклеточное пространство и потенцируют местное воспаление. Пироптоз, как вид клеточной смерти, направлен на элиминацию инфекционных агентов, попавших внутрь клетки, и его активация осуществляется патоген-ассоциированными молекулярными паттернами – PAMPs [34, 35].

К одной из наиболее изученных и представляющих интерес относят инфламмасому NLRP3. Существуют внутриклеточные и внеклеточные пути активации NLRP3 инфламмасомы. Внутриклеточный механизм активации связан с уровнем кальция. При возникновении дегидратации, обусловленной изменением осмотического давления при выходе калия и хлора из клетки, стимулируется мобилизация ионов кальция через TRP-каналы [36]. Повышение уровня кальция в клетке приводит к активации одной из его мишеней – TAK1 (TGF- β -активированная киназа 1), связанной с деубиквитинированием NLRP3 [5, 34].

Изменение концентрации внеклеточного кальция может понести за собой снижение циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) посредством ингибирования аденилатциклазы, а также увеличение внутриклеточного кальция, как результат активации фосфолипазы С и синтеза вторичных мессенджеров, связанных с мобилизацией кальция. Влияние самого цАМФ на активацию инфламмасомы в литературе носит спорный характер [37].

Особенность NLRP3 инфламмасомы заключается в том, что для ее сборки необходимо два сигнала. Первым сигналом служат продукты микроорганизмов и цитокины, а вторым – различные кристаллические вещества, в том числе кристаллы холестерина. Установлено, что кристаллы холестерина и окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП) способны стимулировать каспазу 1, активирующую NLRP3 инфламмасому, тем самым приводя к индукции воспаления [38–40].

Окисление ЛПНП происходит под действием активных форм кислорода, продуцируемых эндотелием сосуда. Окисленные ЛПНП намного активнее захватываются макрофагами, именно им принадлежит существенная роль в атерогенезе [39, 40]. Результатом активации NLRP3 является синтез IL-1 β , который связан с механизмом развития атеросклероза. IL-1 β приводит к усилению адгезии лейкоцитов

и моноцитов к сосудистым эндотелиальным клеткам и их прокоагулянтной активности, увеличению синтеза и активности фактора некроза опухоли (TNF), хемокинов, оксида азота и др. [41]. Избыточная активация инфламмасом, в том числе за счет кальций-опосредованных механизмов, может стать причиной системного нерегулируемого воспалительного процесса, лежащего в основе ряда аутовоспалительных заболеваний: атеросклероза, ревматоидного артрита, болезни Крона, ожирения, сахарного диабета, болезни Альцгеймера и др. [40].

Таким образом, ионы кальция можно отнести к небелковым медиаторам, которые инициируют клеточную гибель как через апоптоз, так и пироптоз. Механизм выбора клеточной смерти достаточно сложен и многогранен и зависит от типа, а также силы, с которой воздействует тот или иной стимул, активирующий гибель клетки. Кроме того, ионы кальция влияют на активность инфламмасы, а значит и аутовоспалительного процесса. К одним из значимых аутовоспалительных заболеваний стоит отнести атеросклероз [40].

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ КАЛЬЦИФИКАЦИИ И АТЕРОСКЛЕРОЗА

Установлена роль нарушения гомеостаза кальция в развитии атеросклероза, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, нарушении мозгового кровообращения, что позволяет объединить данные заболевания в «кальцийдефицитные» болезни человека [29]. Общим в патогенезе данных болезней являются генетически обусловленные механизмы, связанные с концентрацией внутриклеточного кальция как в кардиомиоцитах, так и в гладкомышечных клетках сосудов и нейронах головного мозга. Обнаруженные полиморфизмы генов, отвечающих за метаболизм кальция, способны объяснить генетическую восприимчивость к развитию кальцификации биологических протезов сердечных клапанов [15].

Кальцификация сосуда или клапана сердца увеличивает риск сердечно-сосудистых событий и является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении ишемической болезни сердца. Склерозирование стенки сосуда с отложением солей кальция изменяет архитектуру сосуда, приводя к сужению его просвета вплоть до облитерации. Данный процесс имеет сходство с остеогенезом, так как обнаружены общие участники и принципы, по которым развивается этот процесс [16].

При кальцификации атеросклеротической бляшки важным является характер отложения солей кальция. При гомогенном отложении кальция повышает-

ся прочность покрышки бляшки и снижается риск ее разрыва, в то время как неравномерное отложение имеет прямо противоположный эффект. В связи с данными обстоятельствами затруднительно однозначно определить, стабилизирующее или дестабилизирующее действие оказывает кальций.

Одним из механизмов кальцификации сосудистой стенки является дефицит ингибиторов кальцификации (остеопонтин, пирофосфаты), продуцируемых гладкомышечными клетками. Также в развитии сосудистой кальцификации участвует система остеопротегерин (OPG)/лиганд рецептора-активатора ядерного фактора κB (NF- κB) (RANKL)/рецепторный активатор ядерного NF- κB (RANK) [42]. OPG обнаружен в некоторых тканях и органах, в том числе в сосудистой стенке и сердце. OPG участвует в синтезе моноцитарного хемотаксического фактора-1 (MCP-1) и матриксных металлопротеиназ (ММР), тем самым поддерживает воспаление в атеросклеротической бляшке [43]. Выявлено, что при делеции гена *OPG* у мышей развивается кальцификация аорты.

Проведенные исследования показывают, что повышенный уровень OPG в крови коррелирует с тяжестью атеросклеротического поражения сосудов, сердечной недостаточностью, нестабильной стенокардией, острым инфарктом миокарда [42, 43]. Кальцификация клапанного импланта может формироваться и под воздействием основного иммуновоспалительного процесса, индуцировавшего формирование приобретенного порока сердца.

Как уже говорилось выше, ревматическая болезнь является не только стрептококк-ассоциированной патологией, но и аутоиммунным заболеванием, развивающимся по второму и третьему типам иммунопатологических (аллергических: цитотоксических и иммунокомплексных) реакций [7]. Патогенез этого заболевания связан с конституциональной иммунной гиперчувствительностью, развивающейся по этим типам аллергических реакций и ассоциированной с определенными аллелями и генотипами HLA. Именно гены иммунного ответа (Ir), входящие во II класс системы HLA, детерминируют нарушения иммунной регуляции аутоиммунными клонами Т-лимфоцитов [8]. В то же время не исключено влияние нарушений обмена кальция на патохимическую и патофизиологическую фазы иммунной гиперчувствительности при данной патологии.

В частности, процесс дегрануляции клеток, участвующих в иммунном (аллергическом) воспалении, связан с ионами кальция. Так, ионы кальция и компоненты комплемента C3a и C5a (анафилотоксины) являются вторичными либераторами гистамина и других активных молекул клеточных гранул [44].

Через фосфорилирование тирозинкиназой Syk активируется фосфолипаза C γ (PLC γ), которая катализировывает распад фосфатидилинозитол дифосфата на инозитол-3-фосфат (IP3) и диацилглицерол (DAG).

В клетках аллергического воспаления происходит увеличение внутриклеточного кальция, опосредованное инозитол-3-фосфатом (IP3), который истощает внутриклеточное депо кальция. Повышенная концентрация кальция активирует транскрипционные факторы и приводит к экзоцитозу гранул. Ионы кальция в присутствии DAG активируют протеинкиназу C, которая фосфорилирует L-цепи миозина, связана с сокращением элементов цитоскелета и инициирует дегрануляцию [7]. Ионы кальция участвуют в активации эстеразы из проэстеразы, которая посредством фосфолипазы D приводит к гидролизу фосфолипидов, являющихся основой клеточной стенки. Истончение мембраны облегчает процесс экзоцитоза гранул с высвобождением медиаторов [45]. Также тирозинкиназа Syk при участии ионов кальция активирует фосфолипазу A2 (PLA2), которая участвует в синтезе арахидоновой кислоты с последующим образованием эйкозаноидов – медиаторов поздней фазы иммунного (аллергического) воспаления [7, 8].

Таким образом, механизм кальцификации сосудов и клапанных протезов до конца не изучен, но есть представления о нарушении баланса между стимуляторами и ингибиторами кальцификации, запускающем данный процесс, а также о роли конституциональных нарушений внутриклеточного обмена кальция как поддерживающей основы преимущественно для патохимической фазы иммунной гиперчувствительности. Последнее необходимо учитывать при хирургической коррекции клапанных пороков, сформировавшихся при ревматической болезни.

Атеросклероз рассматривается как хроническое стерильное воспаление и относится к группе метаболических нарушений. В основе хронического стерильного воспаления лежит накопление DAMPs внутри клетки, а позже и снаружи, сборка инфламасом, гиперпродукция активных форм кислорода и аутофагия, местный синтез провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18. Перечисленные события способствуют локальному накоплению иммунокомпетентных клеток – макрофагов и лимфоцитов, с последующим повреждением тканей и развитием фиброза [40].

Таким образом, в основе атеросклероза лежит воспалительная реакция врожденного иммунитета, направленная на поддержание метаболического гомеостаза посредством распознавания DAMPs. В литературе описано, что на крайних этапах хронического стерильного воспаления может активировать-

ся адаптивный иммунный ответ, характеризующийся появлением аутореактивных Т- и В-лимфоцитов и антител [46].

Хроническое воспаление в сосудистой стенке поддерживается медиаторами межклеточного взаимодействия, в большей степени IL-1, IL-6 и TNF [22]. Провоспалительные и проатерогенные медиаторы принимают участие в индукции апоптоза, что вносит свой вклад в развитие и дальнейшее прогрессирование атерогенеза. С точки зрения физиологии апоптоз не связан с воспалением, но в атерогенезе он способен оказывать провоспалительное влияние. Из разрушенных апоптотических клеток высвобождается ДНК, которая подлежит незамедлительному поглощению фагоцитами с последующим выделением провоспалительных цитокинов [47].

Изменение экспрессии и активности провоспалительных цитокинов в сторону увеличения приводит к дестабилизации атеросклеротической бляшки за счет увеличения липидного ядра, утолщения фиброзной покрышки и скопления макрофагов [22]. Это, в свою очередь, приводит к надрыву бляшки и запускает механизм атеротромбоза. С развитием атеросклероза и соответствующих сосудистых осложнений выявлена ассоциация полиморфных вариантов генов Toll-рецепторов врожденного иммунного ответа, в особенности TLR4 [48]. Экспрессия данных рецепторов представлена на кардиомиоцитах, а также макрофагах, гладкомышечных и эндотелиальных клетках сосудов. Взаимодействие с липополисахаридами бактериальной стенки и другими атерогенными лигандами способно активировать фактор транскрипции NF- κ B, в результате чего синтезируется широкий спектр медиаторов, в том числе с атерогенной активностью [22, 46].

Роль нарушений внутриклеточного обмена кальция, стимулирующих апоптоз, пироптоз и воспаление, описана выше. Именно эти патологические изменения обмена кальция способствуют индукции и поддержанию атеросклеротического процесса. Кроме того, конституционально обусловленные нарушения баланса между стимуляторами и ингибиторами кальцификации вносят существенный вклад в его прогрессирование.

Таким образом, атеросклероз рассматривается как хронический воспалительный процесс, поражающий сосудистую стенку артерии с вовлечением иммуновоспалительных механизмов врожденного и адаптивного иммунитета. Атеросклеротическое поражение сосудов представляет собой совокупность процессов и факторов, приводящих к его запуску, прогрессированию течения, дестабилизации бляшки, развитию атеротромбоза и соответствующих ос-

ложнений. При этом кальций участвует в процессах кальцификации, в запуске и поддержании хронического воспаления [22, 40, 47].

РОЛЬ КАЛЬЦИЯ В РАЗВИТИИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Формирование эссенциальной гипертензии также связано с нарушениями внутриклеточного обмена кальция. Модельные эксперименты на линии мышей SHR (spontaneously hypertensive rats) показали значимость наследственных дефектов Na^+ и Ca^{2+} ионных каналов в мембране гладкомышечных клеток резистивных артерий. Эти изменения приводят к увеличению тонуса артерий и повышению чувствительности к различным прессорным стимулам с дальнейшим развитием эндотелиальной дисфункции [49]. Обнаружены изменения в водно-электролитном балансе со снижением натрийуреза [50].

Генетически обусловленные дефекты также выявлены в дигидропиридиновых рецепторах (DHPR), локализованных на мембране кардиомиоцитов. Данные рецепторы обеспечивают поступление кальция внутрь клетки и тесно связаны с рианодиновыми рецепторами (RyR), которые регулируют высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулула. Через запуск механизма Ca^{2+} -индуцированного выброса кальция (CICR) данные рецепторы участвуют в сокращении сердечной мышцы, нарушение их работы может повлечь за собой стойкое повышение артериального давления [31]. Мутация в гене *RyR2* 2-го типа, приводящая к нарушению баланса кальция в клетке, ассоциирована с сердечной недостаточностью, аритмогенной дисплазией правого желудочка и увеличением риска внезапной сердечной смерти [51].

Таким образом, нарушение обмена кальция ассоциировано с повышением артериального тонуса. Нарушение внутриклеточного гомеостаза кальция влияет не только на сердечно-сосудистую систему, но и на функционирование других систем организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биологическая роль кальция в активации и подавлении иммунных и воспалительных реакций в организме человека крайне разнообразна, а регуляция его внеклеточного и внутриклеточного обмена достаточно сложно организована. Бессчетное количество биохимических реакций, в которое кальций может вступать, подтверждает его уникальность.

По некоторым данным, насчитывается до 150 различных заболеваний, связанных с нарушением обмена кальция. В отношении формирования атеросклероза и кальцификации имплантированных клапанов

роль кальция сводится к индукции аутовоспалительных реакций, в том числе через апоптоз и пироптоз. С позиции персонализированного подхода к лечению сердечно-сосудистых заболеваний, необходим контроль не только за концентрацией кальция в крови, но и за гормонами, участвующими в его внеклеточном обмене. Особенности внутриклеточного обмена кальция можно прогнозировать при исследовании в крови растворимых форм остеопротегерина, а также полиморфных вариантов генов сенсорных и транспортных, по отношению к кальцию, белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмеджанова З.И., Жиёмуратова Г.К., Данилова Е.А. и др. Макро- и микроэлементы в жизнедеятельности организма и их взаимосвязь с иммунной системой. *Журнал теоретической и клинической медицины*. 2020; 1: 16–21.
2. Антонова Л.В., Кудрявцева Ю.А. Разработка тканеинженерного сосудистого графта малого диаметра для нужд сердечно-сосудистой хирургии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2016; 5 (3): 6–9.
3. Майлян Д.Э., Коломиец В.В. Роль дисметаболизма кальция в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. *Российский кардиологический журнал*. 2019; 9: 78–85. DOI: 10.15829/1560-4071-2019-9-78-85.
4. Blaine J., Chonchol M., Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2015; 10 (7): 1257–1272. DOI: 10.2215/CJN.09750913.
5. Schaub M.C., Heizmann C.W. Calcium in health and disease. In: Kretsinger R.H., Uversky V.N., Permyakov E.A. (eds). *Encyclopedia of metalloproteins*. Springer, New York, 2013: 478–484. DOI: 10.1007/978-1-4614-1533-6.
6. Ахполова В.О., Брин В.Б. Обмен кальция и его гормональная регуляция. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2017; 2: 38–46.
7. Ярилин А.А. Иммунология. М.: Гэотар-Медиа, 2010: 615–617.
8. Хаитов Р.М., Гариб Ф.Ю. Иммунология. Атлас. М.: Гэотар-Медиа, 2020: 387–402.
9. Гудима Г.О. Стратегии точной медицины в современной клинической иммунологии и аллергологии. *Иммунология*. 2019; 40 (4): 83–87.
10. Figueras-Nart I., Mascaró J.M. Jr., Solanich X. et al. Dermatologic and dermatopathologic features of monogenic autoinflammatory diseases. *Front. Immunol.* 2019; 10: 2448. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02448.
11. Насонов Е.Л., Попкова Т.В. Противовоспалительная терапия атеросклероза – вклад и уроки ревматологии. *Научно-практическая ревматология*. 2017; 55 (5): 465–473. DOI: 10.14412/1995-4484-2017-465-473.
12. Насонов Е.Л., Елисеев М.С. Роль интерлейкина 1 в развитии заболеваний человека. *Научно-практическая ревматология*. 2016; 54 (1): 60–77. DOI: 10.14412/1995-4484-2016-60-77.
13. Carapetis J.R., Beaton A., Cunningham M.W. et al. Acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2016; 2: 15084. DOI: 10.1038/nrdp.2015.84.

14. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. Аутоиммунные ревматические заболевания: итоги и перспективы научных исследований. *Научно-практическая ревматология*. 2015; 53 (3): 230–237. DOI: 10.14412/1995-4484-2015-230-237.
15. Понасенко А.В., Кутихин А.Г., Хуторная М.В. и др. Связь полиморфизмов генов метаболизма кальция с риском тяжелой кальцификации ксеноаортальных биопротезов клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2018; 3 (4): 12–21. DOI: 10.23946/2500-0764-2018-3-4-12-21.
16. Wang J., Zhou J.J., Robertson G.R. et al. Vitamin D in vascular calcification: a double-edged sword? *Nutrients*. 2018; 10 (5): 652. DOI: 10.3390/nu10050652.
17. Centeno P.P., Herberger A., Mun H.C. et al. Phosphate acts directly on the calcium-sensing receptor to stimulate parathyroid hormone secretion. *Nat. Commun.* 2019; 10 (1): 4693. DOI: 10.1038/s41467-019-12399-9.
18. Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A. et al. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol. Rev.* 2016; 96 (1): 365–408. DOI: 10.1152/physrev.00014.2015.
19. Richter B., Faul C. FGF23 actions on target tissues-with and without Klotho. *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2018; 9: 189. DOI: 10.3389/fendo.2018.00189.
20. Navarro-González J.F., Donate-Correa J., Muros de Fuentes M. et al. Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Heart*. 2014; 100 (1): 34–40. DOI: 10.1136/heartjnl-2013-304746.
21. Бухалко М.А., Скрипченко Н.В., Скрипченко Е.Ю. и др. Значение полиморфизма гена рецептора витамина D в патологии человека. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2017; 62 (6): 23–28. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-6-23-28.
22. Аймагамбетова А.О. Атерогенез и воспаление. *Наука и здравоохранение*. 2016; 1: 24–39. DOI: 0000-0003-1496-3281.
23. Kim J.H., Shin Y.L., Yang S. et al. Diverse genetic aetiologies and clinical outcomes of paediatric hypoparathyroidism. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. 2015; 83 (6): 790–796. DOI: 10.1111/cen.12944.
24. Колобынина К.Г., Соловьева В.В., Слепак В.З. и др. Роль EF-hand $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -связывающего белка тескалина в процессах пролиферации и дифференцировки клеток. *Гены и клетки*. 2015; 10 (1): 28–34.
25. Guhathakurta P., Prochniewicz E., Thomas D.D. Actin-myosin interaction: structure, function and drug discovery. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 (9): 2628. DOI: 10.3390/ijms19092628.
26. Valencia-Núñez D.M., Kreutler W., Moya-Gonzalez J. et al. Endothelial vascular markers in coronary surgery. *Heart Vessels*. 2017; 32 (11): 1390–1399. DOI: 10.1007/s00380-017-1006-3.
27. Chiang J.M., Tan R., Wang J.Y. et al. S100P, a calcium-binding protein, is preferentially associated with the growth of polypoid tumors in colorectal cancer. *Int. J. Mol. Med.* 2015; 35 (3): 675–683. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2065.
28. Bahar E., Kim H., Yoon H. ER stress-mediated signaling: activation potential and Ca^{2+} as key players. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (9): 1558. DOI: 10.3390/ijms17091558.
29. Veronese N., Stubbs B., Crepaldi G. et al. relationship between low bone mineral density and fractures with incident cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Bone Miner. Res.* 2017; 32 (5): 1126–1135. DOI: 10.1002/jbmr.3089.
30. Орлова Д.Д., Трибулович В.Г., Гарабаджиу А.В. и др. Роль митохондриального морфогенеза в регуляции апоптоза. *Цитология*. 2015; 57 (3): 184–191.
31. Захаров Е.А., Ключева Н.З., Белостоцкая Г.Б. Механизмы формирования кальций-зависимой гипертензии на модели кардиомиоцитов крыс в культуре. *Артериальная гипертензия*. 2009; 15 (6): 683–687. DOI: 10.18705/1607-419X-2009-15-6-683-687.
32. Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представления о клеточной гибели. *Гены и клетки*. 2018; 8 (1): 6–19. DOI: 10.23868/201805001.
33. Shi J., Gao W., Shao F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death. *Trends Biochem. Sci.* 2017; 42 (4): 245–254. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.10.004.
34. Guo H., Callaway J.B., Ting J.P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.* 2015; 21 (7): 677–687. DOI: 10.1038/nm.3893.
35. Feng S., Fox D., Man S.M. Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death. *J. Mol. Biol.* 2018; 430 (18 Pt. B): 3068–3080. DOI: 10.1016/j.jmb.2018.07.002.
36. Пирожков С.В., Литвицкий П.Ф. Инфламмосомные болезни. *Иммунология*. 2018; 39 (2-3): 158–165. DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-2-3-158-165.
37. Lee G.S., Subramanian N., Kim A.I. et al. The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca^{2+} and cAMP. *Nature*. 2012; 492 (7427): 123–127. DOI: 10.1038/nature11588.
38. Duewell P., Kono H., Rayner K.J. et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*. 2010; 464 (7293): 1357–1361. DOI: 10.1038/nature08938.
39. Victor V.M., Apostolova N., Herance R. et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in atherosclerosis: mitochondria-targeted antioxidants as potential therapy. *Curr. Med. Chem.* 2009; 16 (35): 4654–4667. DOI: 10.2174/092986709789878265.
40. Strowig T., Henao-Mejia J., Elinav E. et al. Inflammasomes in health and disease. *Nature*. 2012; 481 (7381): 278–286. DOI: 10.1038/nature10759.
41. Ridker P.M. From C-reactive protein to interleukin-6 to interleukin-1: Moving upstream to identify novel targets for atheroprotection. *Circ. Res.* 2016; 118 (1): 145–156. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306656.
42. Rattazzi M., Faggini E., Bertacco E. et al. RANKL expression is increased in circulating mononuclear cells of patients with calcific aortic stenosis. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2018; 11 (4): 329–338. DOI: 10.1007/s12265-018-9804-2.
43. Mogelvang R., Pedersen S.H., Flyvbjerg A. et al. Comparison of osteoprotegerin to traditional atherosclerotic risk factors and high-sensitivity C-reactive protein for diagnosis of ath-

- erosclerosis. *Am. J. Cardiol.* 2012; 109 (4): 515–520. DOI: 10.1016/j.amjcard.2011.09.043.
44. Сидорович О.И., Лусс Л.В. Пищевая аллергия принципы диагностики и лечения. *Медицинский совет.* 2016; (16): 141–147. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-16-141-147.
45. Delves P.J., Martin S.J., Burton D.R. et al. Roitt's essential immunology. Wiley-Blackwell. 13th ed. 2017: 405–430.
46. Land W.G. The role of damage-associated molecular patterns in human disease. Part 1 – Promoting inflammation and immunity. *Sultan Quaboos Univer. Med. J.* 2015; 15 (1): e9–21.
47. Потапнев М.П. Иммунные механизмы стерильного воспаления. *Иммунология.* 2015; 36 (5): 312–317.
48. Барбараш О.Л., Головкин А.С., Понасенко и др. Роль полиморфизма генов Toll-подобных рецепторов в развитии осложнений атеросклероза. *Российский кардиологический журнал.* 2015; 20 (12): 72–79. DOI: 10.15829/1560-4071-2015-12-72-79.
49. Благоданов М.Л., Медведева Е.В., Брык А.А. и др. Особенности экскреции электролитов на ранних стадиях развития артериальной гипертензии у крыс линии SHR. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2017; 164 (7): 21–24.
50. Carey R.M. Blood pressure and the renal actions of AT2 receptors. *Curr. Hypertens. Rep.* 2017; 19 (3): 21. DOI: 10.1007/s11906-017-0720-7.
51. Liu Y., Wei J., Wong King Yuen S.M. et al. CPVT-associated cardiac ryanodine receptor mutation G357S with reduced penetrance impairs Ca^{2+} release termination and diminishes protein expression. *PLoS One.* 2017; 12 (9): e0184177. DOI: 10.1371/journal.pone.0184177.

Сведения об авторах

Деева Надежда Сергеевна, мл. науч. сотрудник, лаборатория клеточных технологий, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-6162-4808.

Шабалдин Андрей Владимирович, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория пороков сердца, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-8785-7896.

Антонова Лариса Валерьевна, д-р мед. наук, зав. лабораторией клеточных технологий, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-8874-0788.

(✉) Деева Надежда Сергеевна, e-mail: deevanadusha69@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.07.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Роль нейтрофилов в патогенезе ишемического инсульта

Долгушин И.И.¹, Зарипова З.З.², Карпова М.И.¹

¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет (ЮУГМУ)
Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

² Челябинская областная клиническая больница (ЧОКБ)
Россия, 454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 70

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Иммунные реакции и воспалительный процесс играют важную роль в патогенезе ишемического инсульта.

Цель. На основании научных публикаций проанализировать вовлеченность нейтрофилов в патогенез ишемического инсульта.

Результаты. Обобщены данные о вкладе нейтрофильных гранулоцитов в развитие локального асептического воспаления и вторичного повреждения мозга при остром инсульте. Обсуждены механизмы влияния нейтрофилов на процесс тромбообразования, образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (нетоз), высвобождение протеаз и прямое взаимодействие с тромбоцитами с образованием лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов. Приведены имеющиеся сведения об эффективности реперфузионной терапии, а также ассоциации изменений активности нейтрофилов с развитием инфекционных осложнений инсульта. Представлены данные исследований о вкладе нейтрофилов в атерогенез, являющийся одним из важнейших этиологических факторов ишемического инсульта. Показано, что участие нейтрофилов в патогенезе ишемического инсульта связано с реализацией их секреторных, регуляторных, фагоцитарных функций и с нетозом.

Заключение. Установлено, что нейтрофилы принимают активное участие в патогенезе ишемического инсульта и модулируют ответ на лечение.

Ключевые слова: нейтрофилы, нейтрофильные внеклеточные ловушки, нетоз, ишемический инсульт, инфекционные осложнения инсульта, тромболитическая терапия.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Долгушин И.И., Зарипова З.З., Карпова М.И. Роль нейтрофилов в патогенезе ишемического инсульта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 152–160. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-152-160>.

The role of neutrophils in the pathogenesis of ischemic stroke

Dolgushin I.I.¹, Zaripova Z.Z.², Karpova M.I.¹

¹ South Ural State Medical University (SUSMU)
64, Vorovskogo St., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation

✉ Карпова Мария Ильинична, e-mail: kmi_2008@mail.ru

² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital
70, Vorovskogo St., Chelyabinsk 454048, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Immune responses and inflammation play an important role in the pathogenesis of ischemic stroke.

Aim. To analyze the involvement of neutrophils in the pathogenesis of ischemic stroke.

Results. Data on the contribution of neutrophil granulocytes to the development of local sterile inflammation and secondary brain injury in acute ischemic stroke were summarized. Mechanisms of neutrophil influence on thrombosis, neutrophil extracellular trap formation (NETosis), protease release, and direct interaction with platelets with subsequent formation of platelet-leukocyte aggregates were discussed. Available information on the effectiveness of reperfusion therapy and an association of changes in neutrophil activity with development of infectious complications of stroke were presented. In addition, research data were presented on the contribution of neutrophils to atherogenesis, which is one of the most important etiological factors in ischemic stroke. The review showed that the contribution of neutrophils to the pathogenesis of ischemic stroke is associated with implementation of their secretory, regulatory, and phagocytic functions, as well as with NETosis.

Conclusion. It was shown that neutrophils are involved in the pathogenesis of ischemic stroke and modulate a response to treatment.

Key words: neutrophils, neutrophil extracellular traps, NETosis, ischemic stroke, post-stroke infections, thrombolysis.

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: Dolgushin I.I., Zaripova Z.Z., Karpova M.I. The role of neutrophils in the pathogenesis of ischemic stroke. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 152–160. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-152-160>.

ВВЕДЕНИЕ

Острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) являются одной из ведущих причин смертности и стойкой утраты трудоспособности населения как в Российской Федерации, так и в мире в целом. В нашей стране регистрируется около 450 тыс. случаев инсульта в год [1]. Средняя частота летального исхода в течение первых 30 сут после инсульта, по данным разных авторов, колеблется в пределах от 17 до 34%. Лишь половина пациентов, перенесших первый инсульт, живут 3 года и более, 35% больных – 10 лет [2]. Помимо смертности непосредственно от инсульта большое количество летальных исходов вызвано его инфекционно-воспалительными осложнениями, прежде всего пневмонией [3, 4]. Более чем у 80% пациентов инсульт приводит к инвалидизации со стойким неврологическим дефицитом [5].

Иммунные реакции и воспалительный процесс, инициированные ишемией, являются важными патогенетическими феноменами, вызывающими деструкцию ткани головного мозга [6]. Предполагается, что особенности воспалительного ответа, тесно сопряженные с истощением антиоксидантных механизмов, нарушением микроциркуляции и гематоэн-

цефалического барьера, во многом определяют течение заболевания на всех его стадиях [7]. При этом отмечается двойственная роль активации иммунной системы при ОНМК.

С одной стороны, иммунный ответ является са-ногенетическим и направлен на удаление некротизированной ткани, а с другой – способен отягощать течение ишемического инсульта, увеличивая область инфаркта [8]. При гибели нейронов под воздействием экспрессии генов активизируется синтез провоспалительных цитокинов (интерлейкин (ИЛ) 1 α и β , фактор некроза опухоли α (ФНО- α)), молекул межклеточного взаимодействия, циклооксигеназы-2 [9, 10]. Каскад реакций, инициированный ишемией, неизбежно вовлекает и факторы врожденного иммунитета, в том числе самую многочисленную популяцию лейкоцитов – нейтрофилы.

От момента открытия в XIX в. И.И. Мечниковым функции фагоцитоза микроорганизмов нейтрофильными гранулоцитами взгляды на их роль в иммунологических процессах существенно изменились [11–14]. На сегодняшний день фундаментальные исследования убедительно доказали, что роль нейтрофилов не ограничивается уничтожением внекле-

точных патогенов [13, 14]. Они также выполняют регуляторную функцию, активируя и модулируя адаптивный иммунитет, способствуя его полноценной реализации [15]. Нейтрофилы в свете современных представлений – это полипотентная популяция клеток иммунной системы, относящаяся к врожденному иммунитету и играющая важную роль в поддержании иммунного гомеостаза в организме [16].

Популяция нейтрофилов неоднородна и включает в себя различные субпопуляции клеток [17]. В зависимости от продуцируемых медиаторов, рецепторов, маркеров их разделяют на провоспалительные, воспалительные с позитивным микробицидным потенциалом, воспалительные с негативным цитотоксическим потенциалом («агрессивные»), противовоспалительные, регулирующие регрессию воспаления, противоопухолевые и гибридные, сочетающие свойства нейтрофилов и дендритных клеток [13, 14]. Исследование субпопуляций нейтрофилов при воспалительных заболеваниях выявило их прогностическую значимость как маркеров тяжелого течения острой инфекции и ее неблагоприятного исхода [11].

В последние годы появилось большое количество новых сведений о том, что нейтрофилы вовлечены в патогенетические механизмы многих неинфекционных заболеваний, в том числе сосудистых [4, 13]. В этой связи большой интерес представляет изучение участия нейтрофилов в развитии ишемического инсульта, что является одним из наименее исследованных аспектов иммунологии нарушений мозгового кровообращения.

Целью обзора явился анализ имеющихся на сегодняшний день данных о роли нейтрофилов в патогенезе ишемического инсульта.

УЧАСТИЕ НЕЙТРОФИЛОВ В АСЕПТИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Нейтрофилы – это одни из самых быстро реагирующих клеток иммунной системы. Они мигрируют в головной мозг уже через несколько минут от начала инсульта. Механизм интратекального поступления нейтрофилов при ишемическом повреждении был изучен в экспериментальных моделях с прижизненной визуализацией. Нейтрофилы мигрируют по сосудистой стенке даже против кровотока для того, чтобы выйти из сосудистого русла и попасть в зону ишемии [18]. Нейтрофилы способны экспрессировать различные молекулы эндотелиальной адгезии в течение первых 15 мин после ишемии [19].

В дальнейшем, от 6 до 8 ч после инсульта, нейтрофилы окружают сосуды головного мозга и иници-

ируют инфильтрацию окружающей ткани [20, 21]. В экспериментальных моделях ишемического инсульта показано, что инфильтрация нейтрофилами возникает уже в первые сутки, достигая пика на 3-и, и затем начинает снижаться, но присутствует и через 7, и через 15 сут после развития церебральной ишемии.

М. Gelderblom и соавт. (2012) продемонстрировали, что нейтрофилы являются преобладающими иммунными клетками, присутствующими в ишемизированном полушарии через 3 сут после окклюзии средней мозговой артерии в эксперименте [22]. R.M. Weston и соавт. (2007) сообщили, что нейтрофильная инфильтрация ишемизированных тканей сохраняется до 32 сут, однако присутствие нейтрофилов маскируется концентрацией активированных макрофагов/микроглии [19].

Проникая в зону ишемии, нейтрофилы становятся причиной вторичного повреждения ткани мозга из-за высвобождения провоспалительных факторов, активных форм кислорода, протеаз, матричных металло-пероксидаз [23]. Данные факторы повреждают мембрану эндотелиальных клеток и базальную пластинку, приводя к повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера и постишемическому отеку ткани мозга [24].

НЕЙТРОФИЛЫ И ТРОМБООБРАЗОВАНИЕ

Отдельного внимания заслуживает способность нейтрофилов участвовать в тромбообразовании через различные механизмы, такие как образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (нетоз), высвобождение протеаз и прямое взаимодействие с тромбоцитами с образованием лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов. Повышение количества подобных агрегатов было выявлено в крови пациентов с симптомным каротидным стенозом [25]. Снижение интенсивности формирования нейтрофильно-тромбоцитарных агрегатов происходит при ингибировании рецепторов к гликопротеину Iib/IIa и селективна. Образование лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов при остром ишемическом инсульте и реперфузионной терапии может стать полезным биомаркером и мишенью для терапевтического воздействия, поскольку данные агрегаты повышают внутрисосудистое тромбообразование [26].

Благодаря большой мобильности нейтрофилы, опережая тромбоциты, связываются с активированным эндотелием поврежденных сосудов с помощью ICAM-1 рецепторов. Это приводит к активации и накоплению тромбоцитов в поврежденном сосуде, нарастанию тромбоза. Имеется ряд исследований, которые направлены на изучение возможных способов предотвращения данного процесса [27, 28].

С одной стороны, протеазы, катепсин G, высвобождаемые нейтрофилами, взаимодействуют с факторами коагуляции, ускоряя формирование тромба. Ингибирование катепсина G в экспериментальной мышинной модели продемонстрировало улучшение исхода ишемического инсульта. С другой стороны, выделяемая нейтрофилами протеаза ADAMTS13 расщепляет высокоактивный фактор Виллебранда и, тем самым, уменьшает активность воспаления в остром периоде ишемического инсульта [29].

Протромботическая активность нейтрофилов также объясняется способностью к высвобождению молекул, участвующих в образовании нейтрофильной внеклеточной ловушки, выбросу протеаз и прямому взаимодействию с тромбоцитами. Данные процессы могут привести к нарастанию ишемизации тканей мозга при инсульте [30].

Нейтрофильные внеклеточные ловушки образуются в ответ на различные стимулы, ключевым механизмом их формирования является активация пептидил-аргинин-деиминазы-4 (PAD4). Этот фермент необходим для цитруллинации гистонов, которая приводит к деконденсации хроматина, в результате чего образуются отдельные нити ДНК. В структуру внеклеточных ловушек помимо нитей ДНК входят гистоны, специфические белковые гранулы, такие как эластаза и миелопероксидаза нейтрофилов. Это позволяет создать локально высокую концентрацию цитотоксических веществ в пространстве ДНК. Изначально было известно, что образование нейтрофильных ловушек ассоциировано с их бактерицидным действием [31], но в последнее время о них все чаще упоминают как о ключевых участниках тромбообразования [32].

Тромбоциты могут связываться с высвобожденными нейтрофильными ловушками и активироваться благодаря их связи с гистонами [33, 34]. Взаимодействие с нейтрофилами происходит через связь Р-селектина тромбоцитов с гликопротеиновым лигандом Р-селектина нейтрофилов [35]. При активации тромбоциты способны высвобождать белок HMGB-1 и презентировать его на своей поверхности, увеличивая высвобождение нейтрофилами новых ДНК-сетей [36]. Ассоциированные с внеклеточными нейтрофильными ловушками гистоны также увеличивают генерацию тромбина тромбоцитами [35], провоцируют высвобождение фактора Виллебранда из телец Вайбеля – Паладе в эндотелиальных клетках, приводя к лейкоцитарно-тромбоцитарной адгезии [37]. Этот процесс потенцирует сам себя, активируя внешний путь коагуляции, и приводит к дальнейшему тромбообразованию, воспалительному ответу при инсульте [38].

Протромботическая активность нейтрофильных внеклеточных ловушек также обусловлена их полианионной поверхностью, которая активирует XII фактор свертывания, участвуя в активации внутреннего пути свертывания [39]. Стратегия управления активностью дезоксирибонуклеазы в экспериментальных моделях инсульта у мышей приводила к растворению нейтрофильных внеклеточных ловушек, защитному эффекту *in vivo* [40].

Исходя из накопленных данных, предполагается, что протромботическая активность нейтрофилов может как увеличивать риск ишемического инсульта, так и способствовать дальнейшему тромбообразованию в остром периоде нарушения мозгового кровообращения.

НЕЙТРОФИЛЫ И СИСТЕМНЫЙ ТРОМБОЛИЗИС ПРИ ИНСУЛЬТЕ

В настоящее время внутривенный системный тромболизис с использованием рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (р-ТАП) является общепризнанным и рекомендованным методом лечения пациентов с ишемическим инсультом, однако его использование связано с увеличением риска внутричерепных кровоизлияний [41], воспалительного ответа в тканях мозга [42], инфильтрации тканей головного мозга нейтрофилами [43]. Данные факторы влияют на клиническую эффективность тромболитической терапии при ишемическом инсульте [44].

В ряде исследований изучалась роль нейтрофилов при терапии р-ТАП [45]. Показано, что терапия р-ТАП может воздействовать на динамику изменения количества нейтрофилов в тканях головного мозга при инсульте [44, 46]. Имеются данные, что повышение уровня нейтрофилов в периферической крови в первые 24 ч после проведенной тромболитической терапии связано с неблагоприятным прогнозом [46]. Возможно, данная закономерность может быть объяснена образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек. Так, при остром инфаркте миокарда повышение количества нейтрофильных внеклеточных ловушек при тромболитической терапии было ассоциировано с худшим функциональным исходом и определило нейтрофильные внеклеточные ловушки как перспективную терапевтическую цель для повышения эффективности терапии р-ТАП [47].

В некоторых работах отмечено, что при совместном использовании р-ТАП и рекомбинантной ДНК-азы I для ингибирования нейтрофильных внеклеточных ловушек улучшается исход тромболитической терапии, а также уменьшается длительность и количество попыток при дальнейшей эндоваскулярной реперфузии, чем при использовании только р-ТАП

[46]. Подобные выводы были сделаны еще в ряде исследований, в которых изучалась возможность потенцирования ДНК-азой 1 р-ТАП при тромболитической терапии острого инфаркта миокарда и ишемического инсульта [48, 49]. Кроме того, возможной причиной корреляции повышения количества нейтрофильных внеклеточных ловушек с худшими результатами тромболитической терапии может служить способность внеклеточной ДНК и гистонов модифицировать структуру фибрина, делая его более устойчивым к механическим и ферментативным воздействиям [50].

Учитывая вышеизложенное, изучение активности нейтрофилов при тромбообразовании представляет собой интерес для дальнейшей оптимизации реперфузионной терапии острого ишемического инсульта, разработки новых методов лечения и прогнозирования исходов острого ишемического инсульта.

НЕЙТРОФИЛЫ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ИНСУЛЬТА

Инфекционно-воспалительные заболевания – это одно из наиболее распространенных и опасных осложнений ОНМК, которое существенно влияет на выживаемость и восстановление пациентов [51]. Для обеспечения оптимального гомеостаза организма нервная и иммунная системы тесно связаны между собой многочисленными путями, и серьезное повреждение ткани мозга при инсульте ведет к множественным изменениям нейроиммунных взаимодействий [52].

Ишемизированная ткань мозга влияет на периферические иммунные клетки, подавляя их активность, что в дальнейшем проявляется лимфопенией, уменьшением выработки воспалительных цитокинов, снижением активности моноцитов [53]. Данный механизм, вероятно, носит адаптивный характер и направлен на снижение активности воспалительного ответа в очаге ишемии, а также уменьшение риска возникновения аутоиммунных реакций к нейроантигенам в условиях повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера [54]. Однако это также приводит к развитию вторичного иммунодефицита и может способствовать развитию инфекционных осложнений [55]. При этом размер очага ишемии является независимым фактором риска иммуносупрессии и воспалительных осложнений после инсульта [56].

Кроме того, развитие вторичного иммунодефицита при остром инсульте опосредовано изменением активности вегетативной нервной системы и оси «гипоталамус – гипофиз – надпочечники» [57]. Медиаторами в данном процессе выступают норадреналин, ацетилхолин, глюкокортикостероидные

гормоны, рецепторы к которым широко представлены на клетках иммунной системы [58]. Известно, что повышение выработки глюкокортикостероидов при активации оси «гипоталамус – гипофиз – надпочечники» индуцирует апоптоз иммунных клеток [59].

Необходимо отметить, что клинические исследования, посвященные изучению роли нейтрофилов в развитии инфекционных осложнений инсульта, немногочисленны. В одном из них, проведенном в Национальной медицинской школе Ганновера в 2015–2017 гг., была предпринята попытка определить ассоциацию снижения функции нейтрофильных гранулоцитов и возникновения воспалительных осложнений в остром периоде инсульта.

При обследовании 95 пациентов не выявлено значимых изменений фагоцитарной активности нейтрофилов. Однако у нейтрофилов периферической крови в группе пациентов с ранними (первые 7 сут) инфекционными осложнениями снижалась их способность к высвобождению активных форм кислорода в ответ на стимуляцию FMLP (Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine), при этом сохранялась способность к высвобождению активных форм кислорода при стимуляции более активными индукторами, например *E. coli* [60].

В клиническом исследовании с препаратом моноклональных анти-ICAM-1 антител (Enlimomab), ингибирующем функции нейтрофилов и уменьшающем объем инфаркта мозга в экспериментальной модели, наблюдалось повышение частоты инфекций, особенно пневмоний. Эти воспалительные процессы были ассоциированы с ухудшением исхода инсульта, что указывает на негативное значение дисфункции нейтрофилов в развитии инфекционных осложнений [61].

НЕЙТРОФИЛЫ И АТЕРОГЕНЕЗ

Помимо непосредственного влияния на все стадии ишемического каскада и риск развития инфекционных осложнений, нейтрофилы активно участвуют в тех процессах, которые приводят к инсульту. Так, в последнее время все больше внимания уделяется изучению роли нейтрофилов в процессах атерогенеза [62, 63].

Имеются данные о том, что нейтрофилы в условиях тесного межклеточного контакта и (или) стимуляции провоспалительными цитокинами синтезируют и высвобождают пептиды и белки, связывающие холестерин [64]. Способность нейтрофилов венозной крови при культивировании в условиях тесного межклеточного контакта высвобождают белково-липидные комплексы была названа липидвысвобождающей способностью лейкоцитов (ЛВКСЛ) [63, 64]. В

проведенных далее исследованиях доказана клиническая роль повышения ЛВСЛ и ее связь с протеканием ишемической болезни сердца (ИБС) [65].

Роль нейтрофилов в реализации атеросклеротических поражений сосудов происходит в нескольких направлениях. С одной стороны, это участие на ранних этапах атерогенеза, а именно в развитии эндотелиальной дисфункции. С другой стороны, нейтрофилы влияют на появление осложнений атеросклероза: на дестабилизацию атеросклеротической бляшки и формирование тромбов [66, 67].

При повреждении эндотелия сосудов в межклеточное пространство выделяются фрагменты внеклеточного матрикса – гиалуронан, фибронектин и другие, которые выступают в качестве эндогенных образцов опасности DAMPs (danger-associated molecular patterns). Они воспринимаются паттерн-распознающими рецепторами нейтрофилов (TLR2/4) в кровотоке и способствуют их привлечению к очагу воспаления. Кроме того, хемотаксис и миграция нейтрофилов и других лейкоцитов усиливаются за счет продукции эндотелиальными клетками провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-18, ИЛ-8, хемокинов и молекул адгезии [68–70].

В очаге повреждения нейтрофилы синтезируют белки, связывающие холестерин с образованием белково-липидных комплексов, накапливающихся в стенке сосуда. У больных с ИБС увеличена продукция нейтрофилами следующих молекул: С-реактивного белка, фактора Виллебранда, липопротеина, предшественника мозгового натрийуретического пептида. Кроме того, нейтрофилы в очаге повреждения эндотелия вызывают перекисное окисление липидов клеточных мембран, разрыв нитей ДНК, повреждение эндотелиальных клеток [71].

Участие нейтрофилов в атерогенезе также может быть связано с их способностью к образованию внеклеточных нейтрофильных ловушек: экстрацеллюлярные сетеподобные структуры и выделяющиеся ферменты приводят к повреждению эндотелия [66, 71].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нейтрофилы, являясь полипотентной гетерогенной клеточной группой, принимают активное участие в патогенезе ишемического инсульта, а также способны модулировать ответ на лечение. Возможно, их дальнейшее изучение откроет дополнительные перспективы персонализации терапии и прогнозирования исходов заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виленский Б.С. Инсульт – современное состояние проблемы. *Неврологический журнал*. 2008; 13 (2): 1–11.
2. Wolf P.A., D'Agostino R.B., O'Neal M.A., Sytkowski P., Kase C.S., Belanger A., Kannel W.B. Secular trends in stroke incidence and mortality the Framingham Study. *Stroke*. 1992; 23 (11): 1551–1555. DOI: 10.1161/01.str.23.11.1551.
3. Katzan I.L., Cebul R.D., Husak S.H., Dawson N.V., Baker D.W. The effect of pneumonia on mortality among patients hospitalized for acute stroke. *Neurology*. 2003; 60 (4): 620–625. DOI: 10.1212/01.wnl.0000046586.38284.60.
4. Heuschmann P.U., Kolominsky-Rabas P.L., Misselwitz B., Hermanek P., Leffmann C., Janzen R.W., Rother J., Buecker-Nott H.J., Berger K. Predictors of in-hospital mortality and attributable risks of death after ischemic stroke. *Arch. Intern. Med.* 2004; 164 (16): 1761–1768. DOI: 10.1001/archinte.164.16.1761.
5. Стаховская Л.В., Ключихина О.А., Богатырева М.Д., Коваленко В.В. Эпидемиология инсульта в России по результатам территориально-популяционного регистра (2009–2019). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2013; 113 (5): 4–10.
6. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В. Проблема инсульта в Российской Федерации: время активных совместных действий. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2007; 107 (8): 1–11.
7. Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Шерстнев В.В., Грудень М.А., Мясоедов Н.Ф., Ефремова Н.М. и др. Роль аутоиммунных процессов в повреждающем действии церебральной ишемии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Инсульт. Приложение к журналу*. 2001; 101 (1): 46–54.
8. Chamorro A., Hallenbeck J. The harms and benefits of inflammatory and immune responses in vascular disease. *Stroke*. 2006; 37 (1): 291–293. DOI: 10.1161/01.STR.0000200561.69611.f8.
9. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001: 328.
10. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В., Сепиашвили Р. И. Нейроиммунопатология. Руководство. М., 2003: 282.
11. Пальцев М.А., Кветной М.И. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. М.: Медицина, 2008: 497–499.
12. Долгушин И.И., Савочкина А.Ю., Курносенко И.В., Долгушина В.Ф., Савельева А.А., Самусева И.В., Маякова В.Б. Участие внеклеточных ДНК-ловушек в защитных и патологических процессах организма. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9 (18) 2: 164–170.
13. Долгушин И.И., Мезенцева Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9 (1): 9–38. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38.
14. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A. et al. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 1. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2017; 7 (3): 219–230. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230.
15. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A. et al. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2018; 8 (1): 7–18. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
16. Нестерова И.В., Швыдченко И.Н., Роменская В.А., Фомичева Е.В., Быковская Е.Ю. Нейтрофильные гранулоци-

- ты – ключевые клетки иммунной системы. *Аллергология и иммунология*. 2008; 9 (4): 432–435.
17. Бережная Н.М. Нейтрофилы и иммунологический гомеостаз. Киев: Наукова думка, 1988: 205.
 18. Neumann J., Riek-Burchardt M., Herz J. et al. Very-late-antigen-4 (VLA-4)-mediated brain invasion by neutrophils leads to interactions with microglia, increased ischemic injury and impaired behavior in experimental stroke. *Acta Neuropathologica*. 2015; 129 (2): 259–277. DOI: 10.1007/s00401-014-1355-2.
 19. Weston R.M., Jones N.M., Jarrott B., Callaway J.K. Inflammatory cell infiltration after endothelin-1-induced cerebral ischemia: histochemical and myeloperoxidase correlation with temporal changes in brain injury. *J. Cerebral. Blood Flow and Metab.* 2007; 27 (1): 100–114. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600324.
 20. Watcharotayangul J., Mao L., Xu H., Vetri F., Baughman V.L., Paisansathan C. et al. Post-ischemic vascular adhesion protein-1 inhibition provides neuroprotection in a rat temporary middle cerebral artery occlusion model. *J. Neurochem.* 2012; 123 (Suppl. 2): 116–124. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2012.07950.x.
 21. Perez-de-Puig I., Miry-Mur F., Ferrer-Ferrer M., Gelpi E., Pedragosa J., Justicia C. et al. Neutrophil recruitment to the brain in mouse and human ischemic stroke. *Acta Neuropathol.* 2015; 129 (2): 239–257. DOI: 10.1007/s00401-014-1381-0.
 22. Gelderblom M., Leyboldt F., Steinbach K., Behrens D., Choe C.-U., Siler D.A. et al. Temporal and spatial dynamics of cerebral immune cell accumulation in stroke. *Stroke*. 2009; 40 (5): 1849–1857. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.534503.
 23. Martynov M.Y., Gusev E.I. Current knowledge on the neuroprotective and neuroregenerative properties of citicoline in acute ischemic stroke. *J. Exp. Pharmacol.* 2015; 7: 17–28. DOI: 10.2147/JEP.S63544.
 24. Jickling G.C., Liu D., Ander B.P., Stamova B., Zhan X., Sharp F.R. Targeting neutrophils in ischemic stroke: translational insights from experimental studies. *J. Cereb. Blood Flow and Metab.* 2015; 35 (6): 888–901. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.45.
 25. McCabe D.J.H., Harrison P., Mackie I.J., Sidhu P.S., Purdy G., Lawrie A.S. et al. Increased platelet count and leucocyte-platelet complex formation in acute symptomatic compared with asymptomatic severe carotid stenosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2005; 76 (9): 1249–1254. DOI: 10.1136/jnnp.2004.051003.
 26. Ritter L.S., Stempel K.M., Coull B.M., McDonagh P.F. Leukocyte-platelet aggregates in rat peripheral blood after ischemic stroke and reperfusion. *Biological Research for Nursing*. 2005; 6 (4): 281–288. DOI: 10.1177/1099800405274579.
 27. Kim J.Y., Park J., Chang J.Y., Kim S.H., Lee J.E. Inflammation after ischemic stroke: the role of leukocytes and glial cells. *Exp. Neurobiol.* 2016; 25 (5): 241–251. DOI: 10.5607/en.2016.25.5.241.
 28. Hallevi H., Hazan-Halevy I., Paran E. Modification of neutrophil adhesion to human endothelial cell line in acute ischemic stroke by dipyridamole and candesartan. *European Journal of Neurology*. 2007; 14 (9): 1002–1007. DOI: 10.1111/J.1468-1331.2007.01847.X.
 29. Khan M.M., Motto D.G., Lentz S.R., Chauhan A.K. ADAMTS13 reduces VWF-mediated acute inflammation following focal cerebral ischemia in mice. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2012; 10 (8): 1665–1671. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04822.x.
 30. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nature Reviews Microbiology*. 2007; 5 (8): 577–582. DOI: 10.1038/NRMICRO1710.
 31. Martinod K., Wagner D.D. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood*. 2014; 123 (18): 2768–2776. DOI: 10.1182/blood-2013-10-463646.
 32. Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107 (36): 1580–1588. DOI: 10.1073/pnas.1005743107.
 33. Semeraro F., Ammollo C.T., Morrissey J.H., Dale G.L., Friese P., Esmon N.L., Esmon C.T. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*. 2011; 118 (7): 1952–1961. DOI: 10.1182/blood-2011-03-343061.
 34. Sreeramkumar V., Adrover J.M., Ballesteros I. et al. Neutrophils scan for activated platelets to initiate inflammation. *Science*. 2014; 346 (6214): 1234–1238. DOI: 10.1126/science.1256478.
 35. Maugeri N., Campana L., Gavina M. et al. Activated platelets present high mobility group box 1 to neutrophils, inducing autophagy and promoting the extrusion of neutrophil extracellular traps. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2014; 12 (12): 2074–2088. DOI: 10.1111/jth.12710.
 36. Brill A., Fuchs T.A., Savchenko A.S., Thomas G.M., Martinod K., De Meyer S.F., Bhandari A.A., Wagner D.D. Neutrophil extracellular traps promote deep vein thrombosis in mice. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10 (1): 136–144. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04544.x.
 37. De Meyer S.F., Denorme F., Langhauser F., Geuss E., Fluri F., Kleinschnitz C. Thromboinflammation in stroke brain damage. *Stroke*. 2016; 47 (4): 1165–1172. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.011238.
 38. Von Bruhl M.L., Stark K., Steinhart A., Chandraratne S., Konrad I., Lorenz M., Khandoga A., Tirniceru A., Coletti R., Kollnberger M., Byrne R.A., Laitinen I., Walch A., Brill A., Pfeiler S., Manukyan D., Braun S., Lange P., Riegger J., Ware J. et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice *in vivo*. *The Journal of Experimental Medicine*. 2012; 209 (4): 819–835. DOI: 10.1084/jem.20112322IO.
 39. De Meyer S.F., Suidan G.L., Fuchs T.A., Monestier M., Wagner D.D. Extracellular chromatin is an important mediator of ischemic stroke in mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2012; 32 (8): 1884–1891. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.250993.
 40. Yaghi S., Boehme A.K., Dibu J. et al. Treatment and Outcome of Thrombolysis-Related Hemorrhage: A Multicenter Retrospective Study. *JAMA Neurol.* 2015; 72 (12): 1451–1457. DOI: 10.1001/jamaneurol.2015.2371.
 41. Gill D., Sivakumaran P., Wilding P., Love M., Veltkamp R., Kar A. Trends in C-reactive protein levels are associated with neurological change twenty-four hours after thrombolysis for acute ischemic stroke. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2016; 25 (8): 1966–1999. DOI: 10.1016/J.JSTROKECEREBROVASC-DIS.2016.05.003.

42. Uhl B., Zuchtriegel G., Puhr-Westerheide D. et al. Tissue plasminogen activator promotes postischemic neutrophil recruitment via its proteolytic and nonproteolytic properties. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014; 34 (7): 1495–1504. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303721.
43. Dong Q., Dong Y., Liu L., Xu A., Zhang Y., Zheng H., Wang Y. The Chinese Stroke Association scientific statement: intravenous thrombolysis in acute ischaemic stroke. *Stroke and Vascular Neurology.* 2017; 2 (3): 147–159. DOI: 10.1136/svn-2017-000074.
44. Guo Z., Yu S., Xiao L. et al. Dynamic change of neutrophil to lymphocyte ratio and hemorrhagic transformation after thrombolysis in stroke. *J. Neuroinflammation.* 2016; 13 (1): 199. DOI: 10.1186/S12974-016-0680-X.
45. Shi J., Peng H., You S., Liu Y., Xu J., Xu Y., Liu H., Shi R., Cao Y., Liu C.F. Increase in neutrophils after recombinant tissue plasminogen activator thrombolysis predicts poor functional outcome of ischaemic stroke: a longitudinal study. *Eur. J. Neurol.* 2018; 25 (4): 687–745. DOI: 10.1111/ene.13575.
46. Mangold A., Alias S., Scherz T., Hofbauer T., Jakowitsch J., Panzenböck A. et al. Coronary neutrophil extracellular trap burden and deoxyribonuclease activity in ST-elevation acute coronary syndrome are predictors of ST-segment resolution and infarct size. *Circ. Res.* 2015; 116 (7): 1182–1192. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304944.
47. Ducroux C., Di Meglio L., Loyau S., Delbosc S., Boisseau W., Deschildre C., Maacha M.B., Blanc R. et al. Thrombus neutrophil extracellular traps content impair tpa-induced thrombolysis in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2018; 49 (3): 754–757. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.019896.
48. Laridan E., Denorme F., Desender L., Francois O., Anderson T., Deckmyn H. et al. Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi. *Ann. Neurol.* 2017; 82 (2): 223–232. DOI: 10.1002/ana.24993.
49. Longstaff C., Varjú I., Sytonyi P., Szaby L., Krumrey M., Hoell A. et al. Mechanical stability and fibrinolytic resistance of clots containing fibrin, DNA, and histones. *J. Biol. Chem.* 2013; 288 (10): 6946–6956. DOI: 10.1074/jbc.M112.404301.
50. Westendorp W.F., Nederkoorn P.J., Vermeij J.-D., Dijkgraaf M.G., van de Beek D. Post-stroke infection: A systematic review and metaanalysis. *BMC Neurol.* 2011; 11: 110. DOI: 10.1186/1471-2377-11-110.
51. Chavan S.S., Pavlov V.A., Tracey K.J. Mechanisms and therapeutic relevance of neuro-immune communication. *Immunity.* 2017; 46 (6): 927–942. DOI: 10.1016/J.IMMUN.2017.06.008.
52. Meisel C., Schwab J.M., Prass K. et al. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005; 6 (10): 775–786. DOI: 10.1038/NRN1765.
53. Rumer C., Engel O., Winek K. et al. Blocking stroke-induced immunodeficiency increases CNS antigen-specific autoreactivity but does not worsen functional outcome after experimental stroke. *J. Neurosci.* 2015; 35 (20): 7777–7794. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1532-14.2015.
54. Dirnagl U., Klehmet J., Braun J.S. et al. Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance. *Stroke.* 2007; 38 (2 Suppl.): 770–783. DOI: 10.1161/01.STR.0000251441.89665.BC.
55. Hug A., Dalpke A., Wiecek N. et al. Infarct volume is a major determinant of post-stroke immune cell function and susceptibility to infection. *Stroke.* 2009; 40 (10): 3226–3232. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.557967.
56. Chamorro A., Meisel A., Planas A.M., Urra X., van de Beek D., Veltkamp R. The immunology of acute stroke. *Nat. Rev. Neurol.* 2012; 8 (7): 401–410. DOI: 10.1038/NRNEUROL.2012.98.
57. Szaby C., Thiernemann C., Wu C.C. et al. Attenuation of the induction of nitric oxide synthase by endogenous glucocorticoids accounts for endotoxin tolerance *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994; 91 (1): 271–275. DOI: 10.1073/PNAS.91.1.271.
58. Zhang J., Shi K., Li Z. et al. Organ- and cell-specific immune responses are associated with the outcomes of intracerebral hemorrhage. *Faseb. J.* 2018; 32 (1): 220–229. DOI: 10.1096/fj.201700324R.
59. Van Gemmeren T., Schuppner R., Grosse G.M., Fering J., Gabriel M.M., Huber R., Worthmann H., Lichtinghagen R., Weissenborn R. Early post-stroke infections are associated with an impaired function of neutrophil granulocytes. *J. Clin. Med.* 2020; 9 (3): 872. DOI: 10.3390/jcm9030872 IO
60. Krams M., Lees R.R., Hacke W., Grieve A.P., Orgogozo J.-M., Ford G.A. Acute stroke therapy by inhibition of neutrophils (ASTIN): an adaptive dose-response study of UK- 279,276 in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2003; 34 (11): 2543–2548. DOI: 10.1161/01.STR.0000092527.33910.89.
61. Smedly L.A., Tonnesen M.G., Sandhaus R.A. et al. Neutrophil-mediated injury to endothelial cells. *J. Clin. Invest.* 1986; 77 (4): 1233–1243. DOI: 10.1172/JCI112426.
62. Мишланов В.Ю., Туев А.В., Шутов А.А., Байдина Т.В. Метод липидвысвобождающей способности лейкоцитов в диагностике механизмов атерогенеза у больных ишемической болезнью сердца и мозговым ишемическим инсультом. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2006; 5: 9–12.
63. Higazi A.A., Nassar T., Ganz T., Rader D.J., Udassin R., Bdeir K., Hiss E., Sachais B.S., Williams K.J., Leitersdorf E., Cines D.B. The alpha-defensins stimulate proteoglycan-dependent catabolism of low-density lipoprotein by vascular cells: a new class of inflammatory apolipoprotein and a possible contributor to atherogenesis. *Blood.* 2000; 96 (4): 1393–1398.
64. Обухова О.В. Липидвысвобождающая способность лейкоцитов у больных с ишемической болезнью сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2009; 8 (6S1): 259.
65. Qi H., Yang S., Zhang L. Neutrophil extracellular traps and endothelial dysfunction in atherosclerosis and thrombosis. *Front. Immunol.* 2017; 8: 928. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00928.
66. Chistiakov D.A., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N. Neutrophil's weapons in atherosclerosis (review). *Experimental and Molecular Pathology.* 2015; 99 (3): 663–671. DOI: 10.1016/j.Yexmp.2015.11.011.
67. Rahman A., Fazal F. Blocking NF-kappaB: an inflammatory issue. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2011; 8 (6): 497–503. DOI: 10.1513/pats.201101-009MW.
68. Xiao L., Liu Y., Wang N. New paradigms in inflammatory

- signaling in vascular endothelial cells. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2014; 306 (3): H317–325. DOI: 10.1152/ajpheart.00182.2013.
69. Chistiakov D.A., Grechko A.V., Myasoedova V.A. et al. The role of monocytosis and neutrophilia in atherosclerosis. *J. Cell Molec. Med.* 2018; 22 (3): 1366–1382. DOI: 10.1111/jcmm.13462.
70. Hattar K., Heygster D., Eul B. et al. Amplification of LPS and LTA induced cytokine synthesis in NSCLC/neutrophil cocultures. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26 (15): 22198. DOI: 10.1200/jco.2008.26.15_suppl.22198.
71. Zychlinsky A. NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends in Immunology.* 2009; 30 (11): 513–521. DOI: 10.1016/j.it.2009.07.011.

Сведения об авторах

Долгушин Илья Ильич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, директор НИИ иммунологии, ЮУГМУ, г. Челябинск. ORCID 0000-0002-0901-8042.

Карпова Мария Ильинична, д-р мед. наук, зав. кафедрой нервных болезней, ЮУГМУ, г. Челябинск. ORCID 0000-0001-5848-7235

Зарипова Зарина Зариповна, невролог, ЧОКБ, г. Челябинск. ORCID 0000-0001-8419-9026.

(✉) **Карпова Мария Ильинична**, e-mail: kmi_2008@mail.ru

Поступила в редакцию 19.00.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Диагностические маркеры локального аллергического ринита

Климов А.В., Климов В.В., Коваль С.А., Свиридова В.С., Кошкарлова Н.С.

*Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

РЕЗЮМЕ

Локальный аллергический ринит является новой атопической болезнью в современной аллергологии и ринологии. Его клинические симптомы в настоящее время хорошо описаны с проведением сравнения с классическим аллергическим ринитом, но диагностические и терапевтические протоколы, включая аллерген-специфическую иммунотерапию, еще уточняются.

Таким образом, локальный аллергический ринит остается недостаточно диагностированной патологией и по ошибке часто относится к группе неаллергических ринитов. Однако патогенез и особенно механизмы срыва аллергенной толерантности при этом эндотипе аллергического ринита остаются неизученными. Продолжаются исследования сети протолерогенных клеток и молекул, включая Т-регуляторные клетки, протолерогенные дендритные клетки, интерлейкин (IL)-10, IL-35, трансформирующий фактор роста β , вегетативную иннервацию носа и нейротрансмиттеры.

Цель настоящего обзора сфокусирована на диагностических маркерах локального аллергического ринита.

Ключевые слова: локальный аллергический ринит, видеориноскопия, назальный провокационный тест, специфические назальные иммуноглобулины, тест активации базофилов.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Климов А.В., Климов В.В., Коваль С.А., Свиридова В.С., Кошкарлова Н.С. Диагностические маркеры локального аллергического ринита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 161–167. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-161-167>.

Diagnostic markers of local allergic rhinitis

Klimov A.V., Klimov V.V., Koval S.A., Sviridova V.S., Koshkarova N.S.

*Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

Local allergic rhinitis is a new atopic disease recognized in modern allergy and rhinology. Its clinical symptoms are currently well described and compared with conventional allergic rhinitis, however, diagnostic and therapeutic protocols, including antigen-specific immunotherapy (ASIT), should be specified.

Therefore, local allergic rhinitis often remains underdiagnosed and by mistake is referred to non-allergic rhinitis. Yet, the pathogenesis and mechanisms of allergen tolerance breakdown in this endotype of allergic rhinitis remain understudied. Researchers continue to study the network of tolerogenic cells and biomolecules, such as regulatory T cells, tolerogenic dendritic cells, interleukin (IL)-10, IL-35, transforming growth factor- β (TGF- β), vegetative innervation of the nose, and neurotransmitters.

The review focuses on diagnostic markers of local allergic rhinitis.

Key words: local allergic rhinitis, nasal endoscopy, nasal allergen provocation test, nasal specific IgE, basophil activation test.

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: Klimov A.V., Klimov V.V., Koval S.A., Sviridova V.S., Koshkarova N.S. Diagnostic markers of local allergic rhinitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 161–167. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-161-167>.

ВВЕДЕНИЕ

С тех пор, как D.G. Powe и соавт. [1] описали энтопию как локальную аллергическую парадигму, локальные атопические расстройства унифицированного дыхательного тракта стали актуальной темой в аллергологии. К настоящему времени описаны локальная бронхиальная астма [2–5], локальный аллергический ринит [6–10], «двойной аллергический ринит» [11, 12] и локальный аллергический конъюнктивит [13]. Классические атопические болезни дыхательных путей хорошо исследованы в течение многих лет и включены в международные согласительные документы по их диагностике и терапии [14–16]. Но диагностика и лицензированные терапевтические подходы к локальным аллергическим расстройствам органов дыхания пока находятся в разработке.

Сравнительное исследование классического аллергического ринита (АР) и локального аллергического ринита (ЛАР) в последнее десятилетие проведено как с теоретической, так и клинической точек зрения [12, 17]. Пациенты с ЛАР имеют те же симптоматические проявления, что и АР (назальная обструкция, чихание, зуд и насморк). Исключение заключается в разнице состава коморбидных состояний. Оба эндотипа ринита встречаются у взрослых и детей, сходны не только по клинической характеристике, но и связаны с сенсibilизацией к домашним пылевым клещам (ДПК) *D. pteronissinus* и *D. farinae*, иногда демонстрируя тяжелое персистирующее течение с астматическими и глазными симптомами [8, 18, 19].

С теоретической точки зрения патогенез АР и ЛАР имеет сходные черты за исключением механизмов и уровней срыва аллергической толерантности при ЛАР.

Существенно то, что благодаря феномену аллергической толерантности число людей с одновременным наличиемотягощенной атопической наследственности и клинических аллергических проявлений не совпадает с числом людей с наследственностью, но без симптомов (т.е. практически здоровых) [20–23]. Практически здоровые, хотя и сенсibilизированные, индивидуумы всегда существенно преобладают в числе над пациентами с АР и ЛАР.

На системном уровне поддержание аллергической толерантности преимущественно обусловлено сетью протолерогенных клеток и молекул, таких как Т-регуляторные клетки, протолерогенные дендритные клетки, иммуносупрессивные цитокины (интерлейкин (IL)-10, IL-35, трансформирующий фактор роста (TGF β) и т.д.) [20, 24]. На локальном (назальном) уровне аллергическая толерантность в значительной степени зависит от особенностей иннервации носа и складывающегося набора соответствующих нейротрансмиттеров [25–27]. Также могут иметь значение локальные концентрации Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP), которые генерируются из собственной микробиоты, и Allergen-Associated Molecular Patterns (AAMP) [28].

По контрасту с кожей и гастроинтестинальным трактом, иннервация унифицированных дыхательных путей имеет некоторую особенность. Дыхательный тракт снабжается соматосенсорной и вегетативной нервной системой (ВНС), из них последняя опосредует аллергические воспалительные симптомы.

ВНС состоит из парасимпатических нейронов, чьи ядра располагаются в головном мозге и действуют через вагус, и симпатических нейронов, чьи ядра локализируются в паравертебральных ганглиях.

Гастроинтестинальный тракт дополнительно имеет собственную автономную нервную систему, называемую энтеральной нервной системой и состоящую из первичных внутренних афферентных нейронов, интернейронов и миэнтерального и субмукозного сплетений [25]. Эта система поддерживает аллергенную толерантность в гастроэнтеральном тракте. Если аллергенная толерантность все еще сохраняется на системном уровне, но при этом в носу формируется соответствующий дисбаланс нейротрансмиттеров, ВНС может стать ответственной за автономный срыв толерантности и привести к развитию ЛАР [27].

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЛОКАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА НА ПЕРВОЙ ЛИНИИ

Первоначально любой пациент, у которого подозревается аллергический ринит, должен быть обследован в соответствии с ринологическим/аллергологическим согласительным документом [14]. Этот алгоритм включает: сбор анамнеза, клинический осмотр, видеориноскопию, риноманометрию или акустическую ринометрию, спиральную компьютерную томографию придаточных пазух носа, назальную цитологию или гистологию, кожные аллергопробы и определение общего сывороточного иммуноглобулина (IgE).

Первичное рутинное оторинологическое исследование применительно к пациентам с неуточненным аллергическим ринитом включает, главным образом, видеориноскопию и компьютерную томографию. Эндоскопия не позволяет выявлять существенную разницу между АР и ЛАР. В подавляющем числе случаев определяются отек и синюшность слизистой носа и назальная обструкция (рис.), а также у некоторых больных могут быть обнаружены искривление носовой перегородки, риносинусит и полипы. Томография дает возможность уточнить анатомические и сопутствующие воспалительные особенности: назальный гребень, полипоз, гипертрофию носовой раковины, атонию центрального отдела и др. [29, 30].

Кожные аллергопробы используются в аллергологии около 150 лет. Выделяют прик-тесты [31] и интрадермальные пробы. В соответствии с несколькими проспективными исследованиями и на основании системных обзоров прик-тесты продемонстрировали себя как безопасный метод аллергологического тестирования. Кроме того, прик-тесты могут проводиться в любой возрастной группе [14]. В связи с проникновением на ограниченную глубину кожи не было зафиксировано опасных побочных реакций и особенно системной анафилаксии с летальным исходом [32].

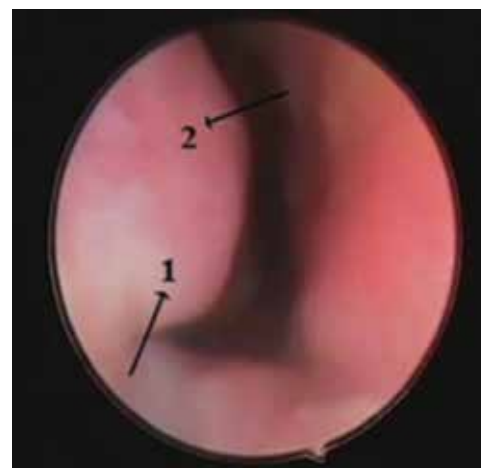


Рисунок. Эндоскопическая картина локального аллергического ринита: отек (1) и синюшность (2) слизистой оболочки нижней носовой раковины

Интрадермальное тестирование редко используется как первичный подход, чаще – как вторая линия аллерготестирования *in vivo*. Интересно, что интрадермальные пробы, по-видимому, являются более чувствительными, чем прик-тесты, для аллергенов домашнего происхождения, например ДПК. Пока не известно, чем это объясняется [14].

Выполнение и надежность измерения общего сывороточного IgE зависят от нескольких факторов, включая выбор реагентов и качество оборудования. Некоторые авторы продемонстрировали недостаточную точность этого маркера для аллергодиагностики вне зависимости от определяемой концентрации [32–34].

В соответствии с продолжающейся научной дискуссией [35], определение IgE не может заменить кожное аллерготестирование. Это относится и к новейшей технологии компонентного исследования с целью выявления специфических IgE [36]. По-видимому, выраженные цитотропные свойства единственного иммуноглобулина, каким является IgE, предполагает не столько его циркуляцию в биологических жидкостях, сколько присоединение в комплексе с аллергеном к высокоаффинному рецептору FcεRI на базофилах и тучных клетках, что является триггером atopического воспаления [37].

ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЛОКАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА

Подтверждение идентификации ЛАР основано на следующем алгоритме [17, 38]:

1) отсутствие у пациентов системных atopических расстройств, например пищевой, инсектной аллергии и atopического дерматита;

- 2) негативные кожные аллергопробы;
- 3) отсутствие повышенного уровня общего сывороточного IgE;
- 4) доказательство сенсibilизации в форме IgE на локальном уровне.

Неимение системных атопий, повышенной концентрации общего сывороточного IgE и отрицательные кожные аддерготесты подтверждают поддержание аллергенной толерантности на системном уровне у данных пациентов. Однако атопические расстройства в унифицированных дыхательных путях, включая ЛАР, могут развиваться у некоторых больных. Следовательно, доказательство присутствия IgE в носу является существенным вопросом для правильной диагностики и исключения ошибок у таких пациентов.

Существуют три метода определения специфических назальных IgE:

1. Назальный провокационный тест (НПТ), или аллергенная провокация [14, 19, 39–41] с использованием оценки в форме либо визуального аналогового счета (ВАС) (а, i), либо с помощью риноманометрии (а, ii).
 2. Определение специфических назальных IgE [14, 42–44] в носовом секрете (b, i) или носовой ткани, взятых путем мукозальной биопсии носа (МБН) (b, ii).
 3. Тест активации базофилов (ТАБ) [12, 14, 45, 46].
- Эти три метода отличаются разной специфичностью и чувствительностью (таблица).

Таблица

Специфичность и чувствительность тестов при определении IgE к ДПК при локальном аллергическом рините по данным различных авторов		
Тест	Специфичность, %	Чувствительность, %
(а, i) Назальный провокационный тест по ВАС.	90,6 [19]	73,4 [19]
(а, ii) Назальный провокационный тест по риноманометрии	100 [41]	83,7 [41]
(b, i) Определение специфических назальных IgE в носовом секрете.	>90 [17]	22–40 [17]
(b, ii) Определение специфических IgE в путем МБН	100 [47]	–
(с) Тест активации базофилов	93 [46]	50 [46]

Аллерген при НПТ может вводиться с помощью разных устройств: шприцев, назального спрея, капельниц для носа, микропипеток и др. Результат НПТ оценивается через 20 мин после применения аллергена любыми возможными способами оценки: ВАС, риноманометрией определением воспалительных маркеров в назальном секрете и назальной концентрации NO. НПТ проводится отдельно для аллер-

генов ДПК *D. pteronyssinus* и *D. farinae* в дозе 5 тыс. стандартизованных биологических единиц (SBU)/мл для каждого по 0,2 мл прик-теста через калибровочное устройство в обе ноздри при комнатной температуре [40].

ВАС позволяет оценить изменения назальных симптомов (ринореи, зуда, чихания и обструкции), что дает возможность провести дифференциальную диагностику ЛАР и неаллергического ринита [19]. В настоящее время разработаны специальные компьютерные ВАС-приложения для смартфонов, которые помогают проводить клиническую оценку с высокой эффективностью [39, 48].

Риноманометрическая интерпретация результатов НПТ основана на измерении сопротивления воздушного потока через правый и левый носовые ходы во время спокойного дыхания [40]. В связи с высокой специфичностью и чувствительностью НПТ признается золотым стандартом (см. таблицу) в диагностике ЛАР [9, 12].

Доказательство присутствия специфических назальных IgE в носовых секретах диагностически важно, но трудно достижимо [14]. При использовании технологии immunoCAP [42] содержание IgE считается повышенным при >0,35 kU/L [42]. Носовые секреты собираются через абсорбтивную фильтровальную бумагу с нижней носовой раковины в течение 5 мин [49], и содержащиеся в них специфические к ДПК IgE анализируются с помощью immunoCAP. Описаны различные методы для лучшей идентификации IgE, включая назальный лаваж, соскабливание и МБН [14, 43, 47], но для клинической практики неинвазивные методы предпочтительны [12]. Итак, определение специфических назальных IgE имеет высокую специфичность, но средней степени чувствительность, что может быть затруднением для диагностики ЛАР.

ТАБ выполняется с клетками периферической крови на проточном цитофлуориметре, когда выявляется экспрессия активационных маркеров типа CD63 при стимуляции аллергенами ДПК или другого происхождения [12]. ТАБ может быть дополнительным полезным методом для диагностики ЛАР в сомнительных случаях, когда причинно-значимый аллерген не известен или требуется оценить ответ на аллерген-специфическую иммунотерапию (АСИТ) [14, 45]. Как видно из таблицы, БАТ имеет высокую специфичность и средней степени чувствительность.

С клинической точки зрения эозинофильный катионный булок, триптаза, цитокины и хемокины являются дополнительными уточняющими маркерами как для ЛАР, так и АР [7, 50]. В связи с особенностями срыва аллергенной толерантности психосомат-

тические маркеры, очевидно, более характерны для ЛАР, чем для АР. С этой целью может использоваться опросник R.L. Spitzer и соавт. [51], который служит полезным инструментом в дифференциальной диагностике этих двух эндотипов аллергического ринита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЛАР и АР имеют похожие клинические и эндоскопические признаки. Но диагноз ЛАР основывается на НПТ либо на выявлении специфических назальных IgE или позитивном ТАБ при отсутствии данных за системную атопию [14]. НПТ признается золотым стандартом при идентификации ЛАР, поскольку показывает оптимальную специфичность и чувствительность [9]. К сожалению, иногда некоторые случаи ЛАР остаются невыявленными и по ошибке относятся к группе неаллергических ринитов.

В настоящее время протокольным лечением ЛАР является только медикаментозная терапия [40]. Однако ряд исследователей получили обнадеживающие результаты при использовании АСИТ при ЛАР [52]. В целом ЛАР остается патологией, перспективной для дальнейших исследований в современной аллергологии и ринологии [7, 12, 14, 17, 19].

ЛИТЕРАТУРА

1. Powe D.G., Bonnin A.J., Jones N.S. 'Entopy': local allergy paradigm. *Clin. Exp. Allergy*. 2010; 40 (7): 987–997. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2010.03536.x.
2. Campo P., Eguiluz-Gracia I., Salas M. et al. Bronchial asthma triggered by house dust mites in patients with local allergic rhinitis. *Allergy*. 2019; 74 (8): 1502–1510. DOI: 10.1111/all.13775.
3. Froidure A., Mouthuy J., Durham S.R. Asthma phenotypes and IgE responses. *Eur. Respir. J.* 2016 Jan.; 47 (1): 304–319. DOI: 10.1183/13993003.01824-2014.
4. Kılıç E., Kutlu A., Hastalıkları G. et al. Does local allergy (entopy) exist in asthma? *J. Clin. Anal. Med.* 2016. Letters to Editors from 01.02.2016. DOI: 10.4328/JCAM.3272.
5. Klimov A.V., Isaev P.Yu., Klimov V.V., Sviridova V.S. Endotypes of allergic rhinitis and asthma accompanying food allergy. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (2): 287–289. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-287–289.
6. Rondón C., Canto G., Blanca M. Local allergic rhinitis: A new entity, characterization and further studies. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 10 (1): 1–7. DOI: 10.1097/ACI.0b013e328334f5fb.
7. Inorvaia C., Fuiano N., Martignago I. et al. Local allergic rhinitis: evolution of concepts. *Clin. Transl. Allergy*. 2017; 7: 38. DOI: 10.1186/s13601-017-0174-7.
8. De Mello J.F. Local allergic rhinitis. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2016; 82 (6): 621–622. DOI: 10.1016/j.bjorl.2016.09.001.
9. Eguiluz-Gracia I., Pérez-Sánchez N., Bogas G. et al. How to diagnose and treat local allergic rhinitis: a challenge for clinicians. *J. Clin. Med.* 2019; 8 (7): 1062–1074. DOI: 10.3390/jcm8071062.
10. Zicari A.M., Occasi F., Di Fraia M. et al. Local allergic rhinitis in children: novel diagnostic features and potential biomarkers. *Am. J. Rhinol. Allergy* 2016; 30 (5): 329–334. DOI: 10.2500/ajra.2016.30.4352.
11. Eguiluz-Gracia I., Fernandez-Santamaria R., Almudena Testera-Montes A., Ariza A., Campo P. et al. Coexistence of nasal reactivity to allergens with and without IgE sensitization in patients with allergic rhinitis. *Allergy*. 2020; 75 (7): 1689–1698. DOI: 10.1111/all.14206.
12. Maoz-Segal R., Machnes-Maayan D., Veksler-Offengenden I. et al. Local allergic rhinitis: an old story but a new entity. *Rhinosinusitis*. London: IntechOpen; 2019: 1–9. DOI: 10.5772/intechopen.86212.
13. Yamana Y., Fukuda K., Ko R., Uchio E. Local allergic conjunctivitis: a phenotype of allergic conjunctivitis. *Int. Ophthalmol.* 2019; 39 (11): 2539–2544. DOI: 10.1007/s10792-019-01101-z.
14. Wise S.K., Lin S.Y., Toskala E. et al. International consensus statement on allergy and rhinology: allergic rhinitis. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2018; 8 (2): 108–352. DOI: 10.1002/alr.22073.
15. Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. 2020. URL: www.ginasthma.org.
16. Takamura E., Uchio E., Ebihara N. et al. Japanese guideline for allergic conjunctival diseases. *Allergol. Int.* 2017; 66 (2): 220–229. DOI: 10.1016/j.alit.2016.12.004.
17. Campo P., Eguiluz-Gracia I., Bogas G. et al. Local allergic rhinitis: implications for management. *Clin. Exp. Allergy*. 2019; 49 (1): 6–16. DOI: 10.1111/cea.13192.
18. Sennekamp J., Joest I., Filipiak-Pittroff B. et al. Local allergic nasal reactions convert to classic systemic allergic reactions: A long-term follow-up. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2015; 166 (2): 154–160. DOI: 10.1159/000380852.
19. Jung C.-G., Lee J.-H., Ban G.-Y., Park H.-S., Shin Y.S. Prevalence and clinical characteristics of local allergic rhinitis to house dust mites. *Yonsei Med. J.* 2017; 58 (5): 1047–1050. DOI: 10.3349/ymj.2017.58.5.1047.
20. Wisniewski J., Agrawal R., Woodfolk J.A. Mechanisms of tolerance induction in allergic disease: Integrating current and emerging concepts. *Clin. Exp. Allergy*. 2013; 43 (2): 164–176. DOI: 10.1111/cea.12016.
21. Abdel-Gadir A., Massoud A.H., Chatila T.A. Antigen-specific Treg cells in immunological tolerance: implications for allergic diseases. *F1000Research*. 2018; 7: 38. DOI: 10.12688/f1000research.12650.
22. Calzada D., Baos S., Cremades-Jimeno L., Cárdena B. Immunological mechanisms in allergic diseases and allergen tolerance: the role of Treg cells. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018: 6012053. DOI: 10.1155/2018/6012053.
23. Calderón M.A., Linneberg A., Kleine-Tebbe J. et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 136 (1): 38–47. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.10.012.
24. Klimov V.V. *From basic to clinical immunology*. Springer Nature, Cham; 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-03323-1.
25. Voisin T., Bouvier A., Chiu I.V. Neuro-immune interactions in allergic diseases: Novel targets for therapeutics. *Int. Immunol.* 2017; 29 (6): 247–261. DOI: 10.1093/intimm/dxx040.

26. Kerage D., Sloan E.K., Mattarollo S.R., McCombe P.A. Interaction of neurotransmitters and neurochemicals with lymphocytes. *J. Neuroimmunology*. 2019; 332: 99–111. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.04.006.
27. Klimov V.V., Klimov A.V. Autonomous breakdown of the allergen tolerance in the nose. *Authorea*. June 13, 2020. DOI: 0.22541/au.159204964.43963580.
28. Pali-Scholl I., Jensen-Jarolim E. The concept of allergen-associated molecular patterns (AAMP). *Curr. Opin. Immunol.* 2016; 42: 113–118. DOI: 10.1016/j.coi.2016.08.004.
29. DelGaudio J.M., Loftus P.A., Hamizan A.W., Harvey R.J., Wise S.K. Central compartment atopic disease. *Am. J. Rhinol. Allergy*. 2017; 31 (4): 228–234. DOI: 10.2500/ajra.2017.31.4443.
30. Marcus S., Schertzer J., Roland L.T., Wise S.K., Levy J.M., DelGaudio J.M. Central compartment atopic disease: prevalence of allergy and asthma compared with other subtypes of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2020; 10 (2): 183–189. DOI: 10.1002/alr.22454.
31. Heinzerling L., Mari A., Bergmann K.C., Bresciani M., Burbach G., Darsow U. et al. The skin prick test – European standards. *Clin. Transl. Allergy*. 2013; 3 (1): 3. DOI: 10.1186/2045-7022-3-3.
32. Bernstein I.L., Li J.T., Bernstein D.I. et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Ann. Allergy Asthma Im.* 2008; 100 (Suppl. 3): S1–148. DOI: 10.1016/s1081-1206(10)60305-5.
33. Satwani H., Rehman A., Ashraf S., Hassan A. Is serum total IgE levels a good predictor of allergies in children? *J. Pak. Med. Assoc.* 2009; 59 (10): 698–702.
34. Tu Y.L., Chang S.W., Tsai H.J. et al. Total serum IgE in a population-based study of Asian children in Taiwan: reference value and significance in the diagnosis of allergy. *PLoS One*. 2013; 8 (11): e80996. DOI: 10.1371/journal.pone.0080996.
35. Larenas-Linnemann D., Luna-Pech J.A., Mösges R. Debates in allergy medicine: allergy skin testing cannot be replaced by molecular diagnosis in the near future. *W.A.O.J.* 2017; 10 (32): 1–7. DOI: 10.1186/s40413-017-0164-1.
36. Sastre J., Sastre-Ibanez M. Molecular diagnosis and immunotherapy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 16 (6): 565–570. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000318.
37. Sutton B.J., Davies A.M. Structure and dynamics of IgE-receptor interactions: FcεRI and CD23/FcεRII. *Immunol. Rev.* 2015; 268 (1): 222–235. DOI: 10.1111/imr.12340.
38. Krzych-Fałta E., Namysłowski A., Samoliński B. Dilemmas associated with local allergic rhinitis. *Adv. Dermatol. Allergol.* 2018; 35 (3): 243–245. DOI: 10.5114/ada.2018.76215.
39. Klimek L., Bergmann K.-C., Biedermann T. et al. Visual analogue scales (VAS): measuring instruments for the documentation of symptoms and therapy monitoring in cases of allergic rhinitis in everyday health care. *Allergo J. Int.* 2017; 26 (1): 16–24. DOI: 10.1007/s40629-016-0006-7.
40. Wojas O., Samoliński B., Krzych-Fałta E. Local allergic rhinitis: nasal allergen provocation testing as a good tool in the differential diagnosis. *Int. J. Occup. Environ. Health*. 2020; 33 (2): 241–246. DOI: 10.13075/ijomeh.1896.01503.
41. De Blay F., Doyen V., Lutz C. et al. A new, faster, and safe nasal provocation test method for diagnosing mite allergic rhinitis. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2015; 115 (5): 385–390. DOI: 10.1016/j.anai.2015.07.014.
42. Meng Y., Lou H., Wang Y., Wang C., Zhang L. The use of specific immunoglobulin E in nasal secretions for the diagnosis of allergic rhinitis. *Laryngoscope*. 2018; 128 (9): E311–E315. DOI: 10.1002/lary.27120.
43. Hamizan A., Alvarado R., Rimmer J. et al. Nasal mucosal brushing as a diagnostic method for allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc.* 2019; 40 (3): 167–172. DOI: 10.2500/aap.2019.40.4209.
44. De Schryver E., Devuyst L., Derycke L. et al. Local immunoglobulin E in the nasal mucosa: Clinical implications. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2015; 7 (4): 321–331. DOI: 10.4168/aa.2015.7.4.321.
45. Hemmings O., Kwok M., McKendry R., Santos A.F. Basophil activation test: old and new applications in allergy. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2019; 19 (12): 58. DOI: 10.1007/s11882-019-0889-8.
46. Gomez E., Campo P., Rondón C., Barrionuevo E., Blanca-Lopez N., Torres M.J. et al. Role of the basophil activation test in the diagnosis of local allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (4): 975–976. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.07.016.
47. Reisacher W.R. Detecting local immunoglobulin E from mucosal brush biopsy of the inferior turbinates using microarray analysis. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2013; 3 (5): 399–403. DOI: 10.1002/alr.21111.
48. Courbis A.-L., Murray R.B., Arnavielhe S. et al. Electronic clinical decision support system for allergic rhinitis management: MASK e-CDSS. *Clin. Exp. Allergy*. 2018; 48 (12): 1640–1653. DOI: 10.1111/cea.13230.
49. Hamed A., Palacios T., Khokhar D. et al. Local IgE production in allergic (AR) and non-allergic rhinitis (NAR). *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 139 (Suppl. 2): AB155. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.12.510.
50. Hoyte F.C.L., Nelson H.S. Recent advances in allergic rhinitis. *F1000Research*. 2018; 7: F1000. DOI: 10.12688/f1000research.15367.1.
51. Spitzer R.L., Kroenke K., Williams J.B.W., Lowe B. A brief measure for assessing generalized anxiety disorder. The GAD-7. *Arch. Intern. Med.* 2006; 166 (1): 1092–1097. DOI: 10.1001/archinte.166.10.1092.
52. Rondón C., Campo P., Salas M., Aranda A., Molina A., González M. et al. Efficacy and safety of *D. pteronyssinus* immunotherapy in local allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Allergy*. 2016; 71 (7): 1057–1061. DOI: 10.1111/all.12889.

Благодарности

Авторы выражают благодарность профессору О.В. Калюжину (1-й Московский медицинский государственный университет им. И.М. Сеченова) за советы и рекомендации относительно данной публикации.

Сведения об авторах

Климов Андрей Владимирович, канд. мед. наук, доцент, кафедра оториноларингологии, иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2776-5834.

Климов Владимир Васильевич, д-р мед. наук, зав. кафедрой оториноларингологии, иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6673-7556.

Коваль Станислав Анатольевич, ассистент, кафедра оториноларингологии, иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-8298-7456.

Свиридова Валентина Сергеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7594-6800.

Кошкарлова Наталья Сергеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6032-2402.

(✉) **Климов Андрей Владимирович**, e-mail: klimov.lor@mail.ru

Поступила в редакцию 06.09.2020

Подписана в печать 29.09.2020

Катетеризация сосудов мелких лабораторных животных при проведении биомедицинских исследований: технологические аспекты метода (обзор)

Лапин К.Н.¹, Рыжков И.А.¹, Мальцева В.А.², Удуд Е.В.³

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) общей реаниматологии имени В.А. Неговского, Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР) Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, 25/2

² Научный центр «Сигнал»
Россия, 107014, г. Москва, ул. Большая Оленья, 8

³ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины (НИИФРМ) им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

РЕЗЮМЕ

Настоящий обзор посвящен применению катетеризации сосудов мелких лабораторных животных в практике биомедицинских исследований с акцентом на технологические аспекты метода. Использование сосудистых катетеров для отбора проб крови, введения препаратов или с целью биомониторинга позволяет повысить качество исследования (достоверность и воспроизводимость результатов) и способствует соблюдению биоэтических норм. С современных позиций рассмотрены ключевые факторы, от которых зависит успех операции и всего исследования. В частности, даны рекомендации по выбору сосуда, типа и размера катетера в зависимости от особенностей животного и задач исследования. Подробно описана операция катетеризации наружной яремной вены крысы, принципиальные этапы которой одинаковы для всех магистральных сосудов грызунов. Также большое внимание уделено потенциальным осложнениям катетеризации сосудов, особенностям ухода за катетеризированным животным в послеоперационном периоде и мероприятиям, направленным на поддержание проходимости катетера и его надлежащего функционирования. Основными ограничениями широкого применения метода катетеризации в научных исследованиях являются недостаточная квалификация хирурга и необходимость использования операционного оборудования и микрохирургических инструментов.

Ключевые слова: катетеризация яремной вены, сосудистый катетер, хроническая катетеризация, экспериментальная хирургия, мелкие лабораторные животные.

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: Лапин К.Н., Рыжков И.А., Мальцева В.А., Удуд Е.В. Катетеризация сосудов мелких лабораторных животных при проведении биомедицинских исследований: технологические аспекты метода (обзор). *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 168–181. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-168-181>.

Vascular catheterization in small laboratory animals in biomedical research: technological aspects of the method (review article)

Lapin K.N.¹, Ryzhkov I.A.¹, Maltseva V.A.², Udut E.V.³

¹*Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology
25/2, Petrovka Str., Moscow, 107031, Russian Federation*

²*Scientific Center "Signal"
8, Bolshaya Olenya Str., Moscow, 107014, Russian Federation*

³*E.D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences
3, Lenina Av., Tomsk, 634028, Russian Federation*

ABSTRACT

This review addresses the use of vascular catheterization in small laboratory animals in biomedical research with an emphasis on the technological aspects of the method. The use of vascular catheters for blood sampling, drug delivery or biomonitoring improves the quality of the study (reliability and reproducibility of results) and promotes compliance with modern bioethical standards. The key factors that determine the success of the surgery and the entire study are considered with an up-to-date approach. In particular, recommendations are given on the choice of the vessel and the type and size of the catheter, depending on the characteristics of the animal and the study objectives. Catheterization of the external jugular vein of a rat is described in detail, and the fundamental stages of the procedure are the same for all major vessels of rodents. Much attention is paid to potential complications of vascular catheterization, care for catheterized animals in the postoperative period, as well as measures for maintaining the patency of the catheter and its proper functioning. The main limitations for the widespread use of catheterization in research are insufficient qualification of the surgeon and the need to use surgical equipment and microsurgical instruments.

Key words: jugular vein catheterization, vascular catheter, chronic catheterization, experimental surgery, small laboratory animals.

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: Lapin K.N., Ryzhkov I.A., Maltseva V.A., Udut E.V. Vascular catheterization in small laboratory animals in biomedical research: technological aspects of the method (review article). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 168–181. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-168-181>.

ВВЕДЕНИЕ

Катетеризация представляет собой хирургическую манипуляцию, при которой специальная трубка (катетер) вводится в полость тела, проток или сосуд. На протяжении многих десятилетий катетеризацию сосудов человека и животных применяют в диагностических и лечебных целях для многократного отбора проб крови, введения различных веществ, а также для регистрации физиологических показателей организма [1, 2]. В научных целях ее используют в экспериментальной биологии и медицине при проведении физиологических исследований, моде-

лировании патологических процессов, доклиническом тестировании лекарственных препаратов и для решения других задач.

Катетеризация мелких лабораторных животных, особенно грызунов, является сложной процедурой из-за малого размера объекта манипуляций. Исторически научные эксперименты на лабораторных животных начали проводить с середины XIX в. [3, 4]. Метод катетеризации сосудов человека начал активно развиваться в 1930–1940-е гг. [5]. При этом первые публикации, посвященные катетеризации сосудов мелких лабораторных животных, появились чуть позже – во второй половине XX в. [6, 7], когда

в связи с развитием технологий производства полимерных материалов появилась возможность создавать катетеры малого диаметра.

В настоящее время общепринятые мировые стандарты обращения с лабораторными животными требуют соблюдения биоэтической концепции, которая включает принципы 3R [8]. Внедрение этой концепции в практику экспериментальных исследований показало, что гуманное обращение с животными является одним из важных факторов получения достоверных результатов. Проведение современных биомедицинских доклинических исследований обычно сопровождается инфузией лекарственных препаратов и (или) отбором проб биоматериала у лабораторных животных. Использование метода катетеризации сосудов при указанных манипуляциях позволяет уменьшить дискомфорт и стресс животных, а значит, избежать нежелательных физиологических изменений, которые могут повлиять на результаты эксперимента. Так, сравнение показателей крови катетеризованных животных и крови, полученной другими общепринятыми методами, например декапитацией, показало существенные различия животных по уровню стресс-маркеров и составу крови [9–11]. Кроме того, при проведении, например, фармакокинетических исследований катетеризация сосудов позволяет уменьшить число животных, задействованных в эксперименте. Таким образом, при использовании метода катетеризации сосудов соблюдаются два из трех принципов 3R. Во-первых, усовершенствуются манипуляции с животными, за счет чего уменьшается негативное, вызывающее дистресс или боль воздействие (refinement – усовершенствование); во-вторых, сокращается количество животных, необходимое для получения достоверных результатов (reduction – уменьшение).

Основной целью настоящего обзора стало обобщение международного и собственного опыта применения катетеризации сосудов мелких лабораторных животных в практике биомедицинских исследований с акцентом на технологические аспекты метода. Многие современные публикации посвящены разнообразным модификациям процедуры катетеризации, которые используют для решения очень широкого круга задач. Поэтому мы ограничились наиболее типичными, на наш взгляд, примерами использования метода и указали основные аспекты, от которых зависит успех операции и всего исследования. Следует отметить, что во многих случаях рекомендации по выбору типа катетера, технике катетеризации и уходу за имплантированным катетером для людей и для животных совпадают, поэтому в обзор включены также клинические исследования.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КАТЕТЕРИЗАЦИИ И СПЕКТР РЕШАЕМЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЗАДАЧ

Катетеризацию сосудов мелких лабораторных животных наиболее часто применяют для решения следующих задач:

1. Однократная или многократная инфузия различных растворов (лекарственных препаратов, биологически активных веществ, кровезаменителей, генетического материала, рентген-контрастных препаратов и др.).

2. Однократный или многократный отбор биоматериала (например, для изучения фармакокинетики лекарственных препаратов или для проведения экспериментов с контролируемой кровопотерей).

3. Биомониторинг. Методом катетеризации имплантируют различные датчики и химические сенсоры, что позволяет в режиме онлайн на протяжении длительного времени непрерывно измерять температуру, систолическое, диастолическое и пульсовое давление, частоту пульса, концентрацию глюкозы, газов крови и другие параметры у свободно передвигающегося животного [12–16].

ВЫБОР СОСУДА ДЛЯ КАТЕТЕРИЗАЦИИ

При выборе сосуда для катетеризации и места введения катетера помимо задач исследования также следует принять во внимание анатомические особенности сосудистой системы данного вида животных. Место отбора проб биоматериала (артерия, центральная или периферическая вена) может повлиять на измеряемые показатели крови [17], а место инфузии лекарственного препарата – на его фармакокинетические показатели [18]. Большое значение имеет также направление заведения катетера в сосуд: антероградное (по направлению тока крови) или ретроградное (против тока крови). Так, артериальные катетеры обычно заводятся ретроградно для измерения системного артериального давления и антероградно – для направленного введения веществ в церебральный кровоток или в ткани конечности. Катетеры в центральные вены (наружную яремную, бедренную) в большинстве случаев заводят по направлению к сердцу (антероградно) [13].

Выбор сосуда для имплантации обуславливает выбор катетера с определенными характеристиками [19]. Например, артерии и вены имеют разное анатомическое строение и обладают разными упруго-эластическими свойствами. У артерий толстые стенки, их мышечные элементы способны активно сокращаться, поэтому введение катетера большого диаметра будет затруднительным.

Основные сосуды для катетеризации

Оптимальные характеристики катетера		Для каких экспериментов	Место катетеризации	Место катетеризации	Для каких экспериментов	Оптимальные характеристики катетера	
Для крысы	Для мыши					Для крысы	Для мыши
OD: 0,7-1,0 мм ID: 0,4-0,7 мм Материал: ПВХ, ПУ	OD: 0,3-0,5 мм ID: 0,15-0,30 мм Материал: ПВХ, ПУ	Инфузия + Отбор проб ++ Биомониторинг +/- Хронические эксперименты	Яремная вена	Сонная артерия	Инфузия +/- Отбор проб +/- Биомониторинг ++ Хронические эксперименты	OD: 0,5-0,9 мм ID: 0,3-0,6 мм Материал: ПЭ, ПВХ	OD: 0,3-0,4 мм ID: 0,15-0,20 мм Материал: ПЭ, ПВХ
OD: 0,8-1,2 мм ID: 0,4-0,7 мм Материал: ПВХ, ПУ, Сил.	OD: 0,4-0,7 мм ID: 0,2-0,4 мм Материал: ПВХ, ПУ, Сил.	Инфузия +/- Отбор проб + Биомониторинг ++ Хронические эксперименты	Полая вена	Аорта	Инфузия +/- Отбор проб - Биомониторинг ++ Хронические эксперименты	OD: 0,7-1,1 мм ID: 0,4-0,7 мм Материал: ПЭ, ПВХ, ПУ, Сил.	OD: 0,3-0,6 мм ID: 0,15-0,30 мм Материал: ПЭ, ПВХ, ПУ, Сил.
OD: 0,8-1,1 мм ID: 0,4-0,7 мм Материал: ПВХ, ПУ	OD: 0,3-0,5 мм ID: 0,15-0,30 мм Материал: ПВХ, ПУ	Инфузия +/- Отбор проб +/- Биомониторинг + Острые эксперименты	Бедренная вена	Бедренная артерия	Инфузия + Отбор проб + Биомониторинг +/- Острые эксперименты	OD: 0,6-1,0 мм ID: 0,4-0,7 мм Материал: ПЭ, ПВХ	OD: 0,3-0,4 мм ID: 0,15-0,20 мм Материал: ПЭ, ПВХ
OD: 0,6-0,9 мм ID: 0,4-0,7 мм Материал: ПВХ, ПЭ	OD: 0,3-0,4 мм ID: 0,15-0,20 мм Материал: ПВХ, ПЭ	Инфузия +/- Отбор проб +/- Биомониторинг +/- Острые эксперименты	Хвостовая вена	Хвостовая артерия	Инфузия + Отбор проб + Биомониторинг +/- Острые эксперименты	OD: 0,4-0,8 мм ID: 0,4-0,7 мм Материал: ПЭ, ПВХ	OD: 0,3-0,4 мм ID: 0,15-0,20 мм Материал: ПЭ, ПВХ

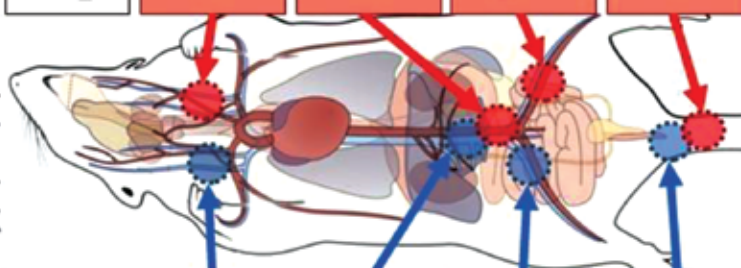


Рис. 1. Основные сосуды грызунов, используемые для катетеризации при проведении биомедицинских исследований и оптимальные характеристики катетера: OD – внешний диаметр катетера, ID – внутренний диаметр катетера, ПЭ – полиэтилен, ПВХ – поливинилхлорид, ПУ – полиуретан, Сил. – силикон, ++ – часто применяют, + – применяют, +/- – редко применяют

Кроме того, артериальный спазм может вызвать окклюзию слишком мягкого катетера. Напротив, у вены стенки тоньше и легче растягиваются, чем у артерии, поэтому в вену можно имплантировать более мягкий катетер большего диаметра. Следует отметить, что при имплантации катетера в вену нужно следить, чтобы его внутрисосудистый конец не упирался в стенки вены. На рис. 1 представле-

ны основные кровеносные сосуды, наиболее часто используемые для катетеризации, а также приведены характеристики катетеров, подходящих для имплантации в эти сосуды. Для измерения внешнего диаметра катетера часто используют такие единицы, как Френч (Ch, Fr) или Гейдж (G). Их соответствие метрической системе представлено в табл. 1.

Таблица 1

Соответствие французской шкалы и шкалы Гейдж метрической системе									
Шкала	Единица измерения	Внешний диаметр катетера							
Французская	Charriere (Ch) / French (Fr)	1	–	2	–	3	–	4	5
Гейдж	Gauge (G)	29	27	22	20	–	18	–	16
Метрическая	мм	0,33	0,4	0,67	0,9	1,00	1,25	1,35	1,67



Рис. 2. Компоненты катетера и их назначение: 1 – заглушка, 2 – переходник для подключения к внешним устройствам, 3 – фиксирующее кольцо для наружной фиксации катетера и цветовой маркировки типа катетера, 4 – скользящий зажим, 5 – кольца для фиксации внутрисосудистой части катетера в сосуде, 6 – внутрисосудистая часть катетера

ТИПЫ КАТЕТЕРОВ

При выборе катетеров нужно основываться на трех принципах: во-первых, каждая модель должна быть рассчитана для конкретного вида животных и, соответственно, типа сосудов; во-вторых, катетер должен идеально подходить к внешнему устройству, к которому он будет присоединяться; в-третьих, конфигурация катетера должна быть достаточно простой и универсальной, чтобы подходить для большинства методик, применяемых в хирургии и научных исследованиях. На рис. 2 приведены компоненты катетера и их назначение.

Функциональные характеристики катетера в первую очередь зависят от материала. Кроме того, на них влияет размер, геометрия наконечника и глубина имплантации. Оптимальный материал катетера выбирают исходя из задач исследования: длительности эксперимента, химической природы инфузионных растворов, размера животного и его физического состояния, а также степени владения хирургом техникой катетеризации. Например, для проведения хронического эксперимента лучше использовать более мягкие материалы, меньше повреждающие сосуди-

стый эндотелий при имплантации. При этом мягкий катетер сложнее ввести в сосуд. В доклинической и клинической практике чаще всего применяют катетеры из силикона (Сил), полиуретана (ПУ), полиэтилена (ПЭ) и поливинилхлорида (ПВХ) [20]. Они обладают разными биологическими, физическими и химическими характеристиками (табл. 2). Следует отметить, что, поскольку в настоящее время активно совершенствуются старые и разрабатываются новые полимерные материалы, в том числе комбинированные или многослойные, характеристики, приведенные в табл. 2, могут меняться в зависимости от производителя.

Биосовместимость катетера зависит от его жесткости, геометрии внутрисосудистой части, а также химических и физических характеристик поверхности: инертности, гидрофильности, наличия неровностей и механических дефектов, полярных или заряженных групп и пр. [20–23]. Кроме того, микроорганизмы определенного вида предпочитают колонизировать определенный полимер [22]. В зависимости от ситуации любой из этих факторов может оказаться решающим и привести к осложнениям при катетеризации. Наиболее значимыми ха-

Таблица 2

Характеристики различных полимеров, применяемых для производства катетеров				
Свойство	Материал			
	Силикон	Полиуретан	Полиэтилен	Поливинилхлорид
Гемосовместимость (биосовместимость)	Очень хорошая	Хорошая	Средняя	Средняя
Химическая инертность	Возможно взаимодействие	Возможно взаимодействие	Инертный	Возможно взаимодействие
Жесткость	Очень мягкий	Мягкий внутри сосуда	Жесткий	Может быть и мягким, и жестким
Легкость введения в сосуд	Сложно ввести	Умеренно легко ввести	Легко ввести	Умеренно легко ввести
Толщина стенки	Большая	Средняя	Маленькая	Средняя
Легкость перевязывания лигатурой	Очень хорошая	Средняя	Плохая	Средняя
Память материала	Очень хорошая	Средняя	Плохая	Средняя
Прочность на разрыв	Плохая	Очень хорошая	Очень хорошая	Очень хорошая
Стерилизация	Окись этилена или паровая	Окись этилена	Окись этилена	Окись этилена

раактеристиками являются химическая инертность и гибкость.

Жесткие катетеры продолжают оставаться популярными, особенно при проведении острых экспериментов, потому что их легче имплантировать [20]. С этой точки зрения особый интерес представляет ПУ – термопластичный полимер, который размягчается в сосуде при нагревании теплом тела. Это более прочный материал, чем силикон, поэтому ПУ-катетер можно сделать с более тонкими стенками и большим внутренним диаметром, что может уменьшить вероятность перекрытия тромбом просвета катетера [24]. ПУ-катетер с модифицированной поверхностью, в том числе с помощью различных покрытий, почти не вызывает тромбообразования [23, 25, 26], в то время как ПУ без покрытия имеет шероховатую поверхность, способствующую образованию тромба [23].

ПРОВЕДЕНИЕ ОПЕРАЦИИ КАТЕТЕРИЗАЦИИ

Перед выполнением экспериментов, в которых применяется катетеризация сосудов лабораторных животных, необходимо получить одобрение протокола исследования локальным биоэтическим комитетом научного учреждения.

Успех проведения операции катетеризации зависит от тщательного планирования ее трех основных этапов: 1) предоперационной подготовки, 2) операции и 3) послеоперационного ухода за животным.

Предоперационная подготовка. Первый этап включает подготовку животного, операционного помещения и необходимого оборудования. Для проведения катетеризации выбирают здоровое животное, прошедшее карантин и приученное к рукам. За 1 сут до операции проводят его клинический осмотр: взве-

шивают, проверяют температуру тела, частоту сердечных сокращений, состояние шерстяного покрова, слизистых, наличие выделений и отклонений в поведении. Кроме того, животное пальпируют с целью обнаружения выростов, опухолей, аномалий кожи. За 1 сут до операции или непосредственно перед ее проведением шерсть в планируемой области операционной раны удаляют (бритьем, выщипыванием, химической эпиляцией и т.д.). При этом площадь поверхности кожи с удаленной шерстью должна быть не менее чем в 2 раза больше предполагаемой площади операционной раны. Несмотря на то, что у грызунов отсутствует рвотный рефлекс, за несколько часов до начала проведения операции желательно лишить животное корма.

Помещение, в котором будет проходить операция, должно соответствовать требованиям ГОСТ Р 55634-2013. Кроме того, желательно, чтобы оно не было проходным и хорошо вентилировалось. Перед операцией поверхности помещения, оборудование, инструменты и мебель обрабатывают дезинфицирующими средствами, воздух – УФ-лучами бактерицидной лампы. Основное оборудование, хирургические инструменты и расходные материалы для катетеризации сосудов мелких лабораторных животных представлены на рис. 3. Дополнительные хирургические инструменты и оборудование (оптические устройства, аппарат искусственной вентиляции легких, электрокоагулятор, пульсоксиметр и т. д.) хирург выбирает исходя из задач и своих возможностей.

Хирург перед проведением операции надевает шапочку и маску, моет руки, обрабатывает их дезинфицирующим средством, затем надевает стерильный халат и анатомические хирургические перчатки. Животное вводят в наркоз и проводят топографо-анатомическую оценку ориентиров для

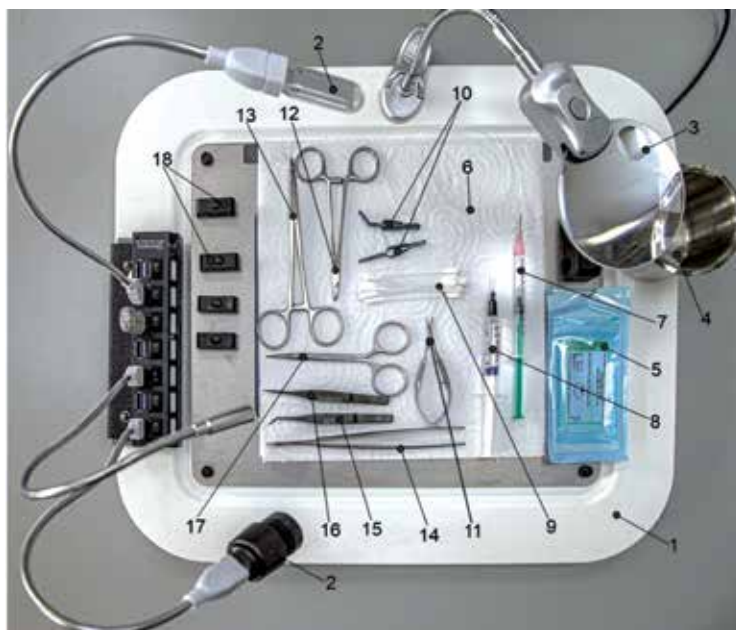


Рис. 3. Основное оборудование, хирургические инструменты и расходные материалы для катетеризации сосудов мелких лабораторных животных: 1 – хирургическая платформа с подогревом; 2 – освещение; 3 – лупа; 4 – процедурная чаша; 5 – шовный материал; 6 – катетер; 7 – шприц с раствором NaCl 0,9 %-м и гепарином; 8 – шприц с раствором NaCl 0,9 %-м; 9 – ватные палочки; 10 – зажим, тип «бульдог»; 11 – микроножницы; 12 – иглодержатель; 13 – зажим, тип «москит»; 14 – пинцет общего назначения; 15 – пинцет шовный изогнутый; 16 – пинцет шовный прямой; 17 – ножницы вертикально изогнутые; 18 – магнитные позиционеры

выбора места оперативного доступа к катетеризируемому сосуду.

Для дезинфекции операционного поля кожу животного обрабатывают дезинфицирующим средством по принципу «от центра – к периферии». Далее в ходе операции важно не нарушать созданный асептический барьер и не вносить патогенные микроорганизмы, которые могут вызвать послеоперационное осложнение.

Анестезия. Катетеризация сосудов является инвазивной процедурой и должна проводиться с применением адекватных методов анестезии. Анестезия необходима не только для облегчения боли у лабораторного животного, но также позволяет его обездвигнуть и минимизировать нежелательные физиологические сдвиги, обусловленные стресс-реакцией организма. Поскольку в ряде случаев анестетики могут в значительной степени влиять на течение физиологических процессов (например, за счет кардиореспираторной депрессии), это может существенно отразиться на результатах экспериментальных исследований [27].

Таким образом, необходимо выбирать такие анестетики, которые не вызвали бы существенных изменений в анализируемых параметрах животного. Общая анестезия может достигаться применением ингаляционных и неингаляционных (инъекционных)

анестетиков. Среди ингаляционных анестетиков рекомендуется использовать изофлюран (3–5 % об.) или севофлюран (2–4 % об.) в сочетании с кислородом или кислородно-воздушной смесью [13]. При выборе неингаляционных анестетиков предпочтение отдается современным комбинированным препаратам [28, 29]. К таким препаратам относятся смесь тилетамина и золазепама («Золетил 100», доза для крыс: 20–40 мг/кг, внутримышечно (в/м) или внутрибрюшинно (в/б)), а также ее комбинация с ксилазином (доза для крыс: 5–10 мг/кг, в/м или в/б). При совместном применении препаратов доза каждого из компонентов снижается (доза для крыс: смесь тилетамин-золазепам 20 мг/кг, ксилазин 5 мг/кг). К сожалению, некоторые эффективные анестетики (кетамин, барбитураты, наркотические анальгетики) редко применяются в экспериментальной практике в России из-за необходимости их строгого учета и лицензирования такого рода деятельности. Хлоралгидрат (300 мг/кг, в/б) и пентобарбитал (40 мг/кг, в/б) обладают низким обезболивающим потенциалом, поэтому при их использовании рекомендуется дополнительная местная анестезия области разреза и катетеризируемого сосуда [27].

Техника катетеризации. Прежде чем приступить к хирургическому вмешательству, хирург должен иметь четкое представление об анатомическом

строении оперируемой области. На рис. 4 представлена схематическая комплексная анатомия шеи крысы.

Ниже приведены этапы имплантации катетера в правую наружную яремную вену крысы (иллюстрации выполнены К.Н. Лапиным, рис. 5–10).

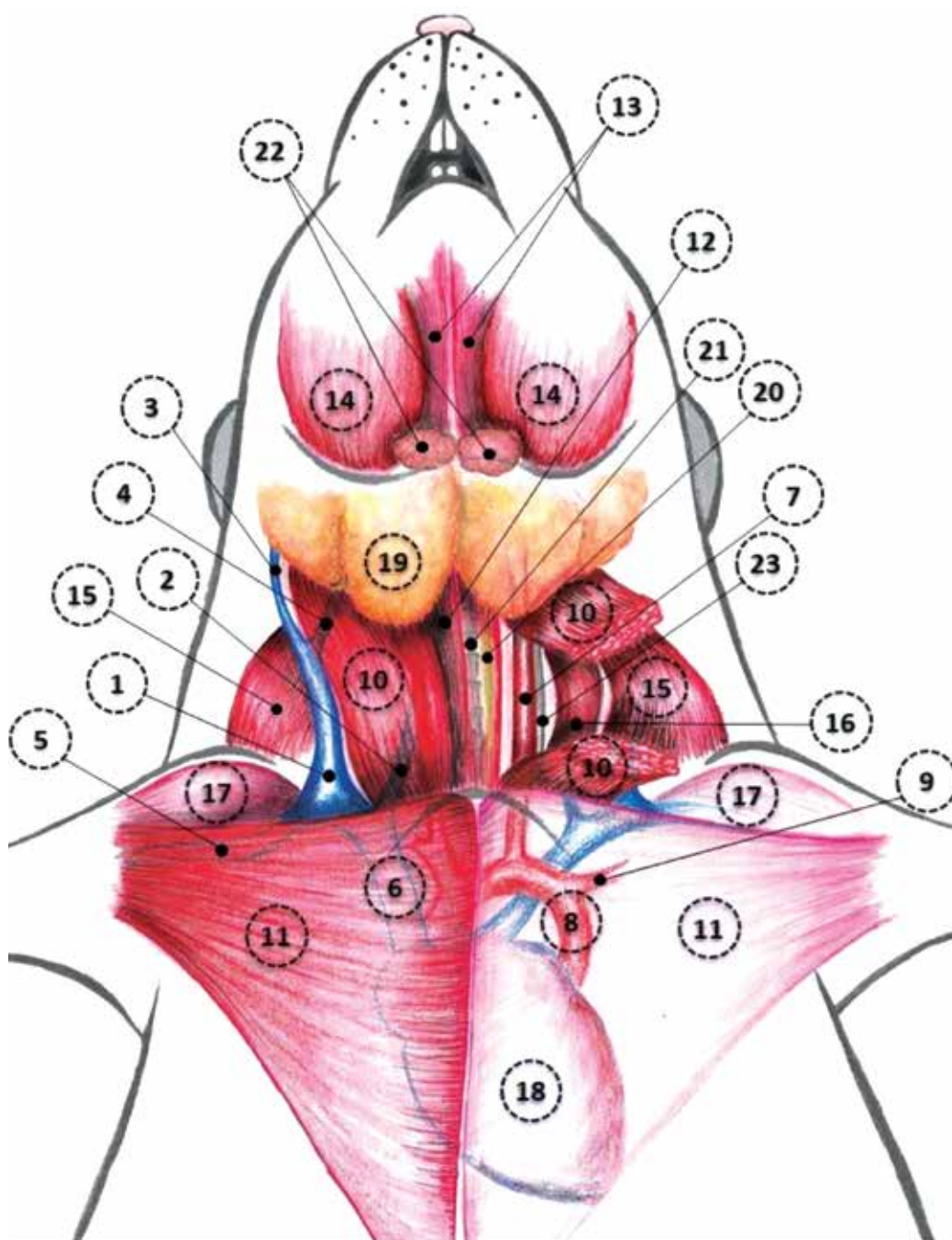


Рис. 4. Схематическая комплексная анатомия шеи крысы (иллюстрация выполнена К.Н. Лапиным): 1 – наружная яремная вена; 2 – внутренняя яремная вена; 3 – передняя яремная вена; 4 – краниальная яремная вена; 5 – подключичная вена; 6 – плечеголовная полая вена; 7 – сонная артерия; 8 – дуга аорты; 9 – подключичная артерия; 10 – грудинно-сосцевидная мышца; 11 – грудная мышца; 12 – грудинно-подъязычная мышца; 13 – двубрюшная мышца; 14 – жевательная мышца; 15 – ключично-трапециевидная мышца; 16 – ключично-сосцевидная мышца; 17 – дельтовидная мышца; 18 – сердце; 19 – слюнная железа; 20 – пищевод; 21 – трахея; 22 – лимфатические узлы; 23 – блуждающий нерв



Рис. 5. Этапы 1–3: 1) спланируйте линию разреза; 2) сделайте разрез 1,5–2 см. Он должен быть настолько большим, насколько нужно хирургу, и настолько маленьким, насколько это возможно; 3) при необходимости остановите кровотечение. В ходе операции промывайте рану раствором NaCl 0,9%-м для предупреждения пересыхания тканей

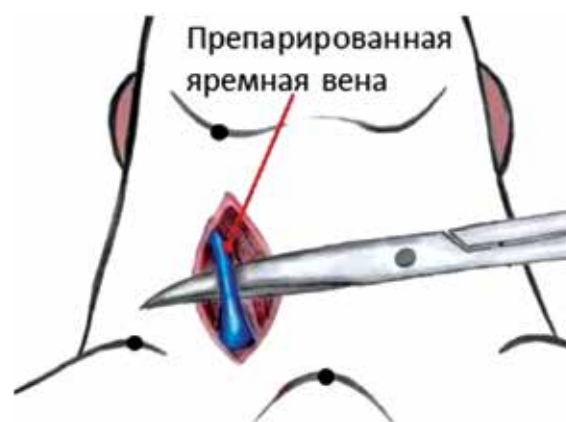


Рис. 6. Этапы 4–5: 4) разъедините соединительную и жировую ткани тупым рассечением с использованием ножниц до обнаружения наружной яремной вены; 5) отпрепарируйте яремную вену со всех сторон и освободите ее от кусочков тканей. От тщательной подготовки препарированного отрезка вены в большой степени зависит успех процедуры введения катетера



Рис. 7. Этапы 6–10: 6) перевяжите вену ростральной лигатурой (2–3 полуузла) для остановки потока крови к сердцу; 7) концы лигатуры зажмите зажимом типа «бульдог» и слегка натяните вену; 8) наложите каудальную лигатуру и завяжите ее одним свободным узлом. При необходимости протяните посередине отпрепарированного участка вены третью лигатуру, как запасную; 9) сделайте надрез стенки вены микроножницами; 10) введите кончик катетера в просвет вены в каудальном направлении

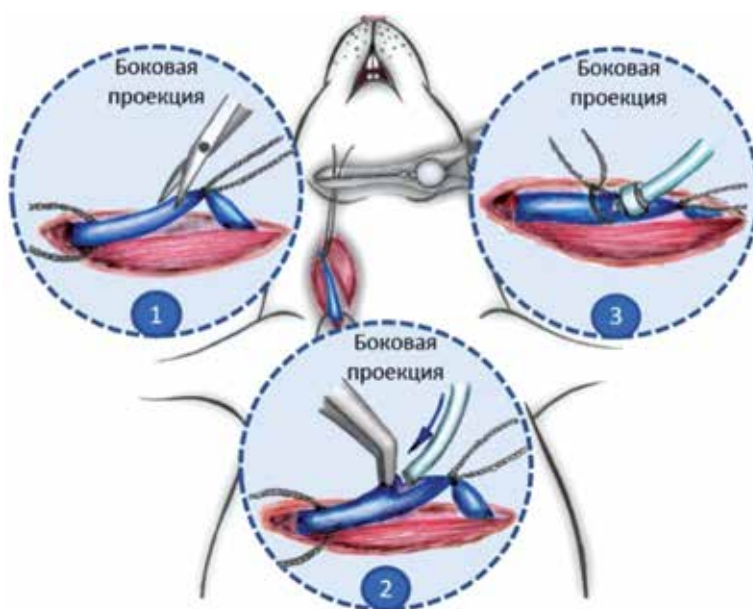


Рис. 8. Критический этап хирургического вмешательства при имплантации катетера в правую наружную яремную вену крысы



Рис. 9. Этапы 11–13: 11) после введения катетера в вену на 2–3 см завяжите каудальную лигатуру (2–3 полуузла); 12) перевяжите катетер кончиками ростральной лигатуры (2–3 полуузла) таким образом, чтобы фиксирующее кольцо катетера было расположено между лигатурами. При необходимости завяжите третью лигатуру; 13) проверьте проходимость катетера и отсутствие кровотечения в месте разреза вены. Обрежьте длинные концы лигатур

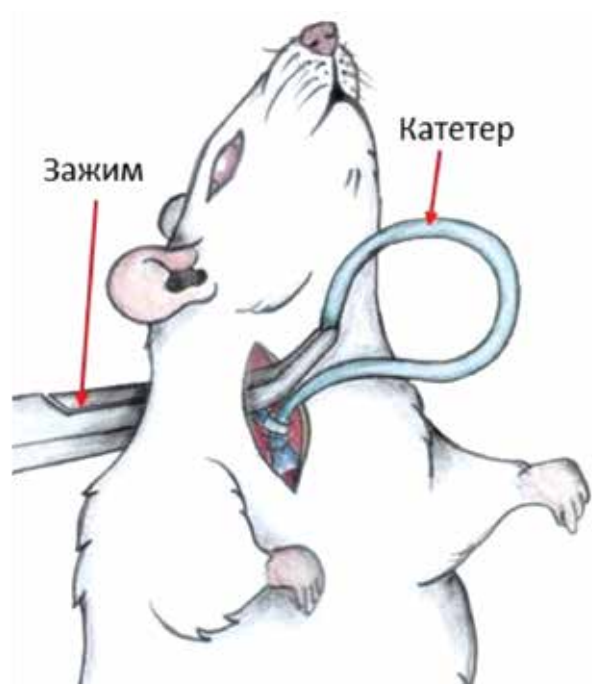


Рис. 10. Этапы 14–18: 14) для подкожного туннелирования катетера поверните животное набок и пережмите катетер зажимом; 15) сделайте небольшой разрез кожи между лопатками. Через разрез между лопатками проведите зажим под кожей и выведите в разрез на шее; 16) захватите конец катетера и протяните его под кожей. После полного вытягивания подсоедините его к шприцу и освободите от зажимов; 17) проверьте проходимость катетера; 18) ушейте разрезы на шее и спине

ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ КАТЕТЕРИЗАЦИИ СОСУДОВ

Во время выполнения катетеризации сосуда наиболее частыми осложнениями являются: кровотечение; травма других тканей и органов в области операции (трахея, пищевод, нервные стволы, слюнные железы, мышцы); дыхательные и гемодинамические нарушения у оперируемого животного при длительной и травматичной операции. В профилактике указанных осложнений большое значение имеют соблюдение правильной техники катетеризации и опыт (квалификация) хирурга. Стоит отметить, что перевязка одной из сонной артерий, как правило, не вызывает ишемию головного мозга [30].

При имплантации катетеров, особенно долговременной, наиболее часто встречаются следующие послеоперационные осложнения: 1) катетер-ассоциированные инфекционные осложнения; 2) окклюзия катетера; 3) боль и кровоточивость в области операции. При катетерной инфекции наблюдаются тромбофлебит, сепсис или местная инфекция, кото-

рая распространяется в тканях в области выхода катетера и (или) по ходу катетера (туннельная инфекция). Все эти осложнения имеют общий патогенез и тесно связаны между собой. Например, катетерный сепсис приводит к образованию тромбов в катетеризованном сосуде. Следует отметить, что катетеризация мелких лабораторных животных достаточно редко приводит к сепсису, и для его предотвращения обычно достаточно соблюдать правила асептики при хирургических вмешательствах [31], а также проводить регулярную обработку места вхождения катетера хлоргексидин-содержащими препаратами.

Причиной возникновения катетерных инфекций является образование биопленок на поверхности катетера при его введении в кровоток. Сначала поверхность катетера покрывается белковой пленкой из фибрина, коллагена, эластина и т.п., затем адсорбированные белки быстро заселяются колониями патогенных микроорганизмов. Бактерии и грибки проникают на катетер с кожи и реже при инфузии обсемененной микроорганизмами жидкости [23, 32]. Энтеральное и парентеральное введение антибиоти-

ков для предотвращения катетерных инфекций малоэффективно и может способствовать формированию устойчивости к антибиотикам [32, 33]. Поэтому, чтобы избежать колонизации катетеров микроорганизмами, активно разрабатываются новые подходы, такие как использование катетерных покрытий, обладающих антимикробным, антисептическим и (или) антикоагулянтным действием (например, рифампицина, сульфадиазина серебра, хлоргексидина, гепарина, ЭДТА). Многочисленные исследования доказали эффективность этих покрытий для снижения частоты заболеваний катетерными инфекциями. К недостаткам этого подхода следует отнести недолговечность покрытия, дороговизну, а также то, что оно подавляет не весь спектр патогенных возбудителей [33, 34].

Окклюзия катетера помимо механических причин (пережимание, перекручивание, неправильное размещение в сосуде) происходит в основном из-за внутрипросветного тромбообразования, реже из-за образования осадка при инфузии взвесей или химически несовместимых препаратов. По описанному выше механизму вокруг внутрисосудистой части катетера всегда формируется фибриновая оболочка (фибриновый «рукав»), которая может стать очагом микробной колонизации. Поэтому введение антикоагулянтов помимо борьбы с окклюзией может также способствовать профилактике катетерной инфекции [32, 35].

При длительной катетеризации животных, в том числе при подключении к системам автоматического отбора проб крови, наиболее частым осложнением является тромбоэмболия, к которой присоединяется вторичная инфекция. Тромб из катетера или катетеризированного сосуда переносится током крови, чаще всего в почки или головной мозг, что вызывает окклюзию сосудов и инфаркт органа, который со временем приводит к развитию инфекции [31, 36, 37]. Наиболее чувствительным индикатором наличия этих патологических процессов является потеря массы тела животного более 10 % от первоначальной в послеоперационном периоде [31].

УХОД ЗА КАТЕТЕРИЗИРОВАННЫМ ЖИВОТНЫМ И ИМПЛАНТИРОВАННЫМ КАТЕТЕРОМ

Операционное вмешательство является стрессом для животного. Неправильный послеоперационный уход может привести к развитию у животного дистресса, что может стать причиной его гибели. Чтобы минимизировать страдания животного после опе-

рации, нужно свести к минимуму негативное воздействие внешних факторов. В помещении должно быть тепло, свет не должен быть слишком ярким, нужно уменьшить шум и вибрацию от работы лабораторного оборудования, а также поместить в клетку для содержания какую-либо имитацию укрытия, например несколько бумажных салфеток. Если животное испытывает сильные болевые ощущения, необходимо дать ему обезболивающие препараты. Следует отметить, что сильный стресс может вызвать нарушения гемодинамики и микроциркуляции, что будет способствовать тромбообразованию и окклюзии катетера.

Долговременная проходимость катетера определяется следующими факторами: место имплантации и техника введения катетера; биосовместимость материала и геометрия катетера; частота промывания и использование растворов для закрытия катетера; соблюдение правил асептики и антисептики при проведении операции и послеоперационном уходе; индивидуальные физиологические и биохимические особенности животного. Для поддержания проходимости катетера его необходимо периодически промывать и заполнять консервирующим раствором (катетерный замок). Замок препятствует образованию тромба в катетере в тот период времени, когда он не используется. Готовые растворы для закрытия катетеров (например, ТауроЛок™) помимо антикоагулянтного (или тромболитического) действия также обладают бактерицидной и (или) фунгицидной активностью. Чтобы избежать его попадания в системный кровоток животного, объем «замка» не должен превышать объем просвета катетера и подключенных к катетеру дополнительных устройств или трубок. Перед инфузией или отбором крови «замок» удаляют аспирацией.

При проведении инфузии или промывании катетера следует обратить внимание на то, что отсоединение шприца приводит к забросу крови во введенный в сосуд конец катетера и в дальнейшем может вызвать его окклюзию. Для предотвращения заброса крови рекомендуется использовать технику положительного давления: ввести шприцем практически весь объем раствора, перекрыть катетер зажимом перед снятием шприца, а отсоединяя его, продолжить введение остатка раствора.

Наиболее часто для закрытия катетера используют гепарин натрия в физиологическом растворе, хотя нет четких доказательств преимущества этого замка по сравнению с физиологическим раствором без добавления гепарина [38]. Конечная концентрация гепарина в зависимости от задач исследования может быть различной (обычно 10–500 ЕД/мл). Бо-

лее эффективно вместо физиологического раствора использовать вязкие жидкости (раствор декстрозы, поливинилпирролидона или глицерина), что позволяет избежать вымывания замка с внутрисосудистого конца катетера. Недостатком гепарина является то, что он может вызывать индивидуальную непереносимость, а также стимулировать образование биопленок золотистого стафилококка [39]. Также его нельзя применять при некоторых видах биомедицинских исследований, например при анализе мРНК [40]. В качестве альтернативных вариантов используют этаноловый замок или растворы хелатирующих агентов (цитрат натрия, ЭДТА) [39–41]. Тем не менее наиболее перспективным представляется создание комбинированных замков, которые вместе с антикоагулянтными свойствами будут проявлять широкий спектр активности против бактерий и грибов [42–44].

Чтобы предотвратить окклюзию катетера, его необходимо регулярно промывать, желательно не реже, чем через каждые 30 мин. Кроме того, промывание всегда проводят до и после инфузии или отбора проб крови. При этой процедуре из просвета катетера удаляются тромбы, отложения фибрина, липидов, лекарственных средств и пр. Для эффективности промывания важную роль играет динамика потока жидкости. Как показали исследования, прерывистое (болюсное) промывание существенно лучше удаляет твердые отложения на стенках катетера по сравнению с непрерывным потоком [39, 45]. Наиболее эффективно прерывистое введение жидкости – 2–3 последовательных болюса с интервалом 0,4 с, которые создают турбулентное течение потока. При этом следует учесть, что слишком резкое введение жидкости в катетер может повреждать эндотелий сосудов [45].

Обычно промывание катетера проводят физиологическим раствором, в том числе с добавлением гепарина (1–10 Ед/мл). В настоящее время однозначно не доказано, что при промывании раствором гепарина частота окклюзий катетера уменьшается по сравнению с промыванием физиологическим раствором [46–49]. Также следует отметить, что регулярное длительное использование гепарина может вызвать у животного побочные эффекты, а также повлиять на результаты эксперимента, поэтому при промывании желательно, во-первых, учитывать объем просвета катетера, во-вторых – проводить аспирацию гепаринизированного раствора перед использованием катетера. Для профилактики воздушной эмболии и ишемии органов очень важно при работе с катетером (подсоединение (отсоединение) шприца и инфузионных систем, промывка) не допускать попадания пу-

зырьков воздуха в катетер и кровоток. Это особенно актуально при многократных отборах проб крови и введении препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время катетеризация сосудов мелких лабораторных животных, в частности крыс и мышей, широко используется при проведении научных исследований в лабораториях всего мира. Отбор крови другими методами часто приводит к гемолизу образцов и изменениям в составе крови животных, вызванным стрессом от ограничения подвижности и манипуляций. Вместе с тем при исследованиях биологически активных веществ катетеризация позволяет осуществлять их инфузию непосредственно в кровоток и достигать максимальной биодоступности. Таким образом, метод катетеризации позволяет одновременно получать более достоверные результаты экспериментов и соблюдать принципы этического обращения с животными. Кроме того, при катетеризации в эксперименте задействовано минимальное количество животных, что существенно снижает себестоимость исследования.

Следует отметить, что основным ограничением для применения метода катетеризации в научных исследованиях является недостаточная квалификация хирурга. Поэтому важно помнить, что успех операции в большой степени зависит от того, сколько времени уделяет хирург тренировке необходимых практических навыков и доведению их до автоматизма. Данный обзор должен восполнить возможные пробелы, мешающие успешному проведению катетеризации, а также обучить манипуляциям с животными до и после операции и уходу за имплантированным катетером.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dudrick S.J. History of vascular access. *JPEN*. 2006; 30 (1): S47–S56. DOI: 10.1177/01486071060300S1S47.
2. Kelly L.J. Pig bladders and feather quills: a history of vascular access devices. *Br. J. Nurs.* 2014; 23(19): S21–S25. DOI: 10.12968/bjon.2014.23.sup19.s21.
3. Bazin H. L'origine des rats de laboratoire, contribution à sa connaissance. *Bull. Acad. Vet. Fr.* 2001; 154: 145–150. DOI: 10.4267/2042/62578.
4. Franco N.H. Animal Experiments in Biomedical Research: A historical perspective animals. *Animals (Basel)*. 2013; 3: 238–273. DOI: 10.3390/ani3010238.
5. Nossaman B.D., Brittni M.D., Scruggs A., Vaughn B.S., Nossaman E., Subramanyam M.S., Murthy N., Kadowitz P.J. History of right heart catheterization: 100 years of experimentation and methodology development. *Cardiol. Rev.* 2010; 18 (2): 94–101. DOI: 10.1097/CRD.0b013e3181ceff67.
6. Zerati A.E., Wolosker N., de Luccia N., Puech-Leão P. Totally implantable venous catheters: history, implantation technique

- and complications. *J. Vasc. Bras.* 2017; 16 (2): 128–139. DOI: 10.1590/1677-5449.008216.
7. Park A.Y., Plotsky P.M., Pham T.D., Pacak K., Wynne B.M., Wall S.M., Lazo-Fernandez Y. Blood collection in unstressed, conscious, and freely moving mice through implantation of catheters in the jugular vein: a new simplified protocol. *Physiol. Rep.* 2018; 6 (21): e13904. DOI: 10.14814/phy2.13904.
 8. Aske K.C., Waugh C.A. Expanding the 3R principles: more rigour and transparency in research using animals. *EMBO Rep.* 2017; 18 (9): 1490–1492. DOI: 10.15252/embr.201744428.
 9. Grouzmann E., Cavadas C., Grand D., Moratel M., Aubert J.-F., Brunner H.R., Mazzolai L. Blood sampling methodology is crucial for precise measurement of plasma catecholamines concentrations in mice. *Pflugers Arch.* 2003; 447: 254–258. DOI: 10.1007/s00424-003-1140-x.
 10. Vahl T.P., Ulrich-Lai Y.M., Ostrander M.M., Dolgas C.M., Elfers E.E., Seeley R.J., D'Alessio D.A., Herman J.P. Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2005; 289 (5): E823–E828. DOI: 10.1152/ajpendo.00122.2005.
 11. Karim N., Sanowar S. Jugular vein cannulation in rats – a mini review. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences.* 2009; 3 (3): 929–935.
 12. Pacher P., Nagayama T., Mukhopadhyay P., Bátkai S., Kass D.A. Measurement of cardiac function using pressure – volume conductance catheter technique in mice and rats. *Nat. Protoc.* 2008; 3 (9): 1422–1434. DOI: 10.1038/nprot.2008.138.
 13. Feng J., Fitz Y., Li Y., Fernandez M., Puch I.C., Wang D., Pazniokas S., Bucher B., Cui X., Solomon S.B. Catheterization of the carotid artery and jugular vein to perform hemodynamic measures, infusions and blood sampling in a conscious rat model. *J. Vis. Exp.* 2015; 95: 51881. DOI: 10.3791/51881.
 14. Segreti J.A., Polakowski J.S., Blomme E.A., King A.J. Simultaneous measurement of arterial and left ventricular pressure in conscious freely moving rats by telemetry. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 2016; 79: 23–33. DOI: 10.1016/j.vascn.2016.01.003.
 15. Zhang X.D., Pechter D., Yang L., Ping X., Yao Z., Zhang R., Shen X., Li N.X., Connick J., Nawrocki A.R., Chakravarthy M., Li C. Decreased complexity of glucose dynamics preceding the onset of diabetes in mice and rats. *PLoS One.* 2017; 12 (9): e0182810. DOI: 10.1371/journal.pone.0182810.
 16. Bogdan S., Luca V., Ober C., Melega I., Pestean C., Codea R., Oana L. Comparison among different methods for blood pressure monitoring in rats: literature review. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj Napoca.* 2019; 76 (1): 5–19. DOI: 10.15835/buasvmcn-vm:2019.0007.
 17. Higgins C. Lactate measurement: arterial versus venous blood sampling. Retrieved from *Acutecaretesting. Org.* 2017. URL: <https://acutecaretesting.org/en/articles/lactate-measurement-arterial-versus-venous-blood-sampling>
 18. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1; под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012: 944.
 19. Moureau N. Vessel health and preservation: the right approach for vascular access. *Springer Open*, 2019: 303. DOI: 10.1007/978-3-030-03149-7_23.
 20. Jacobs B.R. Central venous catheter occlusion and thrombosis. *Crit. Care Clin.* 2003; 19 (3): 489–514. DOI: 10.1016/s0749-0704(03)00002-2.
 21. Galloway S., Bodenham A. Long-term central venous access. *Br. J. Anaesth.* 2004; 92 (5): 722–734. DOI: 10.1093/bja/aeh109.
 22. Francolini I., Piozzi A. Antimicrobial polyurethanes for intravascular medical devices. In Book: *Advances in polyurethane biomaterials*; 1st ed., eds. Cooper S.L., Guan J. Cambridge, Massachusetts: Woodhead Publishing, 2016: 349–385. DOI: 10.1016/b978-0-08-100614-6.00012-3.
 23. Neoh K.G., Li M., Kang E.-T., Chiong E., Tambyah P.A. Surface modification strategies for combating catheter-related complications: recent advances and challenges. *J. Mater. Chem. B.* 2017; 5: 2045–2067. DOI: 10.1039/c6tb03280j.
 24. Teilmann A.C., Falkenberg M.K., Hau J., Abelson K.S.P. Comparison of silicone and polyurethane catheters for the catheterization of small vessels in mice. *Lab. Anim.* 2014; 43 (11): 397–403. DOI: 10.1038/labani.570.
 25. Xu L.-C., Siedlecki C.A. Antibacterial polyurethanes. In Book: *Advances in polyurethane biomaterials*; 1st ed., eds. Cooper S.L., Guan J. Cambridge, Massachusetts: Woodhead Publishing, 2016: 247–284. DOI: 10.1016/b978-0-08-100614-6.00009-3.
 26. Gunaratnam G., Spengler C., Trautmann S., Jung P., Mischo J., Wieland B., Metz C., Sören B.L., Hannig M., Jacobs K., Bischof M. Human blood plasma factors affect the adhesion kinetics of *Staphylococcus aureus* to central venous catheters. *Sci. Rep.* 2020; 10 (1): 20992. DOI: 10.1038/s41598-020-77168-x.
 27. Flecknell P.A. Laboratory animal anaesthesia; 3rd ed. London: Academic Press, 2009: 304. DOI: 10.1016/B978-0-12-369376-1.X0001-9.
 28. Heiser A., Liu J.H.K. Rat jugular vein and carotid artery catheterization for acute survival studies. New York: Springer, 2007: 116. DOI: 10.1007/0-387-49416-2.
 29. Uhlig C., Krause H., Koch T., De Abreu M.G., Spieth P.M. Anesthesia and Monitoring in Small Laboratory Mammals Used in Anesthesiology, Respiratory and Critical Care Research: A Systematic Review on the Current Reporting in Top-10 Impact Factor Ranked Journals. *PLoS One.* 2015; 10 (8): e0134205. DOI: 10.1371/journal.pone.0134205.
 30. Manual of stroke models in rat; 1st ed., ed. Wang-Fischer Y. Boca Raton: CRC Press; 2009: 352. DOI: 10.1201/9781420009521.
 31. Allavena R.E., West H., Gale J., Debre M. Pathological and clinical analysis of vascular catheterization models in rats, with exploration of interventions to improve clinical tolerance. *Toxicol. Pathol.* 2016; 44 (8): 1095–1104. DOI: 10.1177/0192623316666197
 32. Матвеева Е.Ю., Власенко А.В., Яковлев В.Н., Алексеев В.Г. Инфекционные осложнения катетеризации центральных вен. *Общая реаниматология.* 2011; VII (5): 67–74. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-5-67.
 33. Mendoza G., Regiel-Futyr A., Tamayo A., Monzon M., Irusta S., De Gregorio M.A., Kyzioł A., Arruebo M. Chitosan-based coatings in the prevention of intravascular catheter-associated infections. *J. Biomater. Appl.* 2017; 32 (6): 725–737. DOI: 10.1177/0885328217739199.

34. Viola G.M., Rosenblatt J., Raad I.I. Drug eluting antimicrobial vascular catheters: progress and promise. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017; 112: 35–47. DOI: 10.1016/j.addr.2016.07.011.
35. Yang J., Maarek J.-M. I., Holschneider D.P. In vivo quantitative assessment of catheter patency in rats. *Lab. Anim.* 2005; 39 (3): 259–268. DOI: 10.1258/0023677054307033.
36. Fonseca U.N.K., Nielsen S.G., Hau J., Hansen A.K. Permanent catheterization of the carotid artery induces kidney infection and inflammation in the rat. *Lab. Anim.* 2010; 44: 46–53. DOI: 10.1258/la.2009.008122.
37. Teilmann A.C., Rozell B., Kalliokoski O., Hau J., Abelson K.S.P. Carotid catheterization and automated blood sampling induce systemic IL-6 secretion and local tissue damage and inflammation in the heart, kidneys, liver and salivary glands in NMRI mice. *PLoS One.* 2016; 11 (11): e0166353. DOI: 10.1371/journal.pone.0166353.
38. López-Briz E., Garcia V.R., Cabello J.B., Bort-Martí S., Sanchez R.C., Burls A. Heparin versus 0.9% sodium chloride locking for prevention of occlusion in central venous catheters in adults. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2018; 7 (7): CD008462. DOI: 10.1002/14651858.CD008462.pub3.
39. Goossens G.A. Flushing and locking of venous catheters: available evidence and evidence deficit. *Nurs. Res. Pract.* 2015; 2015: 985686. DOI: 10.1155/2015/985686.
40. De Luca T., Szilágyi K.L., Hargreaves K.A., Collins K.S., Benson E.A. Improving the patency of jugular vein catheters in sprague – dawley rats by using an antiseptic nitrocellulose coating. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2018; 57 (5): 520–528. DOI: 10.30802/aalas-jaalas-18-000017.
41. Mermel L.A., Alang N. Adverse effects associated with ethanol catheter locksolutions: a systematic review. *J. Antimicrob. Chemother.* 2014; 69: 2611–2619. DOI: 10.1093/jac/dku182.
42. Rosenblatt J., Reitzel R.A., Vargas-Cruz N., Chafdari A.-M., Hachem R., Raad I.I. Comparative efficacies of antimicrobial catheter lock solutions for fungal biofilm eradication in an vitro model of catheter-related fungemia. *J. Fungi (Basel).* 2017; 3 (1): 7. DOI: 10.3390/jof3010007.
43. Chandra J., Long L., Isham N., Mukherjee P.K., DiSciullo G., Appelt K., Ghanoum M.A. In vitro and in vivo activity of a novel catheter lock solution against bacterial and fungal biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018; 62 (8): e00722–18. DOI: 10.1128/aac.00722-18.
44. Hernández M.J., Soriano A., Filella X., Calvo M., Coll E., Rebled J.M., Poch E., Graterol F., Compte M.T., Maduell F., Fontseré N. Impact of locking solutions on conditioning biofilm formation in tunnelled haemodialysis catheters and inflammatory response activation. *J. Vasc. Access.* 2020; 21: 1129729820942040. DOI: 10.1177/1129729820942040.
45. Tong C., Peng X., Hu H., Wang Z., Zhou H. The effect of different flushing methods in a short peripheral catheter. *Acta Cir. Bras.* 2019; 34 (8): e201900804. DOI: 10.1590/s0102-865020190080000004.
46. Mitchell M.D., Anderson B.J., Williams K., Umscheid C.A. Heparin flushing and other interventions to maintain patency of central venous catheters: a systematic review. *J. Adv. Nurs.* 2009; 65(10): 2007–2021. DOI: 10.1111/j.1365-2648.2009.05103.x.
47. Ueda Y., Odunayo A., Mann F.A. Comparison of heparinized saline and 0.9% sodium chloride for maintaining peripheral intravenous catheter patency in dogs. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio).* 2013; 23 (5): 517–522. DOI: 10.1111/vec.12093.
48. Dos Santos E.J.F., Nunes M.M.J.C., Cardoso D.F.B., Apóstolo J.L.A., Queirós P.J.P., Rodrigues M.A. Effectiveness of heparin versus 0.9% saline solution in maintaining the permeability of central venous catheters: a systematic review. *Rev. Esc. Enferm. USP.* 2015; 49 (6): 995–1003. DOI: 10.1590/s0080-623420150000600017.
49. Vose J., Odunayo A., Price J.M., Daves M., Schildt J.C., Tolbert M.K. Comparison of heparinized saline and 0.9% sodium chloride for maintaining central venous catheter patency in healthy dogs. *Peer J.* 2019; 7: e7072. DOI: 10.7717/peerj.7072.

Сведения об авторах

Лапин Константин Николаевич, науч. сотрудник, лаборатория экспериментальных исследований, НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского, ФНКЦ РР, г. Москва. ORCID 0000-0002-7760-3526.

Рыжков Иван Александрович, канд. мед. наук, зав. лабораторией экспериментальных исследований, НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского, ФНКЦ РР, г. Москва. ORCID 0000-0002-0631-5666.

Мальцева Валентина Александровна, науч. сотрудник, Научный центр «Сигнал», г. Москва. ORCID 0000-0001-6669-6205.

Удут Елена Владимировна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория патологической физиологии и регенеративной медицины, НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6104-4782.

(✉) **Лапин Константин Николаевич**, e-mail: k.n.lapin@gmail.com

Поступила в редакцию 24.12.2020

Подписана в печать 28.12.2020

Молекулярно-генетические аспекты радиорезистентности рака предстательной железы

Омельчук Е.П., Кутилин Д.С., Димитриади С.Н., Гусарева М.А., Тимошкина Н.Н.

Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

РЕЗЮМЕ

Радиорезистентность рака предстательной железы представляет собой сложную терапевтическую проблему. После проведения лучевой терапии 22–69% больных раком предстательной железы сталкиваются с биохимическим рецидивом. Почти половина таких пациентов прогрессирует до клинического рецидива в течение 15 лет, а у трети наблюдается прогрессия до кастрационно-резистентного рака. Настоящий обзор посвящен анализу данных литературы о механизмах развития радиорезистентности в онкотрансформированных клетках предстательной железы. Осуществлен поиск литературных источников, опубликованных в базах eLibrary, PubMed, Scopus по ключевым словам: рак предстательной железы, радиорезистентность, маркеры. Всего найдено 568 иностранных и 178 отечественных работ, опубликованных в период 1975–2020 гг., из которых отобрано 77 статей, раскрывающих молекулярную основу радиорезистентности и вышедших в печать в 2001–2020 гг.

Современные представления о происхождении устойчивых к радиации злокачественных клеток концентрируются на процессах, приводящих к усиленной репарации ДНК, активации антиапоптотических сигнальных путей, снижению уровня эндо- и экзогенных активных форм кислорода. Также немаловажную роль играют состояние микроокружения опухоли, аутофагия и эпителиально-мезенхимальный переход. Механизмы развития устойчивости к радиационному лечению на сегодняшний день объясняются наличием стволовых клеток опухоли, которые обуславливают генетическую гетерогенность и возможность ухода от воздействия терапии с помощью активации сигнальных путей канцерогенеза. Также опухоль может быть защищена от радиации гипоксической средой. Ввиду возникающей пластичности опухолевых стволовых клеток в ответ на лучевую терапию актуальным представляется поиск их маркеров с целью скрининга и идентификации радиорезистентного рака предстательной железы.

Ключевые слова: рак предстательной железы, радиорезистентность, опухолевые стволовые клетки, репарация ДНК, активные формы кислорода, эпителиально-мезенхимальный переход, микроокружение, аутофагия.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания «Поиск молекулярно-генетических предикторов радиорезистентного рака предстательной железы и разработка персонализированных терапевтических подходов».

Для цитирования: Омельчук Е.П., Кутилин Д.С., Димитриади С.Н., Гусарева М.А., Тимошкина Н.Н. Молекулярно-генетические аспекты радиорезистентности рака предстательной железы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 182–192. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-182-192>.

Molecular genetic aspects of prostate cancer radioresistance

Omelchuk E.P., Kutilin D.S., Dimitriadi S.N., Gusareva M.A., Timoshkina N.N.

National Medical Research Center for Oncology
63, 14 Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Radioresistance of prostate cancer is a complex therapeutic problem. Biochemical recurrence after radiation therapy occurs in 22–69% of patients with prostate cancer. Nearly half of these patients progress to a clinical relapse within 15 years, and a third progress to castration-resistant prostate cancer. This review analyzes literature data on radioresistance mechanisms in prostate cancer cells. We searched for literature published in eLibrary, PubMed, and Scopus databases by key words: prostate cancer, radioresistance, markers. In total, 568 foreign and 178 national articles published between 1975 and 2020 were found. Of these publications, 77 articles were selected (published in 2001–2020), which reveal the molecular basis of tumor radioresistance.

Modern understanding of the origin of radioresistant cancer cells focuses on processes leading to enhanced DNA repair, activation of anti-apoptotic signaling pathways, and a decrease in the level of endogenous and exogenous reactive oxygen species. The state of a tumor microenvironment, autophagy, and epithelial-mesenchymal transition also play an important role in radioresistance. Currently, the mechanisms of resistance to radiation therapy are explained by the existence of tumor stem cells, which provide genetic heterogeneity and activation of carcinogenesis signaling pathways. The tumor can also be protected from radiation by a hypoxic microenvironment. Since cancer stem cells can acquire plasticity in response to radiation therapy, search for markers of radioresistance for screening and identification of radioresistant prostate cancer is relevant.

Key words: prostate cancer, radioresistance, cancer stem cells, DNA repair, reactive oxygen species, epithelial-mesenchymal transition, microenvironment, autophagy.

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 carried out within the state assignment “Search for molecular genetic predictors of radioresistant prostate cancer and development of personalized treatment approaches”.

For citation: Omelchuk E.P., Kutilin D.S., Dimitriadi S.N., Gusareva M.A., Timoshkina N.N. Molecular genetic aspects of prostate cancer radioresistance. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 182–192. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-182-192>.

ВВЕДЕНИЕ

Рак предстательной железы (РПЖ) является вторым по распространенности онкологическим заболеванием, диагностируемым у мужчин во всем мире. В структуре смертности от злокачественных новообразований РПЖ удерживает пятую позицию [1, 2]. Согласно оценкам GLOBOCAN, в 2018 г. было зарегистрировано 1 276 106 новых случаев РПЖ, причем в развитых странах этот показатель выше, что отражает различия в диагностических возможностях. Заболеваемость РПЖ и показатели смертности тесно связаны с возрастом: наибольшая заболеваемость наблюдается у мужчин старше 65 лет [3].

На ранних стадиях рак предстательной железы может протекать бессимптомно [3]. У 58,5% пациентов диагностируют локализованный рак пред-

стательной железы, характеризующийся низким и промежуточным риском [4]. Пациенты, не имеющие отдаленных метастазов, успешно поддаются лечению, в частности лучевой терапии [5]. Лучевая терапия может использоваться как альтернатива хирургического лечения в качестве первичной монотерапии при РПЖ с низким и промежуточным риском, а также для лечения местнораспространенных форм РПЖ в рамках сочетанной терапии. Часто при диагностировании местнораспространенного РПЖ (pT3a или pT3b) после выполнения радикальной простатэктомии, больному необходимо в адъювантном режиме дополнительно проводить лучевую терапию. Лучевая терапия олигометастатического РПЖ возможна, но в настоящий момент проводится лишь в рамках клинических исследований и требует дальнейшего обсуждения [6, 7].

Одной из возможных причин продолженного роста после облучения может быть радиорезистентность субпопуляции клеток РПЖ [2]. При этом прогрессирование опухоли и распространение отдаленных метастазов делают невозможным применение классических схем терапии [5]. Рекомендации по терапии различаются в зависимости от времени развития биохимического рецидива. При его возникновении после радикальной простатэктомии возможны варианты проведения лучевой терапии. Если же рецидив детектируется после проведения лучевой терапии, используются альтернативные методы лечения [8].

В связи с вероятностью возникновения рецидива представляется необходимой расшифровка механизмов возникновения радиорезистентности РПЖ. Основные механизмы, лежащие в основе радиорезистентности, включают нарушение процессов репарации ДНК, активацию антиапоптотических сигнальных путей, снижение внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). Гипоксия микроокружения опухоли и аутофагия также рассматриваются как факторы развития устойчивости к лучевой терапии. На сегодняшний день считается, что все вышеперечисленные процессы происходят не во всех раковых клетках, а только в так называемых опухолевых стволовых клетках [9]. Предположительно, они способствуют рецидивированию и метастазированию не только благодаря причинам, изложенным выше, но и уникальной способности воспроизводить гетерогенность исходной опухоли [10]. Поиск маркеров опухолевых стволовых клеток предстательной железы для идентификации, прогнозирования и таргетного лечения является ключевым в улучшении терапевтических и клинических результатов.

ОПУХОЛЕВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

Опухолевые стволовые клетки (ОСК) обладают фундаментальными свойствами, отличающими их от других злокачественных клеток: способностью к инициации канцерогенеза, неограниченным самообновлением и возможностью дифференцировки во все клеточные популяции, присутствующие в первичной опухоли. Последние два признака лежат в основе роста и прогрессирования злокачественного новообразования [11]. Появляется все больше доказательств, подтверждающих динамическую природу стволовости опухоли. Переход клеточного фенотипа от эпителио- к мезенхиподобному отражает пластичность ОСК и обуславливает степень инвазии и метастазирования опухоли. Активация сигнальных путей Notch, Hedgehog, WNT/ β -Catenin, JAK/STAT и NF κ B

наблюдается при регуляции пластичности как нормальных, так и раковых стволовых клеток [12, 13].

Существуют две концепции происхождения ОСК. Первая постулирует их образование из постнатальных стволовых клеток. Другая гипотеза объясняет возникновение ОСК репрограммированием дифференцированных клеток опухоли [13]. При этом наиболее репрезентативным процессом перепрограммирования клеток выступает эпителиально-мезенхимальный переход [12]. ОСК характеризуются изменением активности многих сигнальных каскадов, однако особо подчеркивается значимость транскрипционных факторов OCT3/4, SOX2, KLF4 и cMYC, которые регулируют работу генов, ответственных за плюрипотентность [14].

Помимо генетического репрограммирования в формировании ОСК немаловажную роль играют механизмы эпигенетического перепрограммирования, аналогичного процессу в эмбриональных стволовых клетках [11]. В частности, при раке предстательной железы сверхэкспрессированы гены репрессивного комплекса Polycomb, которые обеспечивают плюрипотентность стволовых клеток посредством посттрансляционных модификаций гистонов [15]. Статус метилирования ДНК также является эпигенетическим признаком ОСК. ДНК-метилтрансферазы DNMT1 и DNMT3, необходимые для поддержания существующих паттернов метилирования и метилирования *de novo* на CpG-островках, представляют собой факторы перепрограммирования ОСК [16].

Доказано, что радиорезистентные субпопуляции клеток РПЖ имеют много общих свойств с опухолевыми стволовыми клетками предстательной железы, в частности наблюдается повышенная экспрессия CD133, CXCR4, ABCG2, OCT4, NANOG. Кроме того, облучение клеток предстательной железы стимулирует конститутивную активацию маркеров стволовых клеток, которые перепрограммируют их эпигенетически и опосредуют формирование радиорезистентности. В частности, повышенное метилирование гистона H3 у промотора *ALDH1A1* стимулирует его транскрипцию [17]. Ингибирование метилирования вызывает апоптоз и снижение устойчивости к облучению клеток РПЖ [18].

Наиболее известными маркерами ОСК рака предстательной железы являются: α v β 3-интегрин, E-кадгерин, N-кадгерин, виментин, транскрипционные факторы Nanog, OCT4 и SOX2, а также маркеры эпителиально-мезенхимального перехода, например CD44. В экспериментальных исследованиях для изоляции популяции ОСК предстательной железы используются CD44, CD133 и α 2 β 1 маркеры. В качестве потенциальных предикторов радиорези-

стентности РПЖ рассматривают мембранный белок Caveolin-1, участвующий в рецептор-независимом эндоцитозе [19], а также альдегиддегидрогеназу семейства 1 *ALDH1A1*, которая катализирует окисление ретиналя до ретиноевой кислоты – сигнальной молекулы клеточной дифференцировки и самоподдержания стволовых клеток [9].

На сегодняшний день радиорезистентность раковых клеток представляется сложным комплексом взаимодействующих механизмов. Наличие в общей опухолевой массе ОСК частично объясняет феномен устойчивости клеток к ионизирующему излучению. В ОСК происходят процессы, способствующие резистентности к лучевой терапии. Среди этих процессов усиленная репарация ДНК, активация супрессоров апоптоза, ЭМП, снижение уровня АФК, аутофагия и состояние микроокружения опухоли.

РЕПАРАЦИЯ ДНК

Неотъемлемой частью реакции клетки на повреждение ДНК вследствие облучения является активация контрольных точек клеточного цикла, которые временно вызывают его остановку для исправления дефектов нуклеотидной последовательности [20]. Адаптация к репликационному стрессу включает восстановление одно- и двуниевых разрывов ДНК, что приводит к повышенной активации репликации после радиационной терапии [21]. Для восстановления повреждений ДНК клетки используют два основных механизма: нехомологичное соединение концов (NHEJ) и гомологичную рекомбинацию (HR). HR индуцируется в S- и G2-фазе клеточного цикла, тогда как NHEJ может быть активирован в любой точке клеточного цикла с наибольшей эффективностью на стадии G2 митоза и преобладает в G0-, G1- и ранней S-фазе [22, 23]. Наибольшая радиорезистентность наблюдается в поздней S-фазе и объясняется повышенным уровнем репликации, способствующим процессу гомологичной рекомбинации [24].

Установлено, что дисрегуляция сигнальных каскадов EGFR, PI3K/Akt/mTOR, ATM-Chk2, WNT, Notch и Hedgehog ассоциирована с устойчивостью к радиационному облучению опухолевых стволовых клеток [25–27]. Радиорезистентные стволовые клетки предстательной железы характеризуются повышенным фосфорилированием Chk2 и АКТ. Данные модификации обуславливают остановку клеточной пролиферации через путь ATM-Chk2 и усиление репарации ДНК посредством активации сигнального каскада PI3K [17]. В модельном эксперименте S. Yadav и соавт. была показана гиперэкспрессия *SMC1A* на культурах клеток рака предстательной железы DU145 и PC3. Нокдаун *SMC1A* повышал эффективность луче-

вой терапии в этих клетках, что может быть ассоциировано с ATM-опосредованным восстановлением двуниевых разрывов ДНК [27]. Ионизирующее излучение, вызывающее указанный эффект, приводит к задержке S-фазы репарации ДНК [28]. В отличие от остальной опухолевой массы стволовые клетки характеризуются сниженной активацией сигнального пути p53 после проведения лучевой терапии. Как следствие, происходит нарушение нормальной работы клеточного цикла и апоптоза и, в конечном итоге, накопление мутаций. Со временем мутационная нагрузка увеличивает внутриопухолевую гетерогенность и приводит к прогрессированию заболевания [29].

Радиорезистентность, поддерживаемая высоким уровнем репарации ДНК, определяется также косвенными механизмами. Один из них – снижение выработки АФК, вызывающее повреждение ДНК и АФК-зависимый апоптоз [30]. Другие механизмы включают повышенную экспрессию APE1/Ref-1 и активацию NNMT пути, снижающего уровень внутриклеточных АФК [30, 31].

АКТИВАЦИЯ СУПРЕССОРОВ АПОПТОЗА

Лучевая терапия предполагает гибель опухолевых клеток вследствие активации апоптотических сигнальных путей в ответ на одно- и двухцепочечные разрывы ДНК. Нарушение процесса апоптоза может служить одной из причин радиорезистентности. Установлено, что активация сигнального пути Wnt/ β -catenin избыточна в опухолевых стволовых клетках предстательной железы. Это позволяет клеткам включать механизмы репарации при уклонении от апоптоза [32]. Модельный эксперимент на клеточной линии DU145 показал, что сверхэкспрессия гена *SOX2* увеличивала устойчивость к апоптозу, задерживая расщепление каспазы-3 и уменьшая поступление ионов Ca^{2+} . Последующий нокдаун *SOX2* увеличил чувствительность к апоптозу, что позволяет предположить ассоциацию избыточной экспрессии *SOX2* и радиорезистентности [33]. В свою очередь, устойчивость к апоптозу может быть обусловлена статусом дифференцировки стволовых клеток, внешними факторами микроокружения и гипоксическими состояниями [9].

ВЫРАБОТКА АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Облучение вызывает чрезмерную выработку АФК, которые образуются либо напрямую через радиолиз воды, либо косвенно через повреждение митохондрий или метаболические изменения [34]. Продуцируемые молекулы АФК повреждают не только ДНК, но и белки и липиды, что усложняет процесс восстановления клеток после повреждения радиацией.

Опухолевые клетки в отличие от незлокачественных имеют более высокие уровни АФК из-за повышенного уровня метаболизма и использования гликолиза для получения энергии. Несмотря на цитостатический эффект ионизирующего излучения, выработка АФК создает благоприятную среду для приобретения опухолевыми клетками свойств стволовости [18]. Учитывая низкую скорость пролиферации ОСК, они демонстрируют более низкие уровни эндогенных АФК и, следовательно, могут нейтрализовать их производство более эффективно [21]. Устойчивости к лучевой терапии может способствовать кислород-зависимая продукция свободных радикалов [35].

Радиорезистентные опухоли предстательной железы характеризуются более низкими базовыми уровнями внутриклеточных АФК, что свидетельствует о реализации еще одного механизма устойчивости к излучению через усиленное их поглощение. Это подтверждается исследованиями, где была продемонстрирована повышенная экспрессия акцепторов АФК в стволовых клетках РПЖ [36]. На клеточных линиях РПЖ DU145 и PC3 продемонстрировано повышение внутриклеточных уровней АФК и понижение уровня глутатиона при репрессии *SMC1A*, что приводит к радиосенсибилизации клеток в ответ на лучевую терапию [27]. Помимо этого установлено, что некоторые транскрипционные факторы могут влиять на уровень антиоксидантных белков. Например, NF- κ B необходим для противостояния окислительному стрессу, а NRF2 в комплексе с ARE способен к стимуляции радиорезистентности [37, 38].

Гипоксия микроокружения способствует развитию радиорезистентности клеток РПЖ через нарушение выработки АФК и активацию индуцируемого гипоксией фактора HIF. Субъединица HIF-2 α регулирует транскрипционную активность генов толерантности к гипоксии и поддержания недифференцированного фенотипа, что стимулирует селективный отбор радиорезистентной популяции опухолевых клеток [39]. Влияние гипоксической микросреды на раковые стволовые клетки в настоящее время представляет собой многообещающую область исследований.

ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД

Фенотип опухолевых стволовых клеток достаточно пластичен и сопряжен с эпителиально-мезенхимальным переходом, который может быть вызван воздействием радиации и гипоксическим состоянием микроокружения [40]. Для ЭМП характерно обретение клетками подвижности, подавление адгезии, потеря полярности и взаимодействие с внеклеточным матриксом. Ключевые признаки ЭМП, а именно

снижение E-кадгерина и повышение N-кадгерина, виментина, достоверно более выражены после лучевой терапии РПЖ [41]. Индукция ЭМП и приобретение клетками фенотипа стволовых связаны с активацией пути PI3K/AKT/mTOR. Исследования ОКС, выделенных из клеточной линии РПЖ человека, полученной после простатэктомии, показали также наличие экспрессии CD44 – маркера ЭМП [33].

Механизм приобретения радиорезистентности посредством ЭМП реализуется в основном за счет активации сигнальных путей TGF β , Wnt/ β -катенин, Hedgehog, Notch, Nanog и STAT3 [42]. ЭМП, опосредованный ионизирующим излучением и передачей сигнала по пути TGF β , играет критическую роль в усилении миграционных и инвазивных способностей раковых клеток [43]. ЭМП частично способствует поддержанию фенотипа раковых стволовых клеток [44]. В частности, активация основных транскрипционных факторов сигнальных каскадов ЭМП, таких как Snail, HIF, ZEB1/2 и Twist1, опосредует стволовые характеристики опухоли [45]. Snail играет решающую роль не только в миграции и инвазии, но и в ЭМП, индуцированном излучением [46]. На модели клеток РПЖ человека выявлена конститутивная активация Snail, которая опосредовала приобретение опухолью мезенхимальных свойств [47]. Фактор транскрипции ZEB1 репрессирует miR-183, miR200c и miR203, которые, как известно, демонстрируют противоопухолевую активность [48]. Наконец, Twist1 положительно регулирует протоонкоген *BM1*, провоцируя тем самым ЭМП и формируя нишу микроокружения опухоли [49].

Таким образом, ЭМП является динамическим процессом со многими переходными состояниями. А наличие стволовых клеток является благоприятным условием для поддержания жизнедеятельности опухоли и уклонения от лучевой терапии за счет балансировки между эпителиальной и мезенхимальной стадиями.

АУТОФАГИЯ

Аутофагия – это естественный процесс, позволяющий клеткам пережить стресс за счет переработки поврежденных клеточных компонентов. Длительная индукция аутофагии может привести к гибели клеток из-за чрезмерной деградации ключевых внутриклеточных компонентов [50]. Таким образом, аутофагия выполняет двойную парадоксальную функцию – подавляет рост опухоли на ранних стадиях путем удаления поврежденных белков, но способствует росту и выживанию опухоли на более поздних стадиях в условиях дефицита питательных веществ и гипоксии [51].

Роль аутофагии в выживании и гибели опухолевых клеток, по-видимому, различается в зависимости

сти от нозологии и не до конца ясна в случае рака предстательной железы [52]. Полученные данные об эффекте подавления аутофагии в ОСК предстательной железы весьма противоречивы. S. Paglin и соавт. обнаружили, что ингибирование аутофагии приводит к радиосенсибилизации клеток линии LNCaP [53]. Напротив, в работе Yao и соавт. на клеточных линиях PC3, LNCaP и ксенографтных мышцах показано улучшение жизнеспособности клеток РПЖ при ингибировании аутофагии [54]. Неустановленная роль аутофагии делает актуальным более детальное изучение ее вклада в развитие радиорезистентности РПЖ.

МИКРООКРУЖЕНИЕ ОПУХОЛИ

В дополнение к внутренним механизмам радиорезистентности судьба опухолевых клеток после лучевой терапии зависит от множества сигналов, исходящих от микроокружения опухоли. Последнее состоит из компонентов, включающих помимо внеклеточного матрикса фибробласты, воспалительные, иммунные, сосудистые и эндотелиальные клетки. Все эти составляющие взаимодействуют через цитокины, хемокины и факторы роста, создавая гипоксическую, воспалительную и иммунодепрессивную микроокружающую среду. Ионизирующее излучение может действовать как модификатор механизмов, которые вызывают высвобождение факторов роста, активацию опухоль-ассоциированных фибробластов, индукцию воспаления и гипоксии [11]. Данные условия являются благоприятными для роста, прогрессирования и метастазирования опухоли [55].

Гипоксия вызывает значительные изменения в метаболизме опухоли из-за дефицита питательных веществ, низкой концентрации кислорода и нарушения регуляции белков-переносчиков и метаболических ферментов [56]. Устойчивая гипоксия может запускать механизмы, среди которых активация сигнального пути HIF-1 α , аутофагия и ЭМП. Их важность при развитии радиорезистентности объясняется возможностью поддержания жизнедеятельности ОСК [57].

ОСК располагаются в определенных областях микроокружения, называемых нишами, которые обеспечивают аутокринную передачу сигналов, а также сигналов, поступающих от опухоль-ассоциированных фибробластов, иммунных, эндотелиальных клеток и компонентов внеклеточного матрикса [58]. Несмотря на отсутствие точных данных о составе ниш и их сигнальном взаимодействии с опухолью, известно, что микроокружение снабжает ОСК кислородом и питательными веществами, поддерживает их функции, защищая от таких воздействий, как радиация [59].

Наиболее изученными типами ниш ОСК являются периваскулярная и гипоксическая. Периваскулярная

ниша расположена в непосредственной близости от кровеносных сосудов, снабжая клетки питательными веществами, факторами роста и цитокинами. Эта среда может индуцировать секрецию факторов стволовых клеток, таких как OCT4 и NANOG, чтобы инициировать преобразование клеток опухоли в стволовые [60].

Другим механизмом, с помощью которого ниша защищает опухолевые стволовые клетки, является гипоксия. Кислород является мощным радиосенсибилизатором и необходим для радиационно-индуцированной продукции АФК и, как следствие, для гибели клеток. Известно, что недостаток кислорода увеличивает радиационную устойчивость клеток и связан с ранним рецидивом после лучевой терапии [61]. В дополнение в гипоксических нишах повышена активность нейтрализации АФК [11]. Лучевая терапия индуцирует продукцию PDGF, IL-1 β , IL-6, TNF α , TGF β , CXCL12 и MMPs в микроокружении опухоли, что приводит к активации акцепторов АФК и сигнального каскада STAT3, способствуя самообновлению и выживанию опухолевых клеток [62, 63].

Помимо вышеперечисленных механизмов предполагается возможность перехода ОСК в состояние покоя, что дает основу для возникновения новых микрометастазов или инициации рецидивирования опухоли [30].

МАРКЕРЫ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ РПЖ

Определение прогностических детерминант ответа на лучевую терапию является важной задачей исследований в области радиорезистентности РПЖ. Установлено, что сигнальные пути PI3K/Akt, MAPK/ERK, VEGF и метаболизма глюкозы являются ключевыми для радиорезистентного рака предстательной железы [64, 65].

Возможность метастазирования радиорезистентных клеток РПЖ объясняется также увеличением экспрессии белка теплового шока 90 (HSP90) [36]. Устойчивость к лучевой терапии РПЖ может возникать вследствие ядерной транслокации β -катенина, индуцированной сверхэкспрессией HIF-1 [57]. На неэффективность лучевой терапии может с высокой долей вероятности указывать экспрессия PCSC1- и PCSC2-RAN. Хемокиновые рецепторы CXCR4 и CXCR12 также признаны биомаркерами радиорезистентных клеток РПЖ [64]. В недавнем исследовании выявлена ассоциация дифференциальной экспрессии 14 генов и радиорезистентности клеточных линий РПЖ [66]. Также доказано, что на облучение клетки РПЖ реагируют увеличением экспрессии *BRC1*, *FANCG* и *RAD51* [67]. В качестве потенциального биомаркера выступает молекула адгезии эпителиальных клеток EPCAM, избыточная экспрессия ко-

торой связана с радиорезистентностью как *in vitro*, так и *in vivo* [68]. S.G. Zhao и соавт. была разработана диагностическая панель экспрессии генов PORTOS, предсказывающая результаты послеоперационной лучевой терапии. Результаты данного исследования могут прогнозировать вероятность возникновения отдаленных метастазов [69]. Потенциальным биомаркером радиорезистентности рака предстательной железы рассматривается *RAD9*. Доказан его вклад в регуляцию клеточного цикла, репарации, апоптоза, а также в процессы миграции и инвазии. Также неоспорима роль данной молекулы в качестве фактора транскрипции андрогенных рецепторов [70]. Повышенная экспрессия маркеров нейроэндокринной дифференцировки CD133 и CD138 предположительно ассоциирована с увеличенной экспрессией генов плюрипотентности и в конечном итоге с последующим развитием радиорезистентности [71].

Помимо генетических маркеров крайне перспективным представляется детекция специфических циркулирующих микро-РНК. Наличие некоторых микро-РНК у больных РПЖ является более информативным показателем, чем измерение уровня простат-специфического антигена (ПСА) [72]. Согласно литературным данным, более 50 известных микро-РНК вовлечены в патогенез рака предстательной железы. Паттерн экспрессии микро-РНК специфичен в линиях радиорезистентных клеток РПЖ [73]. Повышенная клоногенная выживаемость после облучения связана со значительными изменениями в профилях экспрессии miR-221, miR-4284, miR-31 и miR-200c [74]. Ингибирование miR-521 на клеточной линии РПЖ провоцирует появление радиорезистентного фенотипа. Сверхэкспрессия miR-548c-3p в дифференцированных клетках индуцирует стволоподобные свойства и радиорезистентность [75]. В радиационно-резистентных клетках РПЖ экспрессия miR-106a повышена, что придает устойчивость к лучевой терапии за счет прямого действия на LITAF и усиления пролиферации [76]. В эксперименте на культуре клеток РПЖ показана ассоциация повышенной экспрессии miR-301a и miR-301b и гипоксии, а также аутофагии, что провоцирует развитие усиленной радиорезистентности [77]. Аберрантная экспрессия miR-521, miR-95, miR-106b, miR-32 и miR-205 наблюдается при формировании радиорезистентности [78]. В клетках РПЖ miR-32 подавляет работу белка DAB2IP, вызывая аутофагию и ингибируя апоптоз, индуцированный лучевой терапией [79]. Радиорезистентность опухоли также усиливается благодаря miR-620 и miRNA-95, мишенями которых являются HPGD и SGPP1 соответственно [80, 81].

По данным наших исследований, показатель ко-

пийности генов, регулирующих пролиферацию и апоптоз, можно рассматривать как фактор устойчивости опухолевых клеток предстательной железы к лучевой терапии. Так, в модельном эксперименте на клеточной линии PC-3 установлено, что сохранившие жизнеспособность после пятидневной лучевой терапии клетки этой линии характеризовались повышенной копийностью генов *CDK1*, *CDKN1B*, *H2AX*, *PTEN*, *XRCC4*, *RBBP8* и *EP300* и сниженной копийностью генов *CCND3*, *BAX*, *TP53* и *BCL2* [82, 83]. Основные маркеры радиорезистентности РПЖ представлены в таблице.

Таблица

Маркеры радиорезистентности рака предстательной железы		
Маркер	Метод определения	Ссылка
$\alpha 2\beta$ -, $\alpha v\beta 3$ интегрины, E-, N-кадгерины, виментин	ИГХ	[9]
CD44, CD133	ИГХ	[9]
Nanog, OCT4, SOX2	ПЦР-РВ	[9]
ALDH1A1	Микрочип	[17]
Caveolin-1	Вестерн-блоттинг	[19]
HSP90	ИФА	[35]
HIF-1 α	ПЦР-РВ	[56]
PCSC1-RAN, PCSC2-RAN CXCR4/CXCL12	ИГХ	[64]
ADAMTS9, AKR1B10, FOXL1, FST, ITGA2, GRPR, SOX17, STARD4, VGF, FHL5, LYPLAL1, PAK7, TDRD6, CXXC5	Микрочип	[65]
BRCA1, FANCG, RAD51	ПЦР-РВ	[67]
EpCAM	ПЦР-РВ	[68]
DRAM1, KRT14, PTPN22, ZMAT3, BIN2, ARHGAP15, IL1B, ANLN, RPS27A, MUM1, TOP2A, GNG11, CDKN3, HCLS1, DTL, IL7R, UBA7, NEK1, CDKN2AIP, APEX2, KIF23, SULF2, PLK2, EME1	Микрочип	[69]
RAD9	ИГХ	[70]
CD133, CD138	ПЦР-РВ	[71]
miR-221, miR-4284, MiR-31, miR-200c	Микрочип	[74]
miR-521, miR-548c-3p	Микрочип	[75]
miR-106a	ПЦР-РВ	[76]
miR-301a, miR-301b	ПЦР-РВ	[77]
miR-521, miR-95, miR-106b, miR-32, miR-205	ПЦР-РВ, микрочип	[78]
miR-32	ПЦР-РВ	[79]
miRNA-95	ПЦР-РВ	[80]
miR-620	ПЦР-РВ	[81]
CDK1, CDKN1B, H2AX, PTEN, XRCC4, RBBP8, EP300, CCND3, BAX, TP53, BCL2	ПЦР-РВ	[82]

Примечание. ИГХ – иммуногистохимия; ИФА – иммуноферментный анализ; ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Модель опухолевых стволовых клеток определила направление исследований для объяснения механизмов развития радиорезистентности рака предстательной железы. Высокая степень гетерогенности опухоли и сложные условия возникновения устойчивости опухоли к ионизирующему излучению предполагают детекцию специфических маркеров. Их многообразие определяется основными процессами, происходящими при развитии радиорезистентности, среди которых усиление репарации ДНК, активация антиапоптотических сигнальных путей, выработка активных форм кислорода, гипоксия микроокружения опухоли, эпителиально-мезенхимальный переход и аутофагия. Оценка транскрипционного профиля опухоли может послужить основой для прогнозирования результатов лучевой терапии. Сочетание молекулярно-генетического подхода со стандартными биохимическими и инструментальными методами диагностики позволит идентифицировать пациентов с радиорезистентными опухолями предстательной железы и подобрать персонализированную терапевтическую стратегию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зинькович М.С., Максимов А.Ю., Розенко Л.Я., Гусарева М.А., Карнаухова Е.А., Фаенсон А.В., Тимошкина Н.Н., Кутилин Д.С. Радиорезистентность как фактор эволюции лучевой терапии рака предстательной железы. *Современные проблемы науки и образования*. 2019; 2: 107. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28627> (дата обращения: 01.06.2020).
2. Кутилин Д.С., Сагакянц А.Б., Зинькович М.С., Максимов А.Ю., Гусарева М.А., Бондаренко Е.С., Потемкин Д.С., Васильченко Н.Г. Влияние различных доз лучевой терапии на выживаемость опухолевых клеток предстательной железы линии PC-3. *Современные проблемы науки и образования*. 2019; 2: 157. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28740> (дата обращения: 01.06.2020).
3. Rawla P. Epidemiology of prostate cancer. *World Journal of Oncology*. 2019; 10 (2): 63–89. DOI: 10.14740/wjon1191.
4. 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.
5. Teo M.Y., Rathkopf D.E., Kantoff P. Treatment of advanced prostate cancer. *Annual Review of Medicine*. 2019; 70: 479–499. DOI: 10.1146/annurev-med-051517-011947.
6. Kamran S.C., D'Amico A.V. Radiation therapy for prostate cancer. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2020; 34 (1): 45–69. DOI: 10.1016/j.hoc.2019.08.017.
7. Evans A.J. Treatment effects in prostate cancer. *Modern Pathology*. 2018; 31 (S1): S110–121. DOI: 10.1038/modpathol.2017.158.
8. Artibani W., Porcaro A.B., De Marco V., Cerruto M.A., Siracusano S. Management of biochemical recurrence after primary curative treatment for prostate cancer: a review. *Urologia Internationalis*. 2018; 100 (3): 251–262. DOI: 10.1159/000481438.
9. Tsing T., Beretov J., Ni J., Bai X., Buccì J., Graham P., Li Y. Cancer stem cells in prostate cancer radioresistance. *Cancer Letters*. 2019; 465: 94–104. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.08.020.
10. Kreso A., Dick J.E. Evolution of the cancer stem cell model. *Cell Stem Cell*. 2014; 14 (3): 275–291. DOI: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
11. Schulz A., Meyer F., Dubrovskaya A., Borgmann K. Cancer stem cells and radioresistance: DNA repair and beyond. *Cancers*. 2019; 11 (6): 862. DOI: 10.3390/cancers11060862.
12. Batlle E., Clevers H. Cancer stem cells revisited. *Nature Medicine*. 2017; 23 (10): 1124–1134. DOI: 10.1038/nm.4409.
13. Plaks V., Kong N., Werb Z. The cancer stem cell niche: how essential is the niche in regulating stemness of tumor cells? *Cell Stem Cell*. 2015; 16 (3): 225–238. DOI: 10.1016/j.stem.2015.02.015.
14. Eun K., Ham S.W., Kim H. Cancer stem cell heterogeneity: origin and new perspectives on CSC targeting. *BMB Reports*. 2017; 50 (3): 117–125. DOI: 10.5483/bmbrep.2017.50.3.222.
15. Crea F., Hurt E.M., Mathews L.A., Cabarcas S.M., Sun L., Marquez V.E., Danesi R., Farrar W.L. Pharmacologic disruption of Polycomb Repressive Complex 2 inhibits tumorigenicity and tumor progression in prostate cancer. *Molecular Cancer*. 2011; 10: 40. DOI: 10.1186/1476-4598-10-40.
16. Tzelepi V., Logotheti S., Efstathiou E., Troncoso P., Aparicio A., Sakellakis M., Hoang A., Perimenis P., Melachrinou M., Logothetis C., Zolota V. Epigenetics and prostate cancer: defining the timing of DNA methyltransferase deregulation during prostate cancer progression. *Pathology*. 2020; 52 (2): 218–227. DOI: 10.1016/j.pathol.2019.10.006.
17. Cojoc M., Peitzsch C., Kurth I., Trautmann F., Kunz-Schughart L.A., Telegeev G.D., Stakhovsky E.A., Walker J.R., Simin K., Lyle S., Fuessel S., Erdmann K., Wirth M.P., Krause M., Baumann M., Dubrovskaya A. Aldehyde dehydrogenase is regulated by β -catenin/TCF and promotes radioresistance in prostate cancer progenitor cells. *Cancer Research*. 2015; 75 (7): 1482–1494. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1924.
18. Peitzsch C., Cojoc M., Hein L., Kurth I., Mäbert K., Trautmann F., Klink B., Schröck E., Wirth M.P., Krause M., Stakhovsky E.A., Telegeev G.D., Novotny V., Toma M., Muders M., Baretton G.B., Frame F.M., Maitland N.J., Baumann M., Dubrovskaya A. An epigenetic reprogramming strategy to resensitize radioresistant prostate cancer cells. *Cancer Research*. 2016; 76 (9): 2637–2651. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2116.
19. Mahmood J., Zaveri S.R., Murti S.C., Alexander A.A., Connors C.Q., Shukla H.D., Vujaskovic Z. Caveolin-1: a novel prognostic biomarker of radioresistance in cancer. *International Journal of Radiation Biology*. 2016; 92 (12): 747–753. DOI: 10.1080/09553002.2016.1222096.
20. Hur W., Yoon S.K. Molecular pathogenesis of radiation-induced cell toxicity in stem cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 18 (12): 2749. DOI: 10.3390/ijms18122749.
21. Diehn M., Cho R.W., Lobo N.A., Kalisky T., Dorie M.J., Kulp A.N., Qian D., Lam J.S., Ailles L.E., Wong M., Joshua B., Kaplan M.J., Wapnir I., Dirbas F.M., Somlo G., Garberoglio C., Paz B., Shen J., Lau S.K., Quake S.R., Brown J.M.,

- Weissman I.L., Clarke M.F. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *Nature*. 2009; 458 (7239): 780–783. DOI: 10.1038/nature07733.
22. Mladenov E., Magin S., Soni A., Iliakis G. DNA double-strand-break repair in higher eukaryotes and its role in genomic instability and cancer: Cell cycle and proliferation-dependent regulation. In *Seminars in Cancer Biology*. 2016; 37–38: 51–64. DOI: 10.1016/j.semcancer.2016.03.003.
23. Hufnagl A., Herr L., Friedrich T., Durante M., Taucher-Scholz G., Scholz M. The link between cell-cycle dependent radiosensitivity and repair pathways: a model based on the local, sister-chromatid conformation dependent switch between NHEJ and HR. *DNA Repair*. 2015; 27: 28–39. DOI: 10.1016/j.dnarep.2015.01.002.
24. Karanam K., Kafri R., Loewer A., Lahav G. Quantitative live cell imaging reveals a gradual shift between DNA repair mechanisms and a maximal use of HR in mid S phase. *Molecular Cell*. 2012; 47 (2): 320–329. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.05.052.
25. Krause M., Dubrovskaya A., Linge A., Baumann M. Cancer stem cells: Radioresistance, prediction of radiotherapy outcome and specific targets for combined treatments. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2017; 109: 63–73. DOI: 10.1016/j.addr.2016.02.002.
26. Chang L., Graham P., Hao J., Ni J., Deng J., Bucci J., Malouf D., Gillatt D., Li Y. Cancer stem cells and signaling pathways in radioresistance. *Oncotarget*. 2016; 7 (10): 11002–11017. DOI: 10.18632/oncotarget.6760.
27. Yadav S., Kowolik C.M., Lin M., Zuro D., Hui S.K., Riggs A.D., Horne D.A. SMC1A is associated with radioresistance in prostate cancer and acts by regulating epithelial-mesenchymal transition and cancer stem-like properties. *Molecular Carcinogenesis*. 2019; 58 (1): 113–125. DOI: 10.1002/mc.22913.
28. Peitzsch C., Tyutyunnykova A., Pantel K., Dubrovskaya A. Cancer stem cells: the root of tumor recurrence and metastases. In *Seminars in Cancer Biology*. 2017; 44: 10–24. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.02.011.
29. Peitzsch C., Kurth I., Kunz-Schughart L., Baumann M., Dubrovskaya A. Discovery of the cancer stem cell related determinants of radioresistance. *Radiotherapy and Oncology*. 2013; 108 (3): 378–387. DOI: 10.1016/j.radonc.2013.06.003.
30. Vitale I., Manic G., Maria R.D., Kroemer G., Galluzzi L. DNA damage in stem cells. *Molecular Cell*. 2017; 66 (3): 306–319. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.04.006.
31. D'Andrea F.P., Safwat A., Kassem M., Gautier L., Overgaard J., Horsman M.R. Cancer stem cell overexpression of nicotinamide N-methyltransferase enhances cellular radiation resistance. *Radiotherapy and Oncology*. 2011; 99 (3): 373–378. DOI: 10.1016/j.radonc.2011.05.086.
32. Murillo-Garzon V., Kypta R. WNT signalling in prostate cancer. *Nature Reviews Urology*. 2017; 14 (11): 683–696. DOI: 10.1038/nrurol.2017.144.
33. Jia X., Li X., Xu Y., Zhang S., Mou W., Liu Y., Liu Y., Lv D., Liu C.H., Tan X., Xiang R., Li N. SOX2 promotes tumorigenesis and increases the anti-apoptotic property of human prostate cancer cell. *Journal of Molecular Cell Biology*. 2011; 3 (4): 230–238. DOI: 10.1093/jmcb/mjr002.
34. Prasad S., Gupta S.C., Tyagi A.K. Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer Letters*. 2017; 387: 95–105. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.03.042.
35. Wang H., Jiang H., Van De Gucht M., De Ridder M. Hypoxic radioresistance: can ROS be the key to overcome it? *Cancers*. 2019; 11 (1): 112. DOI: 10.3390/cancers11010112.
36. Chaiswing L., Weiss H.L., Jayswal R.D., Clair D.K.S., Kyriakou N. Profiles of radioresistance mechanisms in prostate cancer. *Critical Reviews in Oncogenesis*. 2018; 23 (1–2): 39–67. DOI: 10.1615/CritRevOncog.2018025946.
37. Ding S., Li C., Cheng N., Cui X., Xu X., Zhou G. Redox regulation in cancer stem cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015; 2015: 750798. DOI: 10.1155/2015/750798.
38. Ryoo I.G., Lee S.H., Kwak M.K. Redox modulating NRF2: a potential mediator of cancer stem cell resistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016; 2016: 2428153. DOI: 10.1155/2016/2428153.
39. Albadari N., Deng S., Li W. The transcriptional factors HIF-1 and HIF-2 and their novel inhibitors in cancer therapy. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2019; 14 (7): 667–682. DOI: 10.1080/17460441.2019.1613370.
40. Lee S.Y., Jeong E.K., Ju M.K., Jeon H.M., Kim M.Y., Kim C.H., Park H.G., Han S.I., Kang H.S. Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation. *Molecular Cancer*. 2017; 16 (1): 10. DOI: 10.1186/s12943-016-0577-4.
41. Stark T.W., Hensley P.J., Spear A., Pu H., Strup S.S., Kyriakou N. Predictive value of epithelial-mesenchymal-transition (EMT) signature and PARP-1 in prostate cancer radioresistance. *The Prostate*. 2017; 77 (16): 1583–1591. DOI: 10.1002/pros.23435.
42. Cai Z., Cao Y., Luo Y., Hu H., Ling H. Signalling mechanism(s) of epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells in tumour therapeutic resistance. *Clinica Chimica Acta*. 2018; 483: 156–163. DOI: 10.1016/j.cca.2018.04.033.
43. Zhou Y.C., Liu J.Y., Li J., Zhang J., Xu Y.Q., Zhang H.W., Qiu L.B., Ding G.R., Su X.M., Mei-Shi, Guo G.Z. Ionizing radiation promotes migration and invasion of cancer cells through transforming growth factor-beta-mediated epithelial-mesenchymal transition. *International Journal of Radiation, Oncology, Biology, Physics*. 2011; 81 (5): 1530–1537. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2011.06.1956.
44. Wang S.S., Jiang J., Liang X.H., Tang Y.L. Links between cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition. *Oncotargets and Therapy*. 2015; 8: 2973–2980. DOI: 10.2147/OTT.S91863.
45. Xu R., Won J.Y., Kim C.H., Kim D.E., Yim H. Roles of the phosphorylation of transcriptional factors in epithelial-mesenchymal transition. *Journal of Oncology*. 2019; 2019: 5810465. DOI: 10.1155/2019/5810465.
46. Mahabir R., Tanino M., Elmansuri A., Wang L., Kimura T., Itoh T., Ohba Y., Nishihara H., Shirato H., Tsuda M., Tanaka S. Sustained elevation of Snail promotes glial-mesenchymal transition after irradiation in malignant glioma. *Neuro-Oncology*. 2014; 16 (5): 671–685. DOI: 10.1093/neuonc/not239.
47. Celià-Terrassa T., Meca-Cortés Ó., Mateo F., De Paz A.M., Rubio N., Arnal-Estapé A., Ell B.J., Bermudo R., Díaz A.,

- Guerra-Rebollo M., Lozano J.J., Estarás C., Ulloa C., Álvarez-Simón D., Milà J., Vilella R., Paciucci R., Martínez-Balbás M., García de Herreros A., Gomis R.R., Kang Y., Blanco J., Fernández P.L., Thomson T.M. Epithelial-mesenchymal transition can suppress major attributes of human epithelial tumor-initiating cells. *The Journal of Clinical Investigation*. 2012; 122 (5): 1849–1868. DOI: 10.1172/JCI59218.
48. Wellner U., Schubert J., Burk U.C., Schmalhofer O., Zhu F., Sonntag A., Waldvogel B., Vannier C., Darling D., Hausen A., Brunton V.G., Morton J., Sansom O., Schüler J., Stemmler M.P., Herzberger C., Hopt U., Keck T., Brabletz S., Brabletz T. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs. *Nature Cell Biology*. 2009; 11 (12): 1487–1495. DOI: 10.1038/ncb1998.
 49. Yang M.H., Hsu D.S.S., Wang H.W., Wang H.J., Lan H.Y., Yang W.H., Huang C.H., Kao S.Y., Tzeng C.H., Tai S.K., Chang S.Y., Lee O.K.S., Wu K.J. Bmi1 is essential in Twist1-induced epithelial-mesenchymal transition. *Nature Cell Biology*. 2010; 12 (10): 982–992. DOI: 10.1038/ncb2099.
 50. Kumar D., Shankar S., Srivastava R.K. Rottlerin induces autophagy and apoptosis in prostate cancer stem cells via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Cancer Letters*. 2014; 343 (2): 179–189. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.10.003.
 51. Cristofani R., Marelli M.M., Cicardi M.E., Fontana F., Marzagalli M., Limonta P., Poletti A., Moretti R.M. Dual role of autophagy on docetaxel-sensitivity in prostate cancer cells. *Cell Death & Disease*. 2018; 9 (9): 889. DOI: 10.1038/s41419-018-0866-5.
 52. Lei Y., Zhang D., Yu J., Dong H., Zhang J., Yang S. Targeting autophagy in cancer stem cells as an anticancer therapy. *Cancer Letters*. 2017; 393: 33–39. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.02.012.
 53. Paglin S., Hollister T., Delohery T., Hackett N., McMahon M., Sphicas E., Domingo D., Yahalom J. A novel response of cancer cells to radiation involves autophagy and formation of acidic vesicles. *Cancer Research*. 2001; 61 (2): 439–444.
 54. Yao B., Liu B., Shi L., Li X., Ren C., Cai M., Wang W., Li J., Sun Y., Wu Y., Wen J. PAFR selectively mediates radioresistance and irradiation-induced autophagy suppression in prostate cancer cells. *Oncotarget*. 2017; 8 (8): 13846–13854. DOI: 10.18632/oncotarget.14647.
 55. Zhang D., Tang D.G., Rycak K. Cancer stem cells: Regulation programs, immunological properties and immunotherapy. *Seminars in Cancer Biology*. 2018; 52 (Pt 2): 94–106. DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.05.001.
 56. Peitzsch C., Perrin R., Hill R.P., Dubrovskaya A., Kurth I. Hypoxia as a biomarker for radioresistant cancer stem cells. *International Journal of Radiation Biology*. 2014; 90 (8): 636–652. DOI: 10.3109/09553002.2014.916841.
 57. Luo Y., Li M., Zuo X., Basourakos S.P., Zhang J., Zhao J., Han Y., Lin Y., Wang Y., Jiang Y., Lan L. β -catenin nuclear translocation induced by HIF-1 α overexpression leads to the radioresistance of prostate cancer. *International Journal of Oncology*. 2018; 52 (6): 1827–1840. DOI: 10.3892/ijo.2018.4368.
 58. Lyssiotis C.A., Kimmelman A.C. Metabolic interactions in the tumor microenvironment. *Trends in Cell Biology*. 2017; 27 (11): 863–875. DOI: 10.1016/j.tcb.2017.06.003.
 59. Arnold C.R., Mangesius J., Skvortsova I.I., Ganswindt U. The role of cancer stem cells in radiation resistance. *Frontiers in Oncology*. 2020; 10: 164. DOI: 10.3389/fonc.2020.00164.
 60. Kanwal R., Shukla S., Walker E., Gupta S. Acquisition of tumorigenic potential and therapeutic resistance in CD133+ subpopulation of prostate cancer cells exhibiting stem-cell like characteristics. *Cancer Letters*. 2018; 430: 25–33. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.05.014.
 61. Epel B., Maggio M.C., Barth E.D., Miller R.C., Pelizzari C.A., Krzykawska-Serda M., Sundramoorthy S.V., Aydoğan B., Weichselbaum R.R., Tormyshev V.M., Halpern H.J. Oxygen-guided radiation therapy. *International Journal of Radiation, Oncology, Biology, Physics*. 2019; 103 (4): 977–984. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2018.10.041.
 62. Jarosz-Biej M., Smolarczyk R., Cichoń T., Kułach N. Tumor microenvironment as a “game changer” in cancer radiotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (13): 3212. DOI: 10.3390/ijms2013212.
 63. Matsui W.H. Cancer stem cell signaling pathways. *Medicine*. 2016; 95 (1-1): S8–S19. DOI: 10.1097/MD.0000000000004765.
 64. Alberti C. Prostate cancer: radioresistance molecular target-related markers and foreseeable modalities of radiosensitization. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2014; 18 (16): 2275–2282.
 65. Chang L., Ni J., Beretov J., Wasinger V.C., Hao J., Bucci J., Malouf D., Gillatt D., Graham P.H., Li Y. Identification of protein biomarkers and signaling pathways associated with prostate cancer radioresistance using label-free LC-MS/MS proteomic approach. *Scientific Reports*. 2017; 7: 41834. DOI: 10.1038/srep41834.
 66. Seifert M., Peitzsch C., Gorodetska I., Börner C., Klink B., Dubrovskaya A. Network-based analysis of prostate cancer cell lines reveals novel marker gene candidates associated with radioresistance and patient relapse. *PLoS Computational Biology*. 2019; 15 (11): e1007460. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1007460.
 67. Young A., Berry R., Holloway A.F., Blackburn N.B., Dickinson J.L., Skala M., Phillips J.L., Brettingham-Moore K.H. RNA-seq profiling of a radiation resistant and radiation sensitive prostate cancer cell line highlights opposing regulation of DNA repair and targets for radiosensitization. *BMC Cancer*. 2014; 14: 808. DOI: 10.1186/1471-2407-14-808.
 68. Ni J., Cozzi P., Beretov J., Duan W., Bucci J., Graham P., Li Y. Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) is involved in prostate cancer chemotherapy/radiotherapy response *in vivo*. *BMC Cancer*. 2018; 18 (1): 1092. DOI: 10.1186/s12885-018-5010-5.
 69. Zhao S.G., Chang S.L., Spratt D.E., Erho N., Yu M., Ashab H.A.D., Alshalalfa M., Speers C., Tomlins S.A., Davicioni E., Dicker A.P., Carroll P.R., Cooperberg M.R., Freedland S.J., Karnes R.J., Ross A.E., Schaeffer E.M., Den R.B., Nguyen P.L., Feng F.Y. Development and validation of a 24-gene predictor of response to postoperative radiotherapy in prostate cancer: a matched, retrospective analysis. *The Lancet Oncology*. 2016; 17 (11): 1612–1620. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30491-0.
 70. Lieberman H.B., Rai A.J., Friedman R.A., Hopkins K.M., Broustas C.G. Prostate cancer: unmet clinical needs and

- RAD9 as a candidate biomarker for patient management. *Translational Cancer Research*. 2018; 7 (6): S651–S661. DOI: 10.21037/tcr.2018.01.21.
71. Murata K., Saga R., Monzen S., Tsuruga E., Hasegawa K., Hosokawa Y. Understanding the mechanism underlying the acquisition of radioresistance in human prostate cancer cells. *Oncology Letters*. 2019; 17 (6): 5830–5838. DOI: 10.3892/ol.2019.10219.
 72. Stuopelytė K., Daniūnaitė K., Jankevičius F., Jarmalaitė S. Detection of miRNAs in urine of prostate cancer patients. *Medicina*. 2016; 52 (2): 116–124. DOI: 10.1016/j.medic.2016.02.007.
 74. Kanwal R., Plaga A.R., Liu X., Shukla G.C., Gupta S. MicroRNAs in prostate cancer: Functional role as biomarkers. *Cancer Letters*. 2017; 407: 9–20. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.08.011.
 75. McDermott N., Meunier A., Wong S., Buchete V., Marignol L. Profiling of a panel of radioresistant prostate cancer cells identifies deregulation of key miRNAs. *Clinical and Translational Radiation Oncology*. 2017; 2: 63–68. DOI: 10.1016/j.ctro.2017.01.005.
 76. Rane J.K., Scaravilli M., Ylipää A., Pellacani D., Mann V.M., Simms M.S., Nykter M., Collins A.T., Visakorpi T., Maitland N.J. MicroRNA expression profile of primary prostate cancer stem cells as a source of biomarkers and therapeutic targets. *European Urology*. 2015; 67 (1): 7–10. DOI: 10.1016/j.eururo.2014.09.005.
 77. Hoey C., Ray J., Jeon J., Huang X., Taeb S., Ylanko J., Andrews D.W., Boutros P.C., Liu S.K. mi RNA-106a and prostate cancer radioresistance: a novel role for LITAF in ATM regulation. *Molecular Oncology*. 2018; 12 (8): 1324–1341. DOI: 10.1002/1878-0261.12328.
 78. Wang W., Liu M., Guan Y., Wu Q. Hypoxia-responsive mir-301a and mir-301b promote radioresistance of prostate cancer cells via downregulating NDRG2. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2016; 22: 2126–2132. DOI: 10.12659/msm.896832.
 79. Razdan A., de Souza P., Roberts T.L. Role of microRNAs in treatment response in prostate cancer. *Current Cancer Drug Targets*. 2018; 18 (10): 929–944. DOI: 10.2174/1568009618666180315160125.
 80. Liao H., Xiao Y., Hu Y., Xiao Y., Yin Z., Liu L. MicroRNA-32 induces radioresistance by targeting DAB2IP and regulating autophagy in prostate cancer cells. *Oncology Letters*. 2015; 10 (4): 2055–2062. DOI: 10.3892/ol.2015.3551.
 81. Huang X., Taeb S., Jahangiri S., Emmenegger U., Tran E., Bruce J., Mesci A., Korpela E., Vesprini D., Wong C.S., Bristow R.G., Liu F.F., Liu S.K. miRNA-95 mediates radioresistance in tumors by targeting the sphingolipid phosphatase SGPP1. *Cancer Research*. 2013; 73 (23): 6972–6986. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1657.
 82. Huang X., Taeb S., Jahangiri S., Korpela E., Cadonic I., Yu N., Krylov S.N., Fokas E., Boutros P.C., Liu S.K. miR-620 promotes tumor radioresistance by targeting 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (HPGD). *Oncotarget*. 2015; 6 (26): 22439–22451. DOI: 10.18632/oncotarget.4210.
 83. Кутилин Д.С., Зинькович М.С., Гусарева М.А., Фаенсон А.В., Карнаухова Е.А., Розенко Л.Я., Фаткина Н.Б., Удаленкова И.А., Васильева Е.О., Гаппоева М.А. Копийность генов как фактор устойчивости опухолевых клеток предстательной железы к облучению. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 4: 82. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29866> (дата обращения: 08.07.2020). DOI: 10.17513/spno.29866.

Вклад авторов

Омельчук Е.П. – составление черновика рукописи. Кутилин Д.С. – разработка концепции научной работы, проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Димитриади С.Н., Гусарева М.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Тимошкина Н.Н. – проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Омельчук Екатерина Петровна, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0003-0786-9684.

Кутилин Денис Сергеевич, канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-8942-3733.

Димитриади Сергей Николаевич, д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение онкоурологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-2565-1518.

Гусарева Марина Александровна, канд. мед. наук, врач-радиотерапевт, зав. отделением радиотерапии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0002-9426-9662.

Тимошкина Наталья Николаевна, канд. биол. наук, зав. лабораторией молекулярной онкологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону. ORCID 0000-0001-6358-7361.

(✉) Омельчук Екатерина Петровна, e-mail: ekaterina.omelchuck@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.06.2020

Подписана в печать 29.09.2020

Генетика семейных форм бокового амиотрофического склероза

Савинова А.В.¹, Шнайдер Н.А.^{1,2}, Насырова Р.Ф.^{1,3}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии (НМИЦ ПН) имени В.М. Бехтерева
Россия, 192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 3

² Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

³ Казанский федеральный университет (КФУ)
Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18

РЕЗЮМЕ

Анализируются результаты исследований, отражающих современное представление о генетике семейных форм бокового амиотрофического склероза (сБАС).

Проведен поиск полнотекстовых публикаций на русском и английском языках за последнее десятилетие в базах данных eLibrary, PubMed, Web of Science, OMIM, используя ключевые слова «боковой амиотрофический склероз» (БАС), «сБАС», «генетика». Кроме того, в обзор включены более ранние публикации, имеющие исторический интерес.

Представлены современные данные, накопленные по четырем самым распространенным генам возникновения сБАС: *SOD1*, *TARDBP*, *FUS* и *C9ORF72*. Рассмотрена функция этих генов, а также возможные патогенетические механизмы гибели мотонейронов при БАС: митохондриальная дисфункция, глутаматная эксайтотоксичность, оксидативный стресс, поражение компонентов системы аксонального транспорта, патологическая агрегация нейрофиламентов.

По мере развития современных методов молекулярно-генетической диагностики расширяются знания в понимании генетики семейных мультифакторных форм БАС, что важно учитывать в клинической практике врачей-неврологов. Выявление генов, ответственных за возникновение БАС, а также понимание конкретных патогенетических механизмов развития заболевания играют ключевую роль в разработке эффективных терапевтических стратегий.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, БАС, семейный БАС, генетика, *SOD*, *FUS*, *TARDBP*, *C9ORF72*.

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

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

Для цитирования: Савинова А.В., Шнайдер Н.А., Насырова Р.Ф. Генетика семейных форм бокового амиотрофического склероза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 193–202. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-193-202>.

Genetics of familial amyotrophic lateral sclerosis

Savinova A.V.¹, Shnayder N. A.^{1,2}, Nasyrova R.F.^{1,3}

¹ V.M. Bekhterev National Research Medical Center for Psychiatry and Neurology (V.M. Bekhterev NRMC PN)
3, Bekhterev Str., Saint Petersburg, 192019, Russian Federation

² V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (V.F. Voyno-Yasenetsky KrasSMU)
1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

³ Kazan Federal University (KFU)
18, Kremlyovskaya Str., Kazan, 420008, Russian Federation

ABSTRACT

To analyze results of the studies covering modern scientific views on the genetics of familial amyotrophic lateral sclerosis (FALS).

We searched for full-text publications containing the key words “amyotrophic lateral sclerosis”, “FALS”, and “genetics” in the literature for the past 10 years in both Russian and English in eLibrary, PubMed, Web of Science, and OMIM databases. In addition, the review includes earlier publications of historical interest.

This review summarizes all existing information on four most widespread genes associated with FALS: *SOD1*, *TARDBP*, *FUS*, and *C9ORF72*. The review also describes the functions of these genes and possible pathogenetic mechanisms of motor neuron death in amyotrophic lateral sclerosis (ALS), such as mitochondrial dysfunction, oxidative stress, glutamate excitotoxicity, damage to axonal transport components, and pathological neurofilament aggregation.

As modern methods of molecular genetic diagnostics evolve, our knowledge about multifactorial FALS genetics expands. This information should be taken into consideration in clinical practice of neurologists. Information about the genes associated with ALS and understanding of particular pathogenetic mechanisms of the disease play a key role in the development of effective therapeutic strategies.

Key words: amyotrophic lateral sclerosis, ALS, familial ALS, genetics, *SOD*, *FUS*, *TARDBP*, *C9ORF72*.

Conflict of interests. 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: Savinova A.V., Shnayder N.A., Nasyrova R.F. Genetics of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 193–202. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-193-202>.

ВВЕДЕНИЕ

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – это прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся гибелью центральных и периферических мотонейронов [1].

Частота встречаемости заболевания – 1,47–2,43 на 100 тыс. населения [2, 3]. Обычно гибель нейронов при данной патологии начинает проявляться во взрослом возрасте с таких клинических симптомов, как утрата мелкой моторики в конечностях, переходящая хромота, невнятная речь. С течением времени симптоматика БАС прогрессирует и проявляется парезом конечностей, мышечной атрофией, фасцикуляциями, потерей веса и в конечном итоге приводит

к смерти от дыхательной недостаточности, спустя в среднем 32 мес после первых проявлений.

Считается, что БАС имеет мультифакторную природу. Точная этиология в настоящее время неизвестна, однако учеными описано множество патогенетических механизмов гибели мотонейронов при БАС: генетические факторы [4, 5]; нарушение метаболизма и процессинга рибонуклеиновой кислоты (РНК) [6, 7]; глутаматная эксайтотоксичность [8, 9]; оксидативный стресс [10]; митохондриальная дисфункция [11–13]; поражение компонентов системы аксонального транспорта [14, 15]; патологическая агрегация нейрофиламентов [16–18]; токсическая роль глиальных, дендритных, антиген-представляющих клеток [19]. В большинстве случаев БАС

возникает спорадически, однако примерно 10% случаев являются семейными (наследственными), которые имеют как аутосомно-доминантный (АД), так и аутосомно-рецессивный (АР) тип наследования [20, 21].

Впервые генетическая природа БАС была описана в 1993 г. [22]. Последующий анализ ответственного за развитие заболевания гена *SOD1* и соседних генов показал множественные патогенные мутации, характерные для семейных (наследственных) случаев БАС (сБАС). За последующие годы анализ взаимосвязей и секвенирование генов-кандидатов сБАС

установили другие гены, ассоциированные с АД, АР, а также X-сцепленным типами наследования [23]. С появлением секвенирования нового поколения возможности ученых-исследователей расширились, что привело к значительному увеличению определения генов, ассоциированных с БАС.

На сегодняшний день установлено более 25 БАС-локусов, а также четыре локуса БАС в сочетании с лобно-височной дегенерацией (ЛВД) [24]. В большинстве локусов были идентифицированы конкретные гены, непосредственно вызывающие заболевание (таблица).

Таблица

Генетическая гетерогенность БАС				
Локус	Ассоциированные гены	Локализация хромосомы	Тип наследования	OMIM
ALS 1	<i>SOD1</i>	21q22.11	АД (АР)/АД(АР)	105400
ALS 2	<i>ALS2</i>	2q33.1	АР/АР	—
ALS 3	Неизвестен /	18q21	АД/АД	606640
ALS 4	<i>SETX</i>	9q34.13	АД/АД	602433
ALS 5	<i>SPG11</i>	15q21.1	АР/АР	602099
ALS 6	<i>FUS</i>	16p11.2	АД (АР)/ АД(АР)	608030
ALS 7	Неизвестен	20p13	АД/АД	608031
ALS 8	<i>VAPB</i>	20q13.32	АД/АД	608627
ALS 9	<i>ANG</i>	14q11.2	АД/АД	611895
ALS 10	<i>TARDBP</i>	1p36.22	АД/АД	612069
ALS 11	<i>FIG4</i>	6q21	АД/АД	612577
ALS 12	<i>OPTN</i>	10p13	АД (АР)/ АД(АР)	602432
ALS 13	<i>ATXN2</i>	12q24.12	АД/АД	183090
ALS 14	<i>VCP</i>	9p13.3	АД/АД	613954
ALS 15	<i>UBQLN2</i>	Xp11.21	X-сцепленное	300857
ALS 16	<i>SIGMAR1</i>	9p13.3	АД, АР/ АД(АР)	614373
ALS 17	<i>CHMP2B</i>	3p11.2	АД/АД	614696
ALS 18	<i>PFN1</i>	17p13.2	АД/АД	614808
ALS 19	<i>ERBB4</i>	2q34	АД/АД	615515
ALS 20	<i>hnRNPA1</i>	12q13.13	АД/АД	615426
ALS 21	<i>MATR3</i>	5q31.2	АД/АД	606070
ALS 22	<i>TUBA4A</i>	2q35	АД/АД	616208
ALS 23	<i>ANXA11</i>	10q22.3	АД/АД	617839
ALS 24	<i>NEK1</i>	4q33	АД/АД	617892
ALS 25	<i>KIF5A</i>	12q13.3	АД/АД	617921
ALS-FTD 1	<i>C9ORF72</i>	9p21.2	АД/АД	105550
ALS-FTD 2	<i>CHCHD10</i>	22q11.23	АД/АД	615911
ALS-FTD 3	<i>SQSTM1</i>	5q35.3	АД/АД	616437
ALS-FTD 4	<i>TBK1</i>	12q14.2	АД/АД	616439

Примечание. ALS – боковой амиотрофический склероз; ALS-FTD – БАС и лобно-височная дегенерация; OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man

Настоящий обзор обобщает данные исследований четырех наиболее распространенных моногенных форм БАС, обусловленных мутациями в генах *SOD1*, *TARDBP*, *FUS* и *C9ORF72*. Детально рассмотрены функции этих генов, их вклад в патогенез БАС, а также потенциальное значение данных механизмов для разработки новых подходов к терапии.

ЛОКУС ALS1 (ГЕН *SOD1*)

Ген *SOD1* располагается на хромосоме 21q22.11. Он кодирует супероксиддисмутазу-1, главный ци-

топлазматический антиоксидантный фермент, который связывает медь и цинк и образует чрезвычайно стабильный гомодимер. Димеры *SOD1* находятся в цитозоле и межмембранном пространстве митохондрий, обеспечивая важный механизм антиоксидантной защиты, катализируя выработку кислорода и перекиси водорода из супероксидных соединений, образующихся при клеточном дыхании [25].

Мутация *SOD1* была описана D.R. Rosen и соавт. в 1993 г. и стала первой идентифицированной генетической причиной сБАС [22]. Большинство мута-

ций *SOD1* наследуются АД [26], однако также описаны случаи с АР типом наследования [27, 28]. Частота мутаций *SOD1* варьирует от 12 до 23,5% пациентов с сБАС и 5–10% спорадических случаев заболевания [29, 30]. В настоящее время описано более 100 мутаций гена *SOD1*, большинство из которых являются точечными. Эти точечные мутации распределены по всему гену и не дают четких функциональных или структурных ключей к пониманию механизма возникновения сБАС, поскольку фенотип, продолжительность и тяжесть заболевания могут значительно различаться в зависимости от задействованных участков. Наиболее распространенным во всем мире является вариант миссенс-мутации D90A. Быстрое прогрессирование заболевания и более короткая продолжительность жизни наблюдаются у пациентов с вариантами A4V, H43R, L84V, G85R N86S и G93A, в то время как у пациентов с вариантами G93C, D90A или H46R обычно продолжительность жизни дольше [31]. Данные мутации сопровождаются нарушением стабильности молекулы мутантного белка, что может являться пусковым звеном развития заболевания [32, 33].

Изначально считалось, что мутации в гене *SOD1* связаны с уменьшением активности фермента, что привело к поспешным предположениям о том, что патогенез БАС связан с потерей дисмутазной активности фермента [22, 34]. Однако более позднее исследование D.W. Cleveland и соавт. (1995) показало, что активность супероксиддисмутазы 1-го типа (*SOD1*) не коррелирует с тяжестью заболевания. Это указывает на то, что в патогенезе БАС может быть задействован токсический механизм усиления ферментативной активности фермента [35]. Индуцированные мутациями конформационные и функциональные изменения *SOD1* оказывают свое токсическое действие через ряд механизмов. К ним относят эксайтотоксичность, окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию, а также прионоподобное распространение мутантных *SOD1* (mt*SOD1*) [36]. Так, mt*SOD1* вызывает повышение уровня окислительных соединений (гидроксильные перекисные радикалы [37–39], пероксинитрит [40]), токсичных для клеток. Помимо этого избыточная ферментативная активность mt*SOD1* связана с высвобождением свободных ионов цинка [41]. Кроме того, mt*SOD* связываются с другими белками [42], например белками теплового шока, нарушая их апоптотическую активность [43, 44]. В целом изменяется окислительно-восстановительная регуляция [45], опосредованная избыточным образованием токсичных агрегатов *SOD1* [46].

Как и при других нейродегенеративных заболеваниях, связанных с агрегацией белка, обсуждается

вопрос, ответственны ли мутантные формы белка за проявления токсичности. K. Forsberg и соавт. (2019) обнаружили гранулярные *SOD1*-иммунореактивные включения в двигательных нейронах пациентов с сБАС без патогенных мутаций в гене *SOD1*. Это может говорить о том, что неправильная конформация *SOD1*, возможно, является следствием патогенетического каскада, связанного с мутациями в других генах (*C9ORF72HRE*, *FUS*, *KIF5A*, *NEK1*, *VAPB* и *ALSIN*). Таким образом, авторы предполагают, что новые анти-*SOD1*-антитела могут являться перспективной терапевтической стратегией при сБАС [47].

ЛОКУС ALS 6 (ГЕН *FUS*)

Ген *FUS* находится на хромосоме 16p11.2 и был впервые идентифицирован как онкоген при липосаркоме. Ген *FUS* кодирует повсеместно экспрессируемый белок из 526 аминокислот, относящийся к семейству FET РНК-связывающих белков. При нормальных физиологических условиях белок *FUS* локализуется преимущественно в ядре, но также может переходить в цитоплазму, участвуя в нуклеоцитоплазматическом транспорте [48]. *FUS* разделяет многие физиологические роли с TDP-43 (кодируется геном *TARDBP*): транскрипцию, спайсинг пре-мРНК, транспорт РНК и регуляцию трансляции [49]. Хотя они имеют много общего, TDP-43 и *FUS* регулируют разные процессы, связанные с РНК [50, 51].

В настоящее время у пациентов, страдающих сБАС, выявлено более 50 различных мутаций в гене *FUS*, которые наследуются, в основном, АД. Большинство из них – миссенс-мутации, хотя в редких случаях описывают также делеции, инсерции и нонсенс-мутации [52]. Такие мутации в итоге приводят к перераспределению *FUS* в цитоплазму [53]. Другие патогенные варианты *FUS* повышают склонность белка образовывать агрегаты, что указывает на различные патомеханизмы возникновения сБАС [54].

Y. Kino и соавт (2015) предположили, что сБАС возникает из-за снижения функции белка *FUS*. Патологическое цитоплазматическое перераспределение *FUS* делает его неспособным выполнять свои функции в ядре [55].

В противовес теории недостаточной функциональной активности *FUS* учеными были выдвинуты теории возникновения сБАС, связанные с избыточным токсическим усилением функции белка. J.C. Mitchell и соавт. (2013) создали линию трансгенных мышей с избыточной экспрессией *FUS*. В результате чего у данных мышей развился агрессивный фенотип БАС, при котором обнаружено накопление цитоплазматического *FUS* [56].

Не до конца изучен вопрос, является ли нейротоксичность следствием первичного накопления агрегатов FUS или вторичного увеличения его в цитоплазме после перераспределения. Есть некоторые доказательства того, что токсичность может быть вызвана агрегатами FUS напрямую. Накопление цитоплазматического FUS и агрессивный фенотип наблюдались на моделях трансгенных мышей, которые экспрессируют склонные к агрегатам варианты FUS, лишенные способности распознавать и связывать РНК [57, 58]. Существует также доказательство того, что растворимый цитоплазматический FUS может быть токсичным. Некоторые исследования на животных моделях сБАС (в частности, на трансгенных крысах) демонстрировали увеличение цитоплазматического FUS без образования агрегатов [59–61]. S. Hennig и соавт. (2015) предположили, что агрегация FUS может быть компенсаторным механизмом, защищающим клетки от токсического увеличения растворимого цитоплазматического FUS. Авторы считают, что склонность FUS к агрегации является нормальной, а не патологической функцией клеток [62]. Нарушение клеточной функции также может быть прямым следствием воздействия патогенных вариантов FUS, которые вызывают дефекты сплайсинга, повреждение ДНК и нарушают ауторегуляцию FUS [63, 64].

ЛОКУС ALS 10 (ГЕН *TARDBP*)

Ген *TARDBP* располагается на хромосоме 1p36.22. Он кодирует TDP-43, ДНК/РНК-связывающий белок, состоящий из 414 аминокислот. Обычно TDP-43 сконцентрирован в ядре, однако он имеет как сигнал ядерной локализации, так и сигнал ядерного экспорта. Благодаря этому TDP-43 может свободно перемещаться между ядром и цитоплазмой [65]. TDP-43 регулирует экспрессию генов и участвует в нескольких этапах процессинга РНК: сплайсинге пре-мРНК, регуляции стабильности мРНК, транспорте мРНК, трансляции, а также регуляции некодирующих участков РНК [66, 67].

Гистологические исследования образцов спинного мозга показали, что нейрональные цитоплазматические убиквитинированные включения присутствовали у большинства пациентов с БАС [68]. Однако в 2006 г. произошло изменение в понимании патогенеза сБАС, когда было обнаружено, что основным компонентом убиквитинированных белковых агрегатов, выявленных у пациентов, является TDP-43 [69, 70]. Дальнейшие гистологические исследования подтвердили, что TDP-43 присутствует в цитоплазматических агрегатах у большинства пациентов с БАС, включая спорадические случаи без патогенных

вариантов в гене *TARDBP* и у пациентов с экспансиями гексануклеотидных повторов *C9ORF72* [71, 72]. Агрегация TDP-43 в убиквитин-позитивных цитоплазматических включениях нейронов в головном и спинном мозге в настоящее время считается патологической отличительной чертой БАС.

К настоящему времени, по крайней мере, 48 различных мутаций гена *TARDBP* связаны с развитием БАС [53]. Большинство из них – миссенс-мутации, расположенные в богатой глицином области на карбокси-конце транскрипта. Карбокси-концевой участок взаимодействует с другими гетерогенными рибонуклеопротеинами и участвует в регуляции сплайсинга пре-мРНК [73].

Цитоплазматическое накопление TDP-43 сопровождается перераспределением TDP-43 и снижением его в ядре. Ввиду этой особенности, к предполагаемым механизмам развития БАС относят потерю нормальной функции TDP-43 в ядре, токсическое усиление функции белка или же и то и другое.

Различные модели животных были созданы для проверки гипотезы потери функции. В отсутствие TDP-43 мыши не являются жизнеспособными, демонстрируя, что TDP-43 жизненно важен для эмбрионального развития [74]. Индуцированный нокаут *TDP-43* у взрослых мышей также оказывается летальным [75]. У мышей, гетерозиготных по делеции *TARDBP*, наблюдался двигательный дефицит, но не было дегенерации моторных нейронов и не наблюдалось снижения уровня белка TDP-43 [74].

Большая часть доказательств гипотезы усиления функции исходит из моделей сверхэкспрессии. На линии грызунов со сверхэкспрессией TDP-43, как дикого, так и мутантного типа, была воспроизведена модель нейродегенерации [76–78].

Как отсутствие, так и избыточная экспрессия TDP-43 являются причиной заболевания. Это подчеркивает важность строго контролируемой регуляции данного белка. А. Коуата и соавт. (2016) обнаружили, что уменьшение TDP-43 в ядре приводит к извращению ауторегуляции и активации непрерывного синтеза TDP-43 [79]. Гомеостаз TDP-43 имеет решающее значение для нормальной клеточной функции. Избыток TDP-43 в цитоплазме может привести к образованию телец включения, что приводит к клеточной дисфункции, в то время как ядерное истощение может вызвать дисрегуляцию метаболизма мРНК [80, 81].

В дополнение к аномальному распределению и агрегации TDP-43 при БАС имеются данные о посттрансляционных модификациях, связанных с патологическим TDP-43. Такие модификации включают убиквитинирование, протеолитическое расщепление

и фосфорилирование [82]. Временная последовательность этих посттрансляционных модификаций и роль, которую каждая из них играет в возникновении заболевания, остаются неясными.

ЛОКУС ALS-FTD 1 (ГЕН C9ORF72)

Ген C9ORF72 расположен на хромосоме 9p21.2. М. DeJesus-Hernandez и соавт. (2011) открыли, что экспансия гексануклеотидных повторов GGGGCC (G4C2) в некодирующих участках гена C9ORF72 является одной из самых распространенных причин БАС и ЛВД [6]. Именно эти экспансии гексануклеотидных повторов были выявлены в 34% случаев сБАС и в 5% случаев спорадических форм БАС [4]. Стоит отметить, что повторы G4C2 чаще встречаются в европейских, чем в азиатских, популяциях. Несмотря на то, что у здоровых людей также наблюдаются гексануклеотидные повторы G4C2, их число не превышает 20, в то время как у пациентов с сБАС доходит до сотен и тысяч [6].

Хотя роль гена C9ORF72 в развитии сБАС уже была установлена, клеточная функция белка, кодируемого этим геном, еще не до конца изучена. Последние исследования отмечают участие этого гена в регуляции везикулярного транспорта [83]. Белки C9ORF72, солокализованные с Rab-белками, принимают участие в аутофагии и эндоцитозе. А.А. Waite и соавт. (2014) выяснили, что у пациентов с БАС и экспансией гексануклеотидных повторов снижены уровни белка C9ORF72 и мРНК [84]. Тем не менее потеря функции только этого гена не способна самостоятельно вызывать появление симптомов БАС [85].

Ключевым звеном развития БАС является нарушение процессинга РНК. Экспансии повторов G4C2 в гене C9ORF72 располагаются в интроне, находящемся между первыми двумя экзонами. В результате процессинга такого транскрипта обычно получают изоформы, содержащие один или оба экзона, а также фрагмент экспансии повторов G4C2 [86].

К другим возможным нарушениям процессинга относят abortивную транскрипцию, нарушение сплайсинга интрона, содержащего повторы G4C2, и агрегацию ядра [87]. Часть транскриптов, содержащих повторы G4C2, подвергается RAN-трансляции. Это приводит к образованию патологических дипептидов, формирующих включения в центральной нервной системе. Это также может способствовать нейродегенерации [88]. Из РНК-транскриптов, содержащих повторы G4C2, могут формироваться ядерные структуры, выводящие из строя РНК-связывающие белки. Эти структуры также воздействуют на экспрессию и сплайсинг РНК [89].

Р. Fratta и соавт. (2012) отмечают, что насыщенные гуанином повторы склонны к формированию такой вторичной структуры ДНК, как G-квадруплекс. Это способствует образованию патологических связей с различными белками, что также ингибирует транскрипцию [90]. В настоящее время неизвестно, какой из представленных выше механизмов оказывает наибольшее влияние на прогрессирование БАС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проанализированные нами исследования демонстрируют значительный вклад носительства мутаций в рассмотренных генах в патогенез сБАС. Дальнейшее изучение молекулярно-генетических механизмов их формирования позволит расширить представления о генетических механизмах развития семейных и мультифакторных форм БАС, что важно для дальнейших разработок диагностических подходов и патогенетических терапевтических тактик в реальной клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rowland L.P. Amyotrophic lateral sclerosis. *Curr. Opin. Neurol.* 1994; 7 (4): 310–315. DOI: 10.1097/00019052-199408000-00006.
2. Chiò A., Logroscino G., Traynor B.J., Collins J., Simeone J.C., Goldstein L.A., White L.A. Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the published literature. *Neuroepidemiology.* 2013; 41 (2): 118–130. DOI: 10.1159/000351153.
3. Ingre C., Roos P.M., Piehl F. Risk factors for amyotrophic lateral sclerosis. *Clin. Epidemiol.* 2015; 7: 181–193. DOI: 10.2147/CLEP.S37505.
4. Zou Z.Y., Zhou Z.R., Che C.H., Liu C.Y., He R.L., Huang H.P. Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2017; 88 (7): 540–549. DOI: 10.1136/jnnp-2016-315018.
5. Veldink J.H. ALS genetic epidemiology 'How simplex is the genetic epidemiology of ALS?' *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2017; 88 (7): 537. DOI: 10.1136/jnnp-2016-315469.
6. DeJesus-Hernandez M., Mackenzie I.R., Boeve B.F., Boxer A.L., Baker M., Rutherford N.J., Nicholson A.M., Finch N.A., Flynn H., Adamson J., Kouri N., Wojtas A., Sengdy P., Hsiung G.Y., Karydas A., Seeley W.W., Josephs K.A., Coppola G., Geschwind D.H., Wszolek Z.K., Feldman H., Knopman D.S., Petersen R.C., Miller B.L., Dickson D.W., Boylan K.B., Graff-Radford N.R., Rademakers R. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron.* 2011; 72 (2): 245–256. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.09.011.
7. Chen K.W., Chen J.A. Functional roles of long non-coding RNAs in motor neuron development and disease. *J. Biomed. Sci.* 2020; 27 (1): 38. DOI: 10.1186/s12929-020-00628-z.

8. Shaw P.J. Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2005; 76 (8): 1046–1057. DOI: 10.1136/jnnp.2004.048652.
9. Shaw P.J., Forrest V., Ince P.G., Richardson J.P., Wastell H.J. CSF and plasma amino acid levels in motor neuron disease: elevation of CSF glutamate in a subset of patients. *Neurodegeneration*. 1995; 4 (2): 209–216. DOI: 10.1006/neur.1995.0026.
10. Shaw P.J., Ince P.G., Falkous G., Mantle D. Oxidative damage to protein in sporadic motor neuron disease spinal cord. *Ann. Neurol*. 1995; 38 (4): 691–695. DOI: 10.1002/ana.410380424.
11. Manfredi G., Xu Z. Mitochondrial dysfunction and its role in motor neuron degeneration in ALS. *Mitochondrion*. 2005; 5 (2): 77–87. DOI: 10.1016/j.mito.2005.01.002.
12. Shi P., Gal J., Kwinter D.M., Liu X., Zhu H. Mitochondrial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim. Biophys. Acta*. 2010; 1802 (1): 45–51. DOI: 10.1016/j.bba-dis.2009.08.012.
13. Kodavati M., Wang H., Hegde M.L. Altered mitochondrial dynamics in motor neuron disease: An emerging perspective. *Cells*. 2020; 9 (4): 1065. DOI: 10.3390/cells9041065
14. De Vos K.J., Grierson A.J., Ackerley S., Miller C.C. Role of axonal transport in neurodegenerative diseases. *Ann. Rev. Neurosci.* 2008; 31: 151–173. DOI: 10.1146/annurev.neuro.31.061307.090711.
15. De Vos K.J., Chapman A.L., Tennant M.E., Manser C., Tudor E.L., Lau K.F., Brownlee J., Ackerley S., Shaw P.J., McLoughlin D.M., Shaw C.E., Leigh P.N., Miller C.C.J., Grierson A.J. Familial amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1 mutants perturb fast axonal transport to reduce axonal mitochondria content. *Hum. Mol. Genet.* 2007; 16 (22): 2720–2728. DOI: 10.1093/hmg/ddm226.
16. Brownlee J., Ackerley S., Grierson A.J., Jacobsen N.J., Shea K., Anderton B.H., Leigh P.N., Shaw C.E., Miller C.C. Charcot-Marie-Tooth disease neurofilament mutations disrupt neurofilament assembly and axonal transport. *Hum. Mol. Genet.* 2002; 11 (23): 2837–2844. DOI: 10.1093/hmg/11.23.2837.
17. Perrone Capano C., Pernas-Alonso R., di Porzio U. Neurofilament homeostasis and motoneuron degeneration. *Bioessays*. 2001; 23 (1): 24–33. DOI: 10.1002/1521-1878 (200101)23:1<24::AID-BIES1004>3.0.CO;2-H.
18. Xu Z., Henderson R.D., David M., McCombe P.A. Neurofilaments as Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016 ; 11 (10): e0164625. DOI: 10.1371/journal.pone.0164625.
19. Henkel J.S., Engelhardt J.I., Siklós L., Simpson E.P., Kim S.H., Pan T., Goodman J.C., Siddique T., Beers D.R., Appel S.H. Presence of dendritic cells, MCP-1, and activated microglia/macrophages in amyotrophic lateral sclerosis spinal cord tissue. *Ann. Neurol*. 2004; 55 (2): 221–235. DOI: 10.1002/ana.10805.
20. Siddique T., Deng H.X. Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum. Mol. Genet.* 1996; 5: 1465–1470. DOI: 10.1093/hmg/5.supplement_1.1465.
21. Абрамичева Н.Ю., Лысогорская Е.В., Шпилюкова Ю.С., Ветчинова А.С., Захарова М.Н., Иллариошкин С.Н. Молекулярная структура бокового амиотрофического склероза в Российской популяции. *Нервно-мышечные болезни*. 2016; 6 (4): 21–27. DOI: 10.17650/2222-8721-2016-6-4-21-27.
22. Rosen D.R., Siddique T., Patterson D., Figlewicz D.A., Sapp P., Hentati A., Donaldson D., Goto J., O'Regan J.P., Deng H.X. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*. 1993; 362 (6415): 59–62. DOI: 10.1038/362059a0.
23. Fahed A.C., McDonough B., Gouvion C.M., Newell K.L., Dure L.S., Bebin M., Bick A.G., Seidman J.G., Harter D.H., Seidman C.E. UBQLN2 mutation causing heterogeneous X-linked dominant neurodegeneration. *Ann. Neurol*. 2014; 75 (5): 793–798. DOI: 10.1002/ana.24164.
24. Kunst C.B. Complex genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Am. J. Hum. Genet.* 2004; 75 (6): 933–947. DOI: 10.1086/426001.
25. Keller G.A., Warner T.G., Steimer K.S., Hallewell R.A. Cu,Zn superoxide dismutase is a peroxisomal enzyme in human fibroblasts and hepatoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991; 88 (16): 7381–7385. DOI: 10.1073/pnas.88.16.7381.
26. Andersen P.M., Nilsson P., Ala-Hurula V., Keränen M.L., Tarvainen I., Haltia T., Nilsson L., Binzer M., Forsgren L., Marklund S.L. Amyotrophic lateral sclerosis associated with homozygosity for an Asp90Ala mutation in CuZn-superoxide dismutase. *Nat. Genet.* 1995; 10 (1): 61–66. DOI: 10.1038/ng0595-61.
27. Hand C.K., Mayeux-Portas V., Khoris J., Briolotti V., Clavelou P., Camu W., Rouleau G.A. Compound heterozygous D90A and D96N SOD1 mutations in a recessive amyotrophic lateral sclerosis family. *Ann Neurol*. 2001; 49 (2): 267–271. DOI: 10.1002/1531-8249(20010201)49:2<267::aid-ana51>3.0.co;2-d.
28. Al-Chalabi A., Andersen P.M., Chioza B., Shaw C., Sham P.C., Robberecht W., Matthijs G., Camu W., Marklund S.L., Forsgren L., Rouleau G., Laing N.G., Hurse P.V., Siddique T., Leigh P.N., Powell J.F. Recessive amyotrophic lateral sclerosis families with the D90A SOD1 mutation share a common founder: evidence for a linked protective factor. *Hum. Mol. Genet.* 1998; 7 (13): 2045–2050. DOI: 10.1093/hmg/7.13.2045.
29. Marangi G., Traynor B.J. Genetic causes of amyotrophic lateral sclerosis: new genetic analysis methodologies entailing new opportunities and challenges. *Brain Res.* 2015; 1607: 75–93. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.10.009.
30. Lysogorskaia E.V., Abramychева N.Y., Zakharova M.N., Stepanova M.S., Moroz A.A., Rossokhin A.V., Illarioshkin S.N. Genetic studies of Russian patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph. Lateral. Scler. Frontotemporal. Degener.* 2015; 17 (1-2): 135–141. DOI: 10.3109/21678421.2015.1107100.
31. Yamashita S., Ando Y. Genotype-phenotype relationship in hereditary amyotrophic lateral sclerosis. *Transl. Neurodegener.* 2015; 4: 13. DOI: 10.1186/s40035-015-0036-y.
32. Lindberg M.J., Tibell L., Oliveberg M. Common denominator of Cu/Zn superoxide dismutase mutants associated with amyotrophic lateral sclerosis: decreased stability of the apo state. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (26): 16607–16612. DOI: 10.1073/pnas.262527099.
33. Лысогорская Е.В., Абрамичева Н.Ю., Захарова М.Н., Иллариошкин С.Н. Частота мутаций в гене *SOD1* у российских пациентов с боковым амиотрофическим склерозом.

- Медицинская генетика*. 2013; 12 (4): 32–37. DOI: 10.1234/XXXX-XXXX-2013-4-32-37.
34. Deng H.X., Hentati A., Tainer J.A., Iqbal Z., Cayabyab A., Hung W.Y., Getzoff E.D., Hu P., Herzfeldt B., Roos R.P. et al. Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu,Zn superoxide dismutase. *Science*. 1993; 261 (5124): 1047–1051. DOI: 10.1126/science.8351519.
 35. Cleveland D.W., Laing N., Hurse P.V., Brown R.H. Jr. Toxic mutants in Charcot's sclerosis. *Nature*. 1995; 378 (6555): 342–343. DOI: 10.1038/378342a0.
 36. Hayashi Y., Homma K., Ichijo H. SOD1 in neurotoxicity and its controversial roles in SOD1 mutation-negative ALS. *Adv. Biol. Regul.* 2016; 60: 95–104. DOI: 10.1016/j.jbior.2015.10.006.
 37. Wiedau-Pazos M., Goto J.J., Rabizadeh S., Gralla E.B., Roe J.A., Lee M.K., Valentine J.S., Bredesen D.E. Altered reactivity of superoxide dismutase in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 1996; 271 (5248): 515–518. DOI: 10.1126/science.271.5248.515.
 38. Yim M.B., Kang J.H., Yim H.S., Kwak H.S., Chock P.B., Stadtman E.R. A gain-of-function of an amyotrophic lateral sclerosis-associated Cu,Zn-superoxide dismutase mutant: An enhancement of free radical formation due to a decrease in Km for hydrogen peroxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996; 93 (12): 5709–5714. DOI: 10.1073/pnas.93.12.5709.
 39. Van Landeghem G.F., Tabatabaie P., Beckman G., Beckman L., Andersen P.M. Manganese-containing superoxide dismutase signal sequence polymorphism associated with sporadic motor neuron disease. *Eur. J. Neurol.* 1999; 6 (6): 639–644. DOI: 10.1046/j.1468-1331.1999.660639.x.
 40. Beckman J.S., Carson M., Smith C.D., Koppenol W.H. ALS, SOD and peroxynitrite. *Nature*. 1993; 364 (6438): 584. DOI: 10.1038/364584a0.
 41. Wong P.C., Pardo C.A., Borchelt D.R., Lee M.K., Copeland N.G., Jenkins N.A., Sisodia S.S., Cleveland D.W., Price D.L. An adverse property of a familial ALS-linked SOD1 mutation causes motor neuron disease characterized by vacuolar degeneration of mitochondria. *Neuron*. 1995; 14 (6): 1105–1116. DOI: 10.1016/0896-6273(95)90259-7.
 42. Kunst C.B., Mezey E., Brownstein M.J., Patterson D. Mutations in SOD1 associated with amyotrophic lateral sclerosis cause novel protein interactions. *Nat. Genet.* 1997; 15 (1): 91–94. DOI: 10.1038/ng0197-91.
 43. Shinder G.A., Lacourse M.C., Minotti S., Durham H.D. Mutant Cu/Zn-superoxide dismutase proteins have altered solubility and interact with heat shock/stress proteins in models of amyotrophic lateral sclerosis. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (16): 12791–12796. DOI: 10.1074/jbc.M010759200.
 44. Okado-Matsumoto A., Fridovich I. Amyotrophic lateral sclerosis: a proposed mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (13): 9010–9014. DOI: 10.1073/pnas.132260399.
 45. Ferri A., Gabbianelli R., Casciati A., Celsi F., Rotilio G., Carri M.T. Oxidative inactivation of calcineurin by Cu,Zn superoxide dismutase G93A, a mutant typical of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurochem.* 2001; 79 (3): 531–538. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2001.00558.x.
 46. Bruijn L.I., Houseweart M.K., Kato S., Anderson K.L., Anderson S.D., Ohama E., Reaume A.G., Scott R.W., Cleveland D.W. Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1. *Science*. 1998; 281 (5384): 1851–1854. DOI: 10.1126/science.281.5384.1851.
 47. Forsberg K., Graffmo K., Pakkenberg B., Weber M., Nielsen M., Marklund S., Brännström T., Andersen P.M. Misfolded SOD1 inclusions in patients with mutations in C9orf72 and other ALS/FTD-associated genes. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2019; 90 (8): 861–869. DOI: 10.1136/jnnp-2018-319386.
 48. Zinszner H., Sok J., Immanuel D., Yin Y., Ron D. TLS (FUS) binds RNA in vivo and engages in nucleo-cytoplasmic shuttling. *J. Cell Sci.* 1997; 110 (15): 1741–1750.
 49. Ratti A., Buratti E. Physiological functions and pathobiology of TDP-43 and FUS/TLS proteins. *J. Neurochem.* 2016; 138(1): 95–111. DOI: 10.1111/jnc.13625.
 50. Lagier-Tourenne C., Polymenidou M., Hutt K.R., Vu A.Q., Baughn M., Huelga S.C., Clutario K.M., Ling S.C., Liang T.Y., Mazur C., Wancewicz E., Kim A.S., Watt A., Freier S., Hicks G.G., Donohue J.P., Shiue L., Bennett C.F., Ravits J., Cleveland D.W., Yeo G.W. Divergent roles of ALS-linked proteins FUS/TLS and TDP-43 intersect in processing long pre-mRNAs. *Nat. Neurosci.* 2012; 15 (11): 1488–1497. DOI:10.1038/nn.3230.
 51. Colombrita C., Onesto E., Buratti E., de la Grange P., Gumi-na V., Baralle F.E., Silani V., Ratti A. From transcriptomic to protein level changes in TDP-43 and FUS loss-of-function cell models. *Biochim. Biophys. Acta*. 2015; 1849 (12): 1398–1410. DOI: 10.1016/j.bbtagrm.2015.10.015.
 52. Lattante S., Rouleau G.A., Kabashi E. TARDBP and FUS mutations associated with amyotrophic lateral sclerosis: summary and update. *Hum. Mutat.* 2013; 34 (6): 812–826. DOI: 10.1002/humu.22319.
 53. Vance C., Scotter E.L., Nishimura A.L., Troakes C., Mitchell J.C., Kathe C., Urwin H., Manser C., Miller C.C., Hortobágyi T., Dragunow M., Rogelj B., Shaw C.E. ALS mutant FUS disrupts nuclear localization and sequesters wild-type FUS within cytoplasmic stress granules. *Hum. Mol. Genet.* 2013; 22 (13): 2676–2688. DOI: 10.1093/hmg/ddt117.
 54. Nomura T., Watanabe S., Kaneko K., Yamanaka K., Nukina N., Furukawa Y. Intranuclear aggregation of mutant FUS/TLS as a molecular pathomechanism of amyotrophic lateral sclerosis. *J. Biol. Chem.* 2014; 289 (2): 1192–1202. DOI: 10.1074/jbc.M113.516492.
 55. Kino Y., Washizu C., Kurosawa M., Yamada M., Miyazaki H., Akagi T., Hashikawa T., Doi H., Takumi T., Hicks G.G., Hattori N., Shimogori T., Nukina N. FUS/TLS deficiency causes behavioral and pathological abnormalities distinct from amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol. Commun.* 2015; 3: 24. DOI: 10.1186/s40478-015-0202-6.
 56. Mitchell J.C., McGoldrick P., Vance C., Hortobágyi T., Sreedharan J., Rogelj B., Tudor E.L., Smith B.N., Klasen C., Miller C.C., Cooper J.D., Greensmith L., Shaw C.E. Overexpression of human wild-type FUS causes progressive motor neuron degeneration in an age- and dose-dependent fashion. *Acta Neuropathol.* 2013; 125 (2): 273–288. DOI: 10.1007/s00401-012-1043-z.
 57. Shelkovnikova T.A., Peters O.M., Deykin A.V., Connor-Robson N., Robinson H., Ustyugov A.A., Bachurin S.O., Ermolkevich T.G., Goldman I.L., Sadchikova E.R., Kovrazhki-

- na E.A., Skvortsova V.I., Ling S.C., Da Cruz S., Parone P.A., Buchman V.L., Ninkina N.N. Fused in sarcoma (FUS) protein lacking nuclear localization signal (NLS) and major RNA binding motifs triggers proteinopathy and severe motor phenotype in transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 2013; 288 (35): 25266–25274. DOI: 10.1074/jbc.M113.492017.
58. Robinson H.K., Deykin A.V., Bronovitsky E.V., Ovchinnikov R.K., Ustyugov A.A., Shelkovnikova T.A., Kukhar'sky M.S., Ermolkevich T.G., Goldman I.L., Sadchikova E.R., Kovrazhkina E.A., Bachurin S.O., Buchman V.L., Ninkina N.N. Early lethality and neuronal proteinopathy in mice expressing cytoplasm-targeted FUS that lacks the RNA recognition motif. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal. Degener.* 2015; 16 (5-6): 402–409. DOI: 10.3109/21678421.2015.1040994.
 59. Huang C., Zhou H., Tong J., Chen H., Liu Y.J., Wang D., Wei X., Xia X.G. FUS transgenic rats develop the phenotypes of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration. *PLoS Genet.* 2011; 7 (3): e1002011. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002011.
 60. Scekic-Zahirovic J., Sendscheid O., El Oussini H., Jambeau M., Sun Y., Mersmann S., Wagner M., Dieterle S., Sinniger J., Dirrig-Grosch S., Drenner K., Birling M.C., Qiu J., Zhou Y., Li H., Fu X.D., Rouaux C., Shelkovnikova T., Witting A., Ludolph A.C., Kiefer F., Storkebaum E., Lagier-Tourenne C., Dupuis L. Toxic gain of function from mutant FUS protein is crucial to trigger cell autonomous motor neuron loss. *EMBO J.* 2016; 35 (10): 1077–1097. DOI: 10.15252/embj.201592559.
 61. Sharma A., Lyashchenko A.K., Lu L., Nasrabady S.E., Elmaleh M., Mendelsohn M., Nemes A., Tapia J.C., Mentis G.Z., Shneider N.A. ALS-associated mutant FUS induces selective motor neuron degeneration through toxic gain of function. *Nat. Commun.* 2016; 7: 10465. DOI: 10.1038/ncomms10465.
 62. Hennig S., Kong G., Mannen T., Sadowska A., Kobelke S., Blythe A., Knott G.J., Iyer K.S., Ho D., Newcombe E.A., Hosoki K., Goshima N., Kawaguchi T., Hatters D., Trinkle-Mulcahy L., Hirose T., Bond C.S., Fox A.H. Prion-like domains in RNA binding proteins are essential for building subnuclear paraspeckles. *J. Cell Biol.* 2015; 210 (4): 529–539. DOI: 10.1083/jcb.201504117.
 63. Zhou Y., Liu S., Liu G., Oztürk A., Hicks G.G. ALS-associated FUS mutations result in compromised FUS alternative splicing and autoregulation. *PLoS Genet.* 2013; 9 (10): e1003895. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003895.
 64. Qiu H., Lee S., Shang Y., Wang W.Y., Au K.F., Kamiya S., Barmada S.J., Finkbeiner S., Lui H., Carlton C.E., Tang A.A., Oldham M.C., Wang H., Shorter J., Filiano A.J., Roberson E.D., Tourtellotte W.G., Chen B., Tsai L.H., Huang E.J. ALS-associated mutation FUS-R521C causes DNA damage and RNA splicing defects. *J. Clin. Invest.* 2014; 124 (3): 981–999. DOI: 10.1172/JCI72723.
 65. Ayala Y.M., Zago P., D'Ambrogio A., Xu Y.F., Petrucelli L., Buratti E., Baralle F.E. Structural determinants of the cellular localization and shuttling of TDP-43. *J. Cell Sci.* 2008; 121 (22): 3778–3785. DOI: 10.1242/jcs.038950.
 66. Buratti E., Baralle F.E. The multiple roles of TDP-43 in pre-mRNA processing and gene expression regulation. *RNA Biol.* 2010; 7 (4): 420–429. DOI: 10.4161/rna.7.4.12205.
 67. Tollervey J.R., Curk T., Rogelj B., Briese M., Cereda M., Kay-icki M., König J., Hortobágyi T., Nishimura A.L., Zupunski V., Patani R., Chandran S., Rot G., Zupan B., Shaw C.E., Ule J. Characterizing the RNA targets and position-dependent splicing regulation by TDP-43. *Nat. Neurosci.* 2011; 14 (4): 452–458. DOI: 10.1038/nn.2778.
 68. Leigh P.N., Whitwell H., Garofalo O., Buller J., Swash M., Martin J.E., Gallo J.M., Weller R.O., Anderton B.H. Ubiquitin-immunoreactive intraneuronal inclusions in amyotrophic lateral sclerosis. Morphology, distribution, and specificity. *Brain.* 1991; 114 (2): 775–788. DOI: 10.1093/brain/114.2.775.
 69. Arai T., Hasegawa M., Akiyama H., Ikeda K., Nonaka T., Mori H., Mann D., Tsuchiya K., Yoshida M., Hashizume Y., Oda T. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 351 (3): 602–611. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.10.093.
 70. Neumann M., Sampathu D.M., Kwong L.K., Truax A.C., Micsenyi M.C., Chou T.T., Bruce J., Schuck T., Grossman M., Clark C.M., McCluskey L.F., Miller B.L., Masliah E., Mackenzie I.R., Feldman H., Feiden W., Kretschmar H.A., Trojanowski J.Q., Lee V.M. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science.* 2006; 314 (5796): 130–133. DOI: 10.1126/science.1134108.
 71. Giordana M.T., Piccinini M., Grifoni S., De Marco G., Vercellino M., Magistrello M., Pellerino A., Buccinnà B., Lupino E., Rinaudo M.T. TDP-43 redistribution is an early event in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Pathol.* 2010; 20 (2): 351–360. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2009.00284.x.
 72. Schipper L.J., Raaphorst J., Aronica E., Baas F., de Haan R., de Visser M., Troost D. Prevalence of brain and spinal cord inclusions, including dipeptide repeat proteins, in patients with the C9ORF72 hexanucleotide repeat expansion: a systematic neuropathological review. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2016; 42 (6): 547–560. DOI: 10.1111/nan.12284.
 73. Buratti E., Brindisi A., Giombi M., Tisminetzky S., Ayala Y.M., Baralle F.E. TDP-43 binds heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B through its C-terminal tail: an important region for the inhibition of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator exon 9 splicing. *J. Biol. Chem.* 2005; 280 (45): 37572–37584. DOI: 10.1074/jbc.M505557200.
 74. Kraemer B.C., Schuck T., Wheeler J.M., Robinson L.C., Trojanowski J.Q., Lee V.M., Schellenberg G.D. Loss of murine TDP-43 disrupts motor function and plays an essential role in embryogenesis. *Acta Neuropathol.* 2010; 119 (4): 409–419. DOI: 10.1007/s00401-010-0659-0.
 75. Chiang P.M., Ling J., Jeong Y.H., Price D.L., Aja S.M., Wong P.C. Deletion of TDP-43 down-regulates Tbc1d1, a gene linked to obesity, and alters body fat metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107 (37): 16320–16324. DOI: 10.1073/pnas.1002176107.
 76. Ash P.E., Zhang Y.J., Roberts C.M., Saldi T., Hutter H., Buratti E., Petrucelli L., Link C.D. Neurotoxic effects of TDP-43 overexpression in *C. elegans*. *Hum. Mol. Genet.* 2010; 19 (16): 3206–3218. DOI: 10.1093/hmg/ddq230.
 77. Kabashi E., Lin L., Tradewell M.L., Dion P.A., Bercier V., Bourgouin P., Rochefort D., Bel Hadj S., Durham H.D., Vande

- Velde C., Rouleau G.A., Drapeau P. Gain and loss of function of ALS-related mutations of TARDBP (TDP-43) cause motor deficits *in vivo*. *Hum. Mol. Genet.* 2010; 19 (4): 671–683. DOI: 10.1093/hmg/ddp534.
78. Xu Y.F., Zhang Y.J., Lin W.L., Cao X., Stetler C., Dickson D.W., Lewis J., Petrucelli L. Expression of mutant TDP-43 induces neuronal dysfunction in transgenic mice. *Mol. Neurodegener.* 2011; 6: 73. DOI: 10.1186/1750-1326-6-73.
79. Koyama A., Sugai A., Kato T., Ishihara T., Shiga A., Toyoshima Y., Koyama M., Konno T., Hirokawa S., Yokoseki A., Nishizawa M., Kakita A., Takahashi H., Onodera O. Increased cytoplasmic TARDBP mRNA in affected spinal motor neurons in ALS caused by abnormal autoregulation of TDP-43. *Nucleic. Acids Res.* 2016; 44 (12): 5820–5836. DOI: 10.1093/nar/gkw499.
80. Highley J.R., Kirby J., Jansweijer J.A., Webb P.S., Hewamadduma C.A., Heath P.R., Higginbottom A., Raman R., Ferraiuolo L., Cooper-Knock J., McDermott C.J., Wharton S.B., Shaw P.J., Ince P.G. Loss of nuclear TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) causes altered expression of splicing machinery and widespread dysregulation of RNA splicing in motor neurones. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2014; 40 (6): 670–685. DOI: 10.1111/nan.12148.
81. Klim J.R., Williams L.A., Limone F., Guerra San Juan I., Davis-Dusenbery B.N., Mordes D.A., Burberry A., Steinbaugh M.J., Gamage K.K., Kirchner R., Moccia R., Cassel S.H., Chen K., Wainger B.J., Woolf C.J., Eggan K. ALS-implicated protein TDP-43 sustains levels of STMN2, a mediator of motor neuron growth and repair. *Nat. Neurosci.* 2019; 22 (2): 167–179. DOI: 10.1038/s41593-018-0300-4.
82. Buratti E. TDP-43 post-translational modifications in health and disease. *Expert. Opin. Ther. Targets.* 2018; 22 (3): 279–293. DOI: 10.1080/14728222.2018.1439923.
83. Farg M.A., Sundaramoorthy V., Sultana J.M., Yang S., Atkinson R.A., Levina V., Halloran M.A., Gleeson P.A., Blair I.P., Soo K.Y., King A.E., Atkin J.D. C9ORF72, implicated in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia, regulates endosomal trafficking. *Hum. Mol. Genet.* 2014; 23 (13): 3579–3595. DOI: 10.1093/hmg/ddu068.
84. Waite A.J., Bäumer D., East S., Neal J., Morris H.R., Ansorge O., Blake D.J. Reduced C9orf72 protein levels in frontal cortex of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal degeneration brain with the C9ORF72 hexanucleotide repeat expansion. *Neurobiol. Aging.* 2014; 35 (7): 1779.e5–1779.e13. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.016.
85. Koppers M., Blokhuis A.M., Westeneng H.J., Terpstra M.L., Zundel C.A., Vieira de Sá R., Schellevis R.D., Waite A.J., Blake D.J., Veldink J.H., van den Berg L.H., Pasterkamp R.J. C9orf72 ablation in mice does not cause motor neuron degeneration or motor deficits. *Ann. Neurol.* 2015; 78 (3): 426–438. DOI: 10.1002/ana.24453.
86. Sareen D., O'Rourke J.G., Meera P., Muhammad A.K., Grant S., Simpkinson M., Bell S., Carmona S., Ormelas L., Sahabian A., Gendron T., Petrucelli L., Baughn M., Ravits J., Harms M.B., Rigo F., Bennett C.F., Otis T.S., Svendsen C.N., Baloh R.H. Targeting RNA foci in iPSC-derived motor neurons from ALS patients with a C9ORF72 repeat expansion. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5 (208): 208ra149. DOI: 10.1126/scitranslmed.3007529.
87. Barker H.V., Niblock M., Lee Y.B., Shaw C.E., Gallo J.M. RNA misprocessing in C9orf72-Linked neurodegeneration. *Front. Cell Neurosci.* 2017; 11: 195. DOI: 10.3389/fncel.2017.00195.
88. Ash P.E., Bieniek K.F., Gendron T.F., Caulfield T., Lin W.L., DeJesus-Hernandez M., van Blitterswijk M.M., Jansen-West K., Paul J.W., Rademakers R., Boylan K.B., Dickson D.W., Petrucelli L. Unconventional translation of C9ORF72 GGGGCC expansion generates insoluble polypeptides specific to c9FTD/ALS. *Neuron.* 2013; 77 (4): 639–646. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.02.004.
89. Todd T.W., Petrucelli L. Insights into the pathogenic mechanisms of Chromosome 9 open reading frame 72 (C9orf72) repeat expansions. *J. Neurochem.* 2016; 138(1): 145–162. DOI: 10.1111/jnc.13623.
90. Fratta P., Mizielinska S., Nicoll A.J., Zloh M., Fisher E.M., Parkinson G., Isaacs A.M. C9orf72 hexanucleotide repeat associated with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia forms RNA G-quadruplexes. *Sci. Rep.* 2012; 2: 1016. DOI: 10.1038/srep01016.

Сведения об авторах

Савинова Алина Валерьевна, врач-невролог, ординатор, НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-7036-5326.

Шнайдер Наталья Алексеевна, д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, отделение персонализированной психиатрии и неврологии, НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева, г. Санкт-Петербург; невролог, неврологический центр эпилептологии, нейрогенетики и исследования мозга, Университетская клиника, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-2840-837X.

Насырова Регина Фаритовна, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, руководитель отделения персонализированной психиатрии и неврологии, НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева, г. Санкт-Петербург; гл. науч. сотрудник, научно-исследовательская лаборатория OpenLab «Генные и клеточные технологии», Институт фундаментальной медицины и биологии, КФУ, г. Казань. ORCID 0000-0003-1874-9434.

(✉) **Насырова Регина Фаритовна**, e-mail: nreginaf77@gmail.com

Поступила в редакцию 03.03.2020

Подписана в печать 29.09.2020

МикроРНК: роль в патофизиологии фибрилляции предсердий и возможности использования в качестве биомаркера

Чаулин А.М., Дупляков Д.В.

Самарский государственный медицинский университет
Россия, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

РЕЗЮМЕ

Проведен анализ современной медицинской литературы по базе данных PubMed – NCBI. Фибрилляция предсердий является широко распространенным и серьезным сердечно-сосудистым заболеванием. Патофизиологические механизмы, лежащие в основе развития фибрилляции предсердий, не совсем ясны. Кроме того, отсутствуют оптимальные биомаркеры для раннего выявления и оценки прогноза пациентов с фибрилляцией предсердий.

В последнее время внимание исследователей привлекли молекулы микрорибонуклеиновой кислоты (микроРНК). Накоплено немало данных, согласно которым они участвуют в патогенезе неврологических, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Рассмотрена роль микроРНК в патофизиологии фибрилляции предсердий. Также обсуждается возможность использования микроРНК в качестве биомаркеров для диагностики и прогнозирования фибрилляции предсердий.

Ключевые слова: микроРНК, фибрилляция предсердий, патофизиология, биомаркер, лабораторная диагностика.

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: Чаулин А.М., Дупляков Д.В. МикроРНК: роль в патофизиологии фибрилляции предсердий и возможности использования в качестве биомаркера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 203–212. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-203-212>.

Microrna: the role in the pathophysiology of atrial fibrillation and potential use as a biomarker

Chaulin A.M., Duplyakov D.V.

Samara State Medical University
89, Chapayevskaya Str., Samara, 443099, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the study was to analyze medical literature on the role of microRNA in the pathophysiology of atrial fibrillation and the possibilities of using microRNAs as biomarkers.

The analysis of modern medical literature was carried out using the PubMed – NCBI database.

Atrial fibrillation (AF) is a common and serious cardiovascular disease. The pathophysiological mechanisms underlying the development of atrial fibrillation are not entirely clear. In addition, there are no optimal biomarkers for early detection and assessment of the prognosis for patients with atrial fibrillation. Recently, the attention of researchers has been directed to the molecules of microRNA. There is a lot of evidence that they are involved in the pathogenesis of neurological, oncological, and cardiovascular diseases. This review examines the role of microRNAs in the pathophysiology of atrial fibrillation. The possibility of using microRNA as a biomarker for the diagnosis and prediction of atrial fibrillation is also discussed.

MicroRNAs play a crucial role in the pathophysiology of atrial fibrillation, regulating the mechanisms of atrial remodeling, such as electrical remodeling, structural remodeling, remodeling of the autonomic nervous system, and impaired regulation of calcium levels. The stability of microRNAs and the possibility to study them in various biological fluids and tissues, including blood, make these molecules a promising diagnostic biomarker for various cardiovascular diseases. The presented data clearly indicate that AF is associated with changes in the expression level of various microRNAs, which can be quantified using a polymerase chain reaction. Further research is required to assess the role of microRNAs as biomarkers for atrial fibrillation, in particular to establish precise reference limits.

Key words: microRNA, atrial fibrillation, pathophysiology, biomarker, laboratory diagnostics.

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: Chaulin A.M., Duplyakov D.V. MicroRNA: the role in the pathophysiology of atrial fibrillation and potential use as a biomarker. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 203–212. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-203-212>.

ВВЕДЕНИЕ

Фибрилляция предсердий (ФП) является наиболее распространенным устойчивым типом сердечной аритмии. Наиболее часто встречающимися факторами риска ФП являются сердечная недостаточность, диабет, артериальная гипертензия, гипертиреоз, ожирение, пол, а также наличие структурных заболеваний сердца [1].

Многие факторы риска ФП, включая генетические, молекулярные и экологические, способствуют развитию и других сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [2]. По последним данным, в мире насчитывается более 33 млн человек, страдающих ФП, при этом прослеживаются гендерные особенности заболеваемости – у мужчин частота возникновения ФП в 3 раза выше, чем у женщин [3].

Наиболее простым и часто используемым методом диагностики ФП является электрокардиография (ЭКГ), однако данный метод имеет весомый недостаток, заключающийся в кратковременности записи электрической активности сердца, что ограничивает диагностику у бессимптомных пациентов [4]. Существующие лабораторные биомаркеры повреждения миокарда (сердечные тропонины, натрийуретические пептиды, креатинфосфокиназа, лактатдегидрогеназа, аспатаминотрансфераза и др.) имеют низкую значимость в прогнозировании течения ФП

[5–7]. Повышение сердечных тропонинов при ФП происходит из-за повреждения кардиомиоцитов, которое провоцируется уменьшением кровоснабжения миокарда. Считается, что недостаточное кровоснабжение миокарда при ФП возникает как следствие укорочения фазы расслабления миокарда (диастолы) [7]. По одним данным, тропонины хорошо коррелируют со степенью тяжести аритмии и могут использоваться в качестве прогностических маркеров [8], а по другим сведениям – они малоэффективны [9]. Следовательно, существует необходимость поиска новых и более надежных биомаркеров для ранней диагностики ФП.

В последнее время в связи с открытием новых регуляторных молекул в качестве значимого фактора риска развития ФП также рассматривается генетический компонент [10, 11]. Микрорибонуклеиновые кислоты (микроРНК, англ. – miRNA) были впервые обнаружены группой исследователей под руководством R. Lee в 1993 г. у свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* [12]. МикроРНК представляют собой одноцепочечные рибонуклеиновые кислоты, не кодирующие протеин и состоящие примерно из 22 нуклеотидов [13]. Согласно данным ряда исследований, микроРНК играют жизненно важную роль в различных процессах развития организма животных и человека, включая рост, пролиферацию, дифференцировку и метаболизм клеток [14]. У млекопитающих

щих обнаружено около 2 200 различных микроРНК, которые регулируют примерно треть кодирующих белок генов [15]. Сообщается, что изменение уровня экспрессии микроРНК связано с различными патологическими состояниями, такими как неврологические заболевания, аутоиммунные заболевания, ССЗ и рак. Например, изменение характера экспрессии микроРНК может способствовать трансформации нормальных клеток в злокачественные [16].

Процесс ремоделирования сердца ассоциирован с изменениями экспрессии микроРНК в тканях сердца и крови, при этом уровни микроРНК обладали прогностической и диагностической значимостью [17–19]. Также сообщалось, что модуляция экспрессии микроРНК снижает или увеличивает восприимчивость к развитию ФП *in vivo*. Следовательно, микроРНК могут быть потенциальной мишенью для воздействия терапевтических средств, используемых для лечения ФП [20]. Понимание патофизиологических механизмов, регулируемых микроРНК, является важным шагом для совершенствования диагностических и лечебных стратегий при ФП.

РОЛЬ микроРНК В ПАТОФИЗИОЛОГИИ ФП

Согласно последним данным, микроРНК играют решающую роль в патофизиологии ФП, регулируя механизмы ремоделирования предсердий. Снижение и усиление экспрессии микроРНК генетически запрограммированы и в нормальных условиях способствуют развитию сердечно-сосудистой системы человека и животных. В то же время изменение уровня экспрессии микроРНК в циркулирующей крови и тканях может происходить и в патологических условиях, связанных с развитием различных ССЗ, включая ФП, которые приводят к ремоделированию миокарда.

К настоящему времени, благодаря многочисленным экспериментальным и клиническим исследованиям, накоплены сведения о роли микроРНК в патогенезе ФП. Можно выделить следующие основные патогенетические звенья инициации и прогрессирования ФП, в регуляции которых участвует микроРНК: электрическое ремоделирование, структурное ремоделирование, ремоделирование вегетативной нервной системы сердца и нарушение внутриклеточного гомеостаза ионов кальция (Ca^{2+}). Последовательному обсуждению участию микроРНК в каждом из данных механизмов посвящена основная часть статьи.

Электрическое ремоделирование при ФП, опосредованное микроРНК

Электрическое ремоделирование кардиомиоцитов является наиболее распространенным изменением, связанным с ФП. Электрическое ремоделирова-

ние происходит за счет уменьшения проводимости тока кальция L-типа (ICaL) и увеличения проводимости внутреннего выпрямляющего калиевого тока (IK1). Изменение электрических свойств Ca^{2+} -активируемых калиевых каналов и ионных каналов коннексина 40, коннексина 43 также вызывает связанное с ФП электрическое ремоделирование [21]. В процессе электрического ремоделирования участвуют несколько различных микроРНК: микроРНК-1, микроРНК-328 и микроРНК-499, каждая из которых проявляет несколько специфических свойств.

МикроРНК-1 обильно экспрессируется в сердечной и скелетной мышцах и играет важную роль в эмбриогенезе (развитии) мышечных тканей. Обнаружено, что микроРНК-1 способствует дифференцировке и пролиферации миоцитов [22]. Изменение экспрессии микроРНК-1 сказывается на электрофизиологии сердца, повышая риск развития сердечных аритмий. Так, исследование на кроличьей модели предсердной тахикардии показало, что гиперэкспрессия микроРНК-1 укорачивает индуцированную тахикардией предсердный эффективный рефрактерный период и увеличивает калиевый выпрямляющий ток (IKs) за счет снижения экспрессии генов *KCNE1* и *KCNB2*, кодирующих субъединицы калиевых каналов.

Нокдаун (инактивация) микроРНК-1, напротив, ослабляет подавление генов *KCNE1* и *KCNB2*, укорочение предсердного эффективного периода и увеличение IKs . Тем самым было установлено, что *KCNE1* и *KCNB2* являются генами-мишенями для микроРНК-1. Также высказано предположение, что целенаправленное подавление этих генов калиевых каналов усиливает продолжительность и частоту возникновения ФП. Таким образом, в исследовании продемонстрирована критическая роль микроРНК-1 в процессе электрического ремоделирования предсердий и клиническая значимость микроРНК-1 в качестве потенциальной терапевтической мишени для ФП [23]. В другом исследовании изучалась экспрессия специфических для сердечной мышцы микроРНК, в том числе микроРНК-1 в правом предсердии послеоперационных пациентов. Было выявлено, что после операции аортокоронарного шунтирования экспрессия микроРНК-1 в ткани миокарда правого предсердия повышается, и это способствует послеоперационному апоптозу кардиомиоцитов, а также играет важную роль в развитии послеоперационной ФП.

Послеоперационная ФП является серьезным осложнением кардиохирургических вмешательств и связана с неблагоприятным прогнозом. Однако не выявлено различий в уровне микроРНК-1 в плазме крови между пациентами с послеоперационной ФП и пациентами с синусовым ритмом или без ФП

в анамнезе [24]. Некоторые исследования показали, что экспрессия микроРНК-1 у пожилых пациентов с ФП ниже, чем у молодых пациентов с синусовым ритмом. Снижение экспрессии микроРНК-1 приводит к активации транскрипции *HCN2* и *HCN4* – генов, кодирующих активируемые гиперполяризацией циклические нуклеотид-зависимые калиевые каналы. Таким образом, установлено, что экспрессия микроРНК-1 снижается с возрастом; а экспрессия *HCN2* и *HCN4*, напротив, увеличивается, и это способствует электрофизиологическим изменениям, повышая вероятность развития ФП [25].

У пациентов с персистирующей формой ФП наблюдалось снижение экспрессии микроРНК-1, усиление экспрессии субъединиц Kir2.1 калиевого канала и соответствующее повышение проводимости IK1. Это приводит к замедлению сердечной проводимости и увеличивает риск индукции ФП [26]. Ряд исследований подтверждают связь между уровнем экспрессии микроРНК-1 и возникновением аритмий [25–28]. В частности, было показано, что микроРНК-1 модулирует электрическое ремоделирование сердца за счет снижения концентрации внутриклеточных ионов кальция, которые в конечном итоге снижают экспрессию *CACNB2* [27]. Кроме того, отрицательная регуляция Ca^{2+} -регуляторных белков, таких как кальмодулин, белковая фосфатаза 2A (PP2A), $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник (NCX) и фосфоламбан, вносит свой вклад в патогенез ФП путем укорочения предсердного эффективного рефрактерного периода [28].

МикроРНК-328 также вовлечены в процесс ремоделированию предсердий. В исследовании Y. Lu и соавт. показано, что уровень экспрессии микроРНК-328 в миокарде предсердий у животных и пациентов с ФП был выше в несколько раз по сравнению с контрольными группами [29]. Активация микроРНК-328 снижает экспрессию генов *CACNA1C* и *CACNB1*, кодирующих субъединицы кальциевых каналов L-типа, что приводит к снижению I_{CaL} и, как следствие, сокращению продолжительности потенциала действия, что предрасполагает к развитию ФП [29, 30].

В другом исследовании сообщалось, что уровень микроРНК-328 в плазме крови пациентов с ФП выше, чем в плазме крови контрольных субъектов. Примечательно, что уровень экспрессии микроРНК-328 у пациентов с ФП также различался в зависимости от места забора крови. Так, в плазме крови, полученной из левого предсердного придатка, уровень микроРНК-328 был выше, чем в периферической крови и крови, взятой из легочной вены [31]. Авторы этой работы высказали предположение, что локализован-

ная экспрессия микроРНК-328 в левом предсердии может быть вовлечена в процесс ремоделирования сердца у пациентов с ФП.

МикроРНК-499. Сравнительное исследование пациентов с постоянной формой ФП и пациентов с нормальным синусовым ритмом показало, что активация микроРНК-499 заметно подавляет экспрессию сердечного SK3 (активируемый кальцием калиевый канал малой проводимости 3) путем нацеливания на ген *KCNV3* [32]. Кроме того, сообщалось, что микроРНК-499 снижает экспрессию гена *CACNB2*, кодирующего субъединицу кальциевых каналов L-типа, что способствует развитию ФП [33]. Экспрессия микроРНК-499 у пациентов с ФП с быстрым ритмом желудочков была в 2,3 раза выше, чем у пациентов с ФП с медленным ритмом желудочков и у пациентов контрольной группы [34].

Структурное ремоделирование при ФП, опосредованное микроРНК

МикроРНК, которые участвуют в структурном ремоделировании, регулируют гены, кодирующие белки, ответственные за формирование внеклеточного матрикса и способствуют фиброзу предсердий, регулируя про- и антифибротические сигнальные пути [35]. Эти микроРНК в основном участвуют в снижении скорости проводимости и увеличении интервала реэнтрантной активности [36]. В структурном ремоделировании сердца при ФП принимают участие следующие микроРНК: микроРНК-21, микроРНК-29, микроРНК-126, микроРНК-150 и микроРНК-483.

МикроРНК-21. Экспрессия микроРНК-21 повышается в кардиомиоцитах у пациентов с постоянной формой ФП [37]. Это вызывает снижение экспрессии генов *CACNA1C* и *CACNB2*, кодирующих две субъединицы потенциал-управляемых кальциевых каналов, что приводит к уменьшению I_{CaL} [37]. Повышенная экспрессия микроРНК-21 в фибробластах увеличивает риск сердечного фиброза и ассоциированной с ним ФП. По данным O. Adam с соавт., усиление экспрессии микроРНК-21 в миокарде крыс и людей с ФП увеличивает активность митоген-активируемой протеинкиназы/внеклеточных регулируемых сигналом киназ (MAPK/ERK-сигнальный путь), который способствует ремоделированию предсердий и фиброзу [38].

Введение антагониста микроРНК-21 *in vivo* потенциально снижает фиброз предсердий и риск развития ФП [39]. Кроме того, повышенная экспрессия микроРНК-21 способствует ремоделированию предсердий в экспериментальной модели на крысах путем активации фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), что

приводит к ингибированию экспрессии гена *PTEN* [40]. Следовательно, подавление сигнальных путей, связанных с микроРНК-21, может быть новым подходом для терапии ФП [39, 40].

МикроРНК-29 играет критическую роль в ремоделировании белков внеклеточного матрикса [41] путем регуляции генов *COL1A1*, *COL3A1*, *FBN1*, кодирующих коллаген-1A1, коллаген-3A1 и фибриллин. Уровень микроРНК-29 в плазме у пациентов с ФП и у пациентов, одновременно страдающих хронической сердечной недостаточностью и ФП, значительно ниже, чем в контрольной группе. У мышей аденовирус-опосредованное ингибирование микроРНК-29 заметно увеличивает экспрессию матричной РНК предсердного *COL1A1* и содержание коллагена в сердечной ткани, что указывает на потенциальную роль микроРНК-29 в фиброзном ремоделировании предсердий [42].

МикроРНК-126 играет активную роль в ангиогенезе, регулируя экспрессию эпидермального фактора роста, подобного домену 7 (EGFL7). Показано, что микроРНК-126 обильно экспрессируется в сердце человека и определяется в значительных количествах в сыворотке крови [43]. Уровень микроРНК-126 у пациентов с ФП заметно ниже, чем у контрольных субъектов. Кроме того, уровень микроРНК-126 у пациентов, одновременно страдающих сердечной недостаточностью и ФП, значительно ниже, чем у пациентов, которые страдали только сердечной недостаточностью, или пациентов, у которых только ФП. Экспрессия микроРНК-126 положительно коррелировала с фракцией выброса левого желудочка ($r = 0,374$; $p < 0,01$) и отрицательно – с уровнем N-концевого пропептида натрийуретического гормона ($r = -0,783$; $p < 0,01$). Это указывает на связь между уровнем микроРНК-126 в сыворотке крови и тяжестью заболевания [44].

МикроРНК-150 играет важную роль в патогенезе ФП. Экспрессия микроРНК-150 была низкой в тромбоцитах и сыворотке пациентов с хронической систолической сердечной недостаточностью с ФП или без нее. Уровень экспрессии микроРНК-150 в тромбоцитах пациентов с ФП снижается примерно в 3,2 раза по сравнению с тромбоцитами контрольных субъектов. Точно так же уровень микроРНК-150 в сыворотке крови у пациентов с ФП в 1,5 раза ниже, чем у пациентов с сердечной недостаточностью, но без ФП. Кроме того, содержание микроРНК-150 в сыворотке крови тесно коррелировало с уровнем микроРНК-150 в тромбоцитах ($r = 0,65$; $p = 0,0087$). Исследователи предположили, что более низкий уровень микроРНК-150 в тромбоцитах может способствовать их активации и играть

роль в формировании протромботического состояния при ФП [45].

В проспективном исследовании изучали экспрессию микроРНК-150 в плазме крови и ткани предсердий у пациентов с ФП и без ФП и у пациентов, перенесших абляцию сердца. Уровень микроРНК-150 в плазме у пациентов с ФП был в 2 раза ниже, чем у контрольных субъектов. Кроме того, уровень микроРНК-150 в плазме у пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий был ниже, чем у пациентов с персистирующей ФП. Уровень экспрессии микроРНК-150 через 1 мес после операции абляции сердца по поводу ФП был в 3 раза выше, чем до абляции [46]. По данным Z. Liu и соавт., снижение уровня микроРНК-150 у пациентов с ФП было связано с повышением экспрессии воспалительных цитокинов и медиаторов: интерлейкина (ИЛ) 6, ИЛ-18, фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), трансформирующего фактора роста бета (TGF β) и С-реактивного белка (СРБ). У пациентов с ФП уровень микроРНК-150 тесно коррелировал с СРБ ($r = 0,77$) [18].

МикроРНК-483. Уровень циркулирующих в крови микроРНК-483 может быть потенциальным биомаркером риска развития ФП у послеоперационных пациентов [47]. Установлено, что активация транскрипции гена *IGF2*, кодирующего инсулиноподобный фактор роста, является результатом избыточной экспрессии микроРНК-483. А это, в свою очередь, усиливает экспрессию провоспалительных медиаторов путем регуляции путей, опосредованных ИЛ-6, и ядерным фактором каппа-В (NF- κ B). У пациентов с более высоким уровнем экспрессии микроРНК-483 в сыворотке до операции аортокоронарного шунтирования риск развития послеоперационной ФП оказался выше [47]. Это говорит о том, что микроРНК-483 может быть потенциальным биомаркером для прогнозирования раннего развития послеоперационной ФП.

РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ СЕРДЦА ПРИ ФП, ОПОСРЕДОВАННОЕ микроРНК

Как известно, изменение электрической активности сердца тесно связано со стимуляцией блуждающего нерва и высвобождением ацетилхолина, приводящим к сокращению продолжительности потенциала действия, способствуя прогрессированию ФП [48]. Модуляция активности вегетативной нервной системы является весьма ценной и перспективной стратегией в терапии предсердных аритмий. Показано, что в ремоделировании вегетативной нервной системы сердца при ФП задействованы, по крайней мере, две микроРНК – микроРНК-30 и микроРНК-206.

МикроРНК-30. Дисрегуляция вегетативной нервной системы сердца, опосредованная микроРНК-30, играет фундаментальную роль в инициации и поддержании ФП за счет увеличения тока через G-белок-связанные калиевые каналы внутреннего выпрямления (IKACH), который уменьшает продолжительность потенциала действия [49]. Повышение уровня экспрессии микроРНК-30 вызывало угнетение экспрессии гена *KCNJ3* и снижение ацетилхолин-зависимого калиевого тока (IK⁺, ACh) у пациентов с персистирующей ФП [50].

МикроРНК-206. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано, что сверхэкспрессия микроРНК-206 в вегетативных ганглиях подавляет экспрессию гена *SOD1*, кодирующего фермент антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазу, что приводит к увеличению образования активных форм кислорода и сокращению предсердного эффективного рефрактерного периода [51]. Это исследование подтвердило взаимосвязь между перепроизводством активных форм кислорода и повышенной предрасположенностью к развитию ФП. Также сообщалось, что повышение экспрессии микроРНК-206 в экспериментальной модели на собаках подавляет ген *GCH1*, который кодирует ГТФ-циклогидролазу I – ключевой фермент в синтезе *de novo* тетрагидробиоптерина, являющегося коферментом для синтеза оксида азота. Уменьшение содержания тетрагидробиоптерина и оксида азота в предсердиях сопровождалось сокращением предсердного эффективного рефрактерного периода, что способствовало развитию ФП. Гиперэкспрессия гена *GCH1*, напротив, предотвращала развитие ФП [52]. Тем самым в данном исследовании было показано, что микроРНК-206-опосредованное ингибирование гена *GCH1* способствует возникновению ФП. Дальнейшее изучение и уточнение данного механизма является перспективным направлением в плане разработки терапии.

НАРУШЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ГОМЕОСТАЗА ИОНОВ Ca^{2+} ПРИ ФП, ОПОСРЕДОВАННОЕ микроРНК

Изменение экспрессии микроРНК в сердце влияет на гомеостаз ионов Ca^{2+} в кардиомиоцитах, приводя к возникновению задержанной постдеполяризации [53]. Задержанная постдеполяризация является результатом усиленного диастолического высвобождения Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума через рианодиновый рецептор 2 (RyR2) и способствует выходу Ca^{2+} через натрий-кальцевый обменник [54]. Нарушение регуляции внутриклеточного гомеостаза ионов Ca^{2+} опосредовано несколькими микроРНК: микроРНК-106, микроРНК-208.

МикроРНК-106. В экспериментальном исследовании было показано, что микроРНК-106 подавляет трансляцию (биосинтез) RyR2, а снижение экспрессии микроРНК-106, наблюдаемое в миокарде предсердий при ФП, активирует экспрессию RyR2, который повышает высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума, способствуя патогенезу ФП. Так, у нокаутированных по микроРНК-106 мышей происходило спонтанное увеличение высвобождения Ca^{2+} через RyR2, что вызывало повышенную частоту развития эктопии предсердий и ФП [55].

МикроРНК-208. Показано, что микроРНК-208 играет важную роль в регуляции уровня Са. Повышение экспрессии микроРНК-208 в предсердных миоцитах, полученных от пациентов с ФП, связано со снижением экспрессии Са-АТФ-азы саркоплазматического ретикулума (SERCA2a), который необходим для транспорта ионов Ca^{2+} из цитозоля в саркоплазматический ретикулум. Кроме того, повышенные уровни микроРНК-208 снижают экспрессию субъединиц Ca^{2+} -канала L-типа (CACNA1C и CACNB2) [56].

Рассмотренные выше данные о роли микроРНК в патофизиологии ФП и возможности использования в качестве биомаркера представлены в таблице.

Таблица

Роль микроРНК в патофизиологии ФП и возможности использования в качестве биомаркера				
Патофизиологический механизм	МикроРНК	Мишень и эффект	Связь повышенных/пониженных уровней микроРНК с ФП	Источник
Электрическое ремоделирование	МикроРНК-1	Снижение экспрессии <i>KCNE1</i> и <i>KCNB2</i> , <i>HCN2</i> , <i>HCN4</i>	Как повышение, так и снижение уровня микроРНК-1 может быть связано с ФП	[23–26]
	МикроРНК-328	Снижение экспрессии генов <i>CACNA1C</i> и <i>CACNB1</i>	Повышение уровня связано с ФП	[29–31]
	МикроРНК-499	Снижение экспрессии <i>KCNN3</i> и <i>CACNB2</i>	Повышение уровня связано с ФП	[32–34]
Структурное ремоделирование	МикроРНК-21	Снижение экспрессии <i>CACNA1C</i> , <i>CACNB2</i> , <i>PTEN</i>	Повышение уровня связано с ФП	[37–40]
	МикроРНК-29	Снижение экспрессии <i>COL1A1</i> , <i>COL3A1</i> , <i>FBN1</i>	Снижение уровня связано с ФП	[41], [42]
	МикроРНК-126	Снижение экспрессии <i>EGFL7</i>	Снижение уровня связано с ФП	[43], [44]

Окончание табл.

Патофизиологический механизм	МикроРНК	Мишень и эффект	Связь повышенных/пониженных уровней микроРНК с ФП	Источник
Структурное ремоделирование	МикроРНК-150	Снижение экспрессии ИЛ-6, ИЛ-18, ФНО- α , TGF β , СРБ	Снижение уровня связано с ФП	[18, 45]
	МикроРНК-483	Повышение экспрессии <i>IGF2</i>	Повышение уровня связано с ФП	[47]
Ремоделирование вегетативной нервной системы	МикроРНК-30	Снижение экспрессии <i>KCNJ3</i>	Повышение уровня связано с ФП	[50]
	МикроРНК-206	Снижение экспрессии <i>SOD1</i> и <i>GCH1</i>	Повышение уровня связано с ФП	[51], [52]
Нарушение регуляции уровня кальция	МикроРНК-106	Снижение экспрессии <i>RYR2</i>	Снижение уровня связано с ФП	[55]
	МикроРНК-208	Снижение экспрессии <i>SERCA2a</i> , <i>CACNA1C</i> , <i>CACNB2</i>	Повышение уровня связано с ФП	[56]

МИКРОРНК КАК БИОМАРКЕРЫ ФП

Экспрессия микроРНК в ткани и крови может быть использована в качестве биомаркера при различных заболеваниях. По данным Национального института здравоохранения США и Всемирной организации здравоохранения, биомаркером является биологическая молекула или ее продукты, которые можно измерять в крови, тканях или других жидкостях организма в качестве индикатора нормального и ненормального функционирования организма, или это может предсказать заболеваемость. В настоящее время не существует подходящих биомаркеров для первичной диагностики ФП. Использование натрий-уретических пептидов и сердечных тропонинов, имеющих весьма высокую ценность при ряде ССЗ (инфаркте миокарда, сердечной недостаточности и др.), малоэффективно в отношении диагностики и прогноза ФП [6]. В то же время высокая стабильность, чувствительность, специфичность и прогностические свойства циркулирующих микроРНК делают их привлекательными биомаркерами для ранней диагностики многочисленных заболеваний, в том числе и ФП [57].

МикроРНК очень стабильны в экстремальных условиях, таких как изменение кислотности среды (рН), высокая или низкая температура, они могут выдерживать многократно повторяющиеся циклы замораживания – оттаивания. МикроРНК могут быть легко обнаружены с высокой специфичностью и чувствительностью в сыворотке и плазме крови при помощи полимеразной цепной реакции [58]. Поскольку микроРНК связаны с липопротеинами высокой плотности или включены в микровезикулы, экзосомы и апоптотические тела, они устойчивы к активности РНКазы. Однако экзогенные микроРНК быстро разлагаются РНКазой в плазме. Стабильность микроРНК и возможность их обнаружения во многих биологических жидкостях делают микроРНК перспективными биомаркерами для многих ССЗ, включая ФП [59, 60].

В многочисленных исследованиях показано, что определенные типы микроРНК, ответственные за

регуляцию генов и ремоделирование сердца, в частности микроРНК-1 [24–28], микроРНК-328 [29–31], микроРНК-499 [32–34], микроРНК-21 [37–40], микроРНК-150 [45, 46] и ряд других (см. таблицу) могут стать новым классом диагностических и прогностических биомаркеров для ФП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Через влияние на электрическое и структурное ремоделирование предсердий, ремоделирование вегетативной нервной системы сердца и нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция микрорибонуклеиновые кислоты создают предпосылки для возникновения фибрилляции предсердий. Стабильность и возможность исследования микроРНК в различных биологических жидкостях и тканях, включая кровь, делают их многообещающими диагностическими биомаркерами для ФП. Необходимы дальнейшие исследования для оценки роли микроРНК в качестве новых биомаркеров развития ФП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lee S.H., Park S.J., Byeon K., On Y.K., Kim J.S., Shin D.G., Cho J.G., Kim Y.N., Kim Y.H., KORAF Investigators. Risk factors between patients with lone and non-lone atrial fibrillation. *J. Korean Med Sci.* 2013; 28 (8): 1174–1180. DOI: 10.3346/jkms.2013.28.8.1174.
2. Pellman J., Sheikh F. Atrial fibrillation: mechanisms, therapeutics, and future directions. *Compr. Physiol.* 2015; 5 (2): 649–665. DOI: 10.1002/cphy.c140047.
3. Ko D., Rahman F., Martins M.A., Hylek E.M., Ellinor P.T., Schnabel R.B., Benjamin E.J., Christophersen I.E. Atrial fibrillation in women: treatment. *Nat. Rev. Cardiol.* 2017; 14 (2): 113–124. DOI: 10.1038/nrcardio.2016.171.
4. Turagam M.K., Mirza M., Werner P.H., Sra J., Kress D.C., Tajik A.J., Jahangir A. Circulating biomarkers predictive of post-operative atrial fibrillation. *Cardiol Rev.* 2016; 24 (2): 76–87. DOI: 10.1097/CRD.0000000000000059.
5. Чаулин А.М., Карслян Л.С., Григорьева Е.В., Нурбалтаева Д.А., Дупляков Д.В. Клинико-диагностическая ценность кардиомаркеров в биологических жидкостях человека. *Кардиология.* 2019; 59 (11): 66–75. DOI: 10.18087/cardio.2019.11.n414.
6. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Повышение кардиальных тропонинов, не ассоциированное с острым коронарным

- синдромом. Часть 1. *Кардиология: новости, мнения, обучение*. 2019; 7 (2): 13–23. DOI: 10.24411/2309-1908-2019-12002.
7. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Повышение кардиальных тропонинов, не ассоциированное с острым коронарным синдромом. Часть 2. *Кардиология: новости, мнения, обучение*. 2019; 7 (2): 24–35. DOI: 10.24411/2309-1908-2019-12003.
8. Gonzalez-Del-Hoyo M., Cediel G., Carrasquer A., Bonet G., Vasquez-Nunez K., Boque C., Ali S., Bardaji A. Prognostic implications of troponin I elevation in emergency department patients with tachyarrhythmia. *Clin. Cardiol.* 2019; 42 (5): 546–552. DOI: 10.1002/clc.23175.
9. Zellweger M.J., Schaer B.A., Cron T.A., Pfisterer M.E., Oswald S. Elevated troponin levels in the absence of coronary artery disease after supraventricular tachycardia. *Swiss Med. Wkly.* 2003; 133 (31–32): 439–441.
10. Fox C.S., Parise H., D’Agostino R.B. Sr., Lloyd-Jones D.M., Vasan R.S., Wang T.J., Levy D., Wolf P.A., Benjamin E.J. Parental atrial fibrillation as a risk factor for atrial fibrillation in offspring. *JAMA.* 2004; 291 (23): 2851–2855. DOI: 10.1001/jama.291.23.2851.
11. Low S.K., Takahashi A., Ebana Y., Ozaki K., Christoffersen I.E., Ellinor P.T., AFGen Consortium, Ogishima S., Yamamoto M., Satoh M., Sasaki M., Yamaji T., Iwasaki M., Tsugane S., Tanaka K., Naito M., Wakai K., Tanaka H., Furukawa T., Kubo M., Ito K., Kamatani Y., Tanaka T. Identification of six new genetic loci associated with atrial fibrillation in the Japanese population. *Nat. Genet.* 2017; 49 (6): 953–958. DOI: 10.1038/ng.3842.
12. Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993; 75 (5): 843–854. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-y.
13. Kozomara A., Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42: 68–73. DOI: 10.1093/nar/gkt1181.
14. MacFarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Curr Genomics.* 2010; 11 (7): 537–561. DOI: 10.2174/138920210793175895.
15. Ardekani A.M., Naeini M.M. The role of microRNAs in human diseases. *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2010; 2 (4): 161–179.
16. Ha T.Y. MicroRNAs in human diseases: from cancer to cardiovascular disease. *Immune Netw.* 2011; 11 (3): 135–154. DOI: 10.4111/in.2011.11.3.135.
17. Van den Berg N.W.E., Kawasaki M., Berger W.R., Neefs J., Meulendijks E., Tijssen A.J., de Groot J.R. MicroRNAs in atrial fibrillation: from expression signatures to functional implications. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2017; 31 (3): 345–365. DOI: 10.1007/s10557-017-6736-z.
18. Liu Z., Zhou C., Liu Y., Wang S., Ye P., Miao X., Xia J. The expression levels of plasma microRNAs in atrial fibrillation patients. *PLoS One.* 2012; 7 (9): e44906. DOI: 10.1371/journal.pone.0044906.
19. Hodgkinson C.P., Kang M.H., Dal-Pra S., Mirotsoy M., Dzau V.J. MicroRNAs and cardiac regeneration. *Circ. Res.* 2015; 116 (10): 1700–1711. DOI: 10.1161/CIRCRESA-HA.116.304377.
20. Neudecker V., Brodsky K.S., Kreth S., Ginde A.A., Eltzschig H.K. Emerging roles for microRNAs in perioperative medicine. *Anesthesiology.* 2016; 124 (2): 489–506. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000969.
21. Chaldoupi S.M., Loh P., Hauer R.N., de Bakker J.M., van Rijen H.V. The role of connexin40 in atrial fibrillation. *Cardiovasc. Res.* 2009; 84 (1): 15–23. DOI: 10.1093/cvr/cvp203.
22. Chen J.F., Mandel E.M., Thomson J.M., Wu Q., Callis T.E., Hammond S.M., Conlon F.L., Wang D.Z. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat. Genet.* 2006; 38(2): 8228–8833. DOI: 10.1038/ng1725.
23. Jia X., Zheng S., Xie X., Zhang Y., Wang W., Wang Z., Zhang Y., Wang J., Gao M., Hou Y. MicroRNA-1 accelerates the shortening of atrial effective refractory period by regulating KCNE1 and KCNB2 expression: an atrial tachypacing rabbit model. *PLoS One.* 2013; 8 (12): e85639. DOI: 10.1371/journal.pone.0085639.
24. Tsoporis J.N., Fazio A., Rizos I.K., Izhar S., Proteau G., Salpeas V., Rigopoulos A., Sakadakis E., Toupoulis I.K., Parker T.G. Increased right atrial appendage apoptosis is associated with differential regulation of candidate MicroRNAs 1 and 133A in patients who developed atrial fibrillation after cardiac surgery. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2018; 121: 25–32. DOI: 10.1016/j.jmcc.2018.06.005.
25. Li Y.D., Hong Y.F., Yusufuaji Y., Tang B.P., Zhou X.H., Xu G.J., Li J.X., Sun L., Zhang J.H., Xin Q., Xiong J., Ji Y.T., Zhang Y. Altered expression of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels and microRNA-1 and -133 in patients with age-associated atrial fibrillation. *Mol. Med. Rep.* 2015; 12 (3): 3243–3248. DOI: 10.3892/mmr.2015.3831.
26. Girmatsion Z., Biliczki P., Bonauer A., Wimmer-Greinecker G., Scherer M., Moritz A., Bukowska A., Goette A., Nattel S., Hohnloser S.H., Ehrlich J.R. Changes in microRNA-1 expression and IK1 up-regulation in human atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2009; 6 (12): 1802–1809. DOI: 10.1016/j.hrthm.2009.08.035.
27. Lu Y., Hou S., Huang D., Luo X., Zhang J., Chen J., Xu W. Expression profile analysis of circulating microRNAs and their effects on ion channels in Chinese atrial fibrillation patients. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015; 8 (1): 845–853.
28. Santulli G., Iaccarino G., De Luca N., Trimarco B., Condorelli G. Atrial fibrillation and microRNAs. *Front. Physiol.* 2014; 5: 15. DOI: 10.3389/fphys.2014.00015.
29. Lu Y., Zhang Y., Wang N., Pan Z., Gao X., Zhang F., Zhang Y., Shan H., Luo X., Bai Y., Sun L., Song W., Xu C., Wang Z., Yang B. MicroRNA-328 contributes to adverse electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation.* 2010; 122 (23): 2378–2387. DOI: 10.1161/CIRCULATIONA-HA.110.958967.
30. Kim G.H. MicroRNA regulation of cardiac conduction and arrhythmias. *Transl. Res.* 2013; 161 (5): 381–392. DOI: 10.1016/j.trsl.2012.12.004.
31. Soeki T., Matsuura T., Bando S., Tobiume T., Uematsu E., Ise T., Kusunose K., Yamaguchi K., Yagi S., Fukuda D., Yamada H., Wakatsuki T., Shimabukuro M., Sata M. Relationship between local production of microRNA-328 and atrial

- substrate remodeling in atrial fibrillation. *J. Cardiol.* 2016; 68 (6): 472–477. DOI: 10.1016/j.jcc.2015.12.007.
32. Ling T.Y., Wang X.L., Chai Q., Lau T.W., Koestler C.M., Park S.J., Daly R.C., Greason K.L., Jen J., Wu L.Q., Shen W.F., Shen W.K., Cha Y.M., Lee H.C. Regulation of the SK3 channel by microRNA-499-potential role in atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2013; 10 (7): 1001–1009. DOI: 10.1016/j.hrthm.2013.03.005.
 33. Ling T.Y., Wang X.L., Chai Q., Lu T., Stulak J.M., Joyce L.D., Daly R.C., Greason K.L., Wu L.Q., Shen W.K., Cha Y.M., Lee H.C. Regulation of cardiac CACNB2 by microRNA-499: Potential role in atrial fibrillation. *BBA Clin.* 2017; 7: 78–84. DOI: 10.1016/j.bbacli.2017.02.002.
 34. Da Silva A.M.G., de Araujo J.N.G., de Oliveira K.M., Novaes A.E.M., Lopes M.B., de Sousa J.C.V., Filho A.A.A., Luchessi A.D., de Rezende A.A., Hirata M.H., Silbiger V.N. Circulating miRNAs in acute new-onset atrial fibrillation and their target mRNA network. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2018; 29 (8): 1159–1166. DOI: 10.1111/jce.13612.
 35. Xu J., Cui G., Esmailian F., Plunkett M., Marelli D., Ardehali A., Odum J., Laks H., Sen L. Atrial extracellular matrix remodeling and the maintenance of atrial fibrillation. *Circulation.* 2004; 109 (3): 363–368. DOI: 10.1161/01.CIR.0000109495.02213.52.
 36. Liu H., Chen G.X., Liang M.Y., Qin H., Rong J., Yao J.P., Wu Z.K. Atrial fibrillation alters the microRNA expression profiles of the left atria of patients with mitral stenosis. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2014; 14: 10. DOI: 10.1186/1471-2261-14-10.
 37. Barana A., Matamoros M., Dolz-Gaiton P., Pérez-Hernández M., Amoros I., Nunez M., Sacristán S., Pedraz Á., Pinto Á., Fernández-Avilés F., Tamargo J., Delpón E., Caballero R. Chronic atrial fibrillation increases microRNA-21 in human atrial myocytes decreasing L-type calcium current. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2014; 7 (5): 861–868. DOI: 10.1161/CIRCEP.114.001709.
 38. Adam O., Lohfelm B., Thum T., Gupta S.K., Puhl S.L., Schaffers H.J., Böhm M., Laufs U. Role of miR-21 in the pathogenesis of atrial fibrosis. *Basic. Res. Cardiol.* 2012; 107 (5): 278. DOI: 10.1007/s00395-012-0278-0.
 39. Thum T., Gross C., Fiedler J., Fischer T., Kissler S., Busse M., Galuppo P., Just S., Rottbauer W., Frantz S., Castoldi M., Soutschek J., Kotliarsky V., Rosenwald A., Basson M.A., Licht J.D., Pena J.T., Rouhanifard S.H., Muckenthaler M.U., Tuschl T., Martin G.R., Bauersachs J., Engelhardt S. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature.* 2008; 456 (7224): 980–984. DOI: 10.1038/nature07511.
 40. Zhang K., Zhao L., Ma Z., Wang W., Li X., Zhang Y., Yuan M., Liang X., Li G. Doxycycline attenuates atrial remodeling by interfering with microRNA-21 and downstream phosphatase and tensin homolog (PTEN)/phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling pathway. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 5580–5587. DOI: 10.12659/MSM.909800.
 41. Kriegel A.J., Liu Y., Fang Y., Ding X., Liang M. The miR-29 family: genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury. *Physiol. Genomics.* 2012; 44 (4): 237–244. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00141.2011.
 42. Dawson K., Wakili R., Ordog B., Clauss S., Chen Y., Iwasaki Y., Voigt N., Qi X.Y., Sinner M.F., Dobrev D., Käbb S., Nattel S. MicroRNA29: a mechanistic contributor and potential biomarker in atrial fibrillation. *Circulation.* 2013; 127 (14): 1466–1475, 1475e1–28. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.001207.
 43. Ishizaki T., Tamiya T., Taniguchi K., Morita R., Kato R., Okamoto F., Saeki K., Nomura M., Nojima Y., Yoshimura A. miR126 positively regulates mast cell proliferation and cytokine production through suppressing Spred1. *Genes. Cells.* 2011; 16 (7): 803–814. DOI: 10.1111/j.1365-2443.2011.01529.x.
 44. Wei X.J., Han M., Yang F.Y., Wei G.C., Liang Z.G., Yao H., Ji C.W., Xie R.S., Gong C.L., Tian Y. Biological significance of miR-126 expression in atrial fibrillation and heart failure. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2015; 48 (11): 983–989. DOI: 10.1590/1414-431X20154590.
 45. Goren Y., Meiri E., Hogan C., Mitchell H., Lebanony D., Salman N., Schliamser J.E., Amir O. Relation of reduced expression of MiR-150 in platelets to atrial fibrillation in patients with chronic systolic heart failure. *Am. J. Cardiol.* 2014; 113 (6): 976–981. DOI: 10.1016/j.amjcard.2013.11.060.
 46. McManus D.D., Tanriverdi K., Lin H., Esa N., Kinno M., Mandapati D., Tam S., Okike O.N., Ellinor P.T., Keaney J.F. Jr., Donahue J.K., Benjamin E.J., Freedman J.E. Plasma microRNAs are associated with atrial fibrillation and change after catheter ablation (the miRhythm study). *Heart Rhythm.* 2015; 12 (1): 3–10. DOI: 10.1016/j.hrthm.2014.09.050.
 47. Harling L., Lambert J., Ashrafian H., Darzi A., Gooderham N.J., Athanasiou T. Elevated serum microRNA 483-5p levels may predict patients at risk of post-operative atrial fibrillation. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2017; 51 (1): 73–78. DOI: 10.1093/ejcts/ezw245.
 48. Rao M., Hu J., Zhang Y., Gao F., Zhang F., Yang Z., Zhang X., Hou Y. Time-dependent cervical vagus nerve stimulation and frequency-dependent right atrial pacing mediates induction of atrial fibrillation. *Anatol. J. Cardiol.* 2018; 20 (4): 206–212. DOI: 10.14744/AnatolJCardiol.2018.73558.
 49. Shen M.J., Choi E.K., Tan A.Y., Lin S.F., Fishbein M.C., Chen L.S., Chen P.S. Neural mechanisms of atrial arrhythmias. *Nat. Rev. Cardiol.* 2011; 9 (1): 30–39. DOI: 10.1038/ncardio.2011.139.
 50. Morishima M., Iwata E., Nakada C., Tsukamoto Y., Takanaari H., Miyamoto S., Moriyama M., Ono K. Atrial fibrillation-mediated upregulation of miR-30d regulates myocardial electrical remodeling of the g-protein-gated K(+) channel, IK.ACh. *Circ. J.* 2016; 80 (6): 1346–1355. DOI: 10.1253/circj.CJ-15-1276.
 51. Zhang Y., Zheng S., Geng Y., Xue J., Wang Z., Xie X., Wang J., Zhang S., Hou Y. MicroRNA profiling of atrial fibrillation in canines: miR-206 modulates intrinsic cardiac autonomic nerve remodeling by regulating SOD1. *PLoS One.* 2015; 10 (3): e0122674. DOI: 10.1371/journal.pone.0122674.
 52. Wei J., Zhang Y., Li Z., Wang X., Chen L., Du J., Liu J., Liu J., Hou Y. GCH1 attenuates cardiac autonomic nervous remodeling in canines with atrial-tachypacing via tetrahydrobiopterin pathway regulated by microRNA-206. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 2018; 41 (5): 459–471. DOI: 10.1111/pace.13289.

53. Harada M., Luo X., Murohara T., Yang B., Dobrev D., Nattel S. MicroRNA regulation and cardiac calcium signaling: role in cardiac disease and therapeutic potential. *Circ. Res.* 2014; 114 (4): 689–705. DOI: 10.1161/CIRCRESA-HA.114.301798.
54. Denham N.C., Pearman C.M., Caldwell J.L., Madders G.W.P., Eisner D.A., Trafford A.W., Dibb K.M. Calcium in the pathophysiology of atrial fibrillation and heart failure. *Front. Physiol.* 2018; 9: 1380. DOI: 10.3389/fphys.2018.01380.
55. Chiang D.Y., Kongchan N., Beavers D.L., Alsina K.M., Voigt N., Neilson J.R., Jakob H., Martin J.F., Dobrev D., Wehrens X.H., Li N. Loss of microRNA-106b-25 cluster promotes atrial fibrillation by enhancing ryanodine receptor type-2 expression and calcium release. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2014; 7(6): 1214–1222. DOI: 10.1161/CIRCEP.114.001973.
56. Canon S., Caballero R., Herraiz-Martínez A., Perez-Hernández M., Lopez B., Atienza F., Jalife J., Hove-Madsen L., Delplón E., Bernad A. miR-208b upregulation interferes with calcium handling in HL-1 atrial myocytes: Implications in human chronic atrial fibrillation. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2016; 99: 162–173. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2016.08.012.
57. D'Alessandra Y., Devanna P., Limana F., Straino S., Di Carlo A., Brambilla P.G., Rubino M., Carena M.C., Spazzafumo L., De Simone M., Micheli B., Biglioli P., Achilli F., Martelli F., Maggiolini S., Marenzi G., Pompilio G., Capogrossi M.C. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2010; 31 (22): 2765–2773. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq167.
58. Widera C., Gupta S.K., Lorenzen J.M., Bang C., Bauersachs J., Bethmann K., Kempf T., Wollert K.C., Thum T. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2011; 51 (5): 872–875. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.07.011.
59. Zampetaki A., Willeit P., Drozdov I., Kiechl S., Mayr M. Profiling of circulating microRNAs: from single biomarkers to re-wired networks. *Cardiovasc. Res.* 2012; 93 (4): 555–562. DOI: 10.1093/cvr/cvr266.
60. Natsume Y., Oaku K., Takahashi K., Nakamura W., Oono A., Hamada S., Yamazoe M., Ihara K., Sasaki T., Goya M., Hirao K., Furukawa T., Sasano T. Combined analysis of human and experimental murine samples identified novel circulating microRNAs as biomarkers for atrial fibrillation. *Circ. J.* 2018; 82 (4): 965–973. DOI: 10.1253/circj.CJ-17-1194.

Сведения об авторах

Чаулин Алексей Михайлович, аспирант, ассистент, кафедра гистологии и эмбриологии, СамГМУ, г. Самара. ORCID 0000-0002-2712-0227.

Дупляков Дмитрий Викторович, д-р мед. наук, профессор, кафедра кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии, СамГМУ, г. Самара. ORCID 0000-0002-6453-2976.

(✉) **Чаулин Алексей Михайлович**, e-mail: alekseymichailovich22976@gmail.com

Поступила в редакцию 26.05.2020

Подписана в печать 29.09.2020

УДК 616.12-008.313.3-073.97-71-08
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-213-218>

Первый опыт использования неинвазивного картирования в режиме реального времени в условиях электрофизиологической лаборатории для лечения желудочковой аритмии

Артюхина Е.А., Дедух Е.В., Яшков М.В., Ревিশвили А.Ш.

*Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) хирургии им. А.В. Вишневского
Россия, 117997, г. Москва, Большая Серпуховская ул., 27*

РЕЗЮМЕ

Представлен клинический случай лечения желудочковой аритмии из выводного отдела правого желудочка с использованием неинвазивного электрофизиологического картирования в режиме реального времени и отечественной навигационной системы «Астрокард» (АО «Медитек», Россия). Данное клиническое наблюдение демонстрирует точность неинвазивного картирования в режиме реального времени для диагностики и лечения желудочковых нарушений ритма сердца.

Ключевые слова: неинвазивное многоканальное картирование сердца, электрофизиологическое картирование, желудочковые аритмии, радиочастотная абляция.

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00406).

Для цитирования: Артюхина Е.А., Дедух Е.В., Яшков М.В., Ревিশвили А.Ш. Первый опыт использования неинвазивного картирования в режиме реального времени в условиях электрофизиологической лаборатории для лечения желудочковой аритмии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 213–218. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-213-218>.

The first experience of using non-invasive real-time mapping in an electrophysiology laboratory for treatment of ventricular arrhythmia

Artyukhina E.A., Dedukh E.V., Yashkov M.V., Revishvili A.Sh.

*A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery
27, Bolshaya Serpukhovskaya Str., Moscow, 117997, Russian Federation*

ABSTRACT

A clinical case of treatment for ventricular arrhythmia from the right ventricular outflow tract using non-invasive real-time electrophysiological mapping and the “Astrocard” navigation system (“Meditek”, Russia) is presented. This clinical case demonstrates the accuracy of non-invasive real-time mapping for the diagnosis and treatment of ventricular arrhythmias.

✉ Дедух Елизавета Викторовна, e-mail: dedukh.elizaveta@mail.ru

Key words: non-invasive multichannel cardiac mapping, electrophysiological mapping, ventricular arrhythmias, radiofrequency ablation.

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 Russian Science Foundation grant (Project No. 19-15-00406).

For citation: Artyukhina E.A., Dedukh E.V., Yashkov M.V., Revishvili A.Sh. The first experience of using non-invasive real-time mapping in an electrophysiology laboratory for treatment of ventricular arrhythmia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 213–218. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-213-218>.

ВВЕДЕНИЕ

Радиочастотная катетерная абляция – это основной метод интервенционного лечения желудочковой экстрасистолии (ЖЭС). Она способствует улучшению качества жизни пациента и предотвращению развития кардиомиопатий и сердечной недостаточности [1]. Несмотря на то, что такие технологии, как трехмерное картирование, катетеры для абляции с мониторингом силы контакта, помогают операторам в картировании и устранении ЖЭС, эффективность и безопасность подобных операций по-прежнему зависит от локализации очага аритмии [2]. Также процесс картирования усложняет, а иногда делает невозможным возникновение «быстрых», неустойчивых и полиморфных желудочковых тахикардий. Алгоритмы диагностики с использованием электрокардиографии (ЭКГ) могут идентифицировать область происхождения желудочковых аритмий, но их пространственная локализация недостаточно точная, что объясняется различными факторами (ожирение пациента, особенности расположения сердца в грудной клетке и нарушения в размещении отведений ЭКГ) [3].

Более точным методом диагностики ЖЭС является неинвазивное картирование. Хотя эффективность неинвазивного картирования в топической диагностике ЖЭС, происходящей из выводного отдела правого желудочка (ВОПЖ), известна, и об этом сообщалось ранее [4, 5]. Методика, используемая в данном клиническом случае, применялась впервые для диагностики желудочковых нарушений ритма сердца. Данная методика позволяет картировать правый и левый желудочки в режиме реального времени (интраоперационно) и идентифицировать по абсолютному местоположению локализацию очага экстрасистолии.

Цель данного клинического наблюдения – проверить этот метод, сравнив расчетный очаг происхождения ЖЭС на карте, полученной в результате неинвазивного картирования в режиме реального

времени, и локализацию очага на системе трехмерного навигационного картирования во время катетерной абляции.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент А., 64 года, обратился с жалобами на ощущение перебоев в работе сердца, приступы внезапного учащенного сердцебиения, утомляемость.

Анамнез заболевания. С молодого возраста – приступы внезапного учащенного сердцебиения. Во время выполнения планового медицинского осмотра выявлены желудочковые экстрасистолы на электрокардиограмме. В течение последних месяцев приступы участились, стала беспокоить повышенная утомляемость.

Дооперационное обследование. ЭКГ – синусовый ритм, частая ЖЭС с морфологией блокады левой ножки пучка Гиса (рис. 1).

Суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру. Основной ритм синусовый, средняя частота 81 уд./мин. Одиночные ЖЭС 28 937; бигеминия 58; парные ЖЭС 42; пробежки неустойчивой желудочковой тахикардии (ЖТ) 9. Наибольшая по продолжительности ЖТ состояла из 26 комплексов.

Эхокардиография. Правый желудочек – приносящий тракт: 28 мм. Фракция выброса (ФВ) по Симпсону 47%. Толщина миокарда левого желудочка в норме. Локальных нарушений сократимости нет. Умеренная митральная и небольшая трикуспидальная регургитации. Тахиаритмия (экстрасистолия). Сбросов крови нет. Во время исследования возник приступ тахикардии с частотой сердечных сокращений 127–133, в результате чего ФВ по Симпсону снизилась до 38%, увеличилась площадь митральной регургитации.

Коронароангиография. Сбалансированный тип коронарного кровоснабжения. Гемодинамически значимых стенозов коронарных артерий не выявлено.

Неинвазивное многоканальное картирование. Регистрация поверхностных электрограмм с 224

поверхностных электродов с торса пациента, с последующим выполнением мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) в режиме ЭКГ-синхронизации с контрастированием желудочков. Далее в условиях электрофизиологической лаборатории у

пациента зафиксирована неустойчивая желудочковая тахикардия, данные зарегистрированы в программно-аппаратном комплексе «АМИКАРД 01К». Обработка и анализ данных происходили интраоперационно (рис. 2).

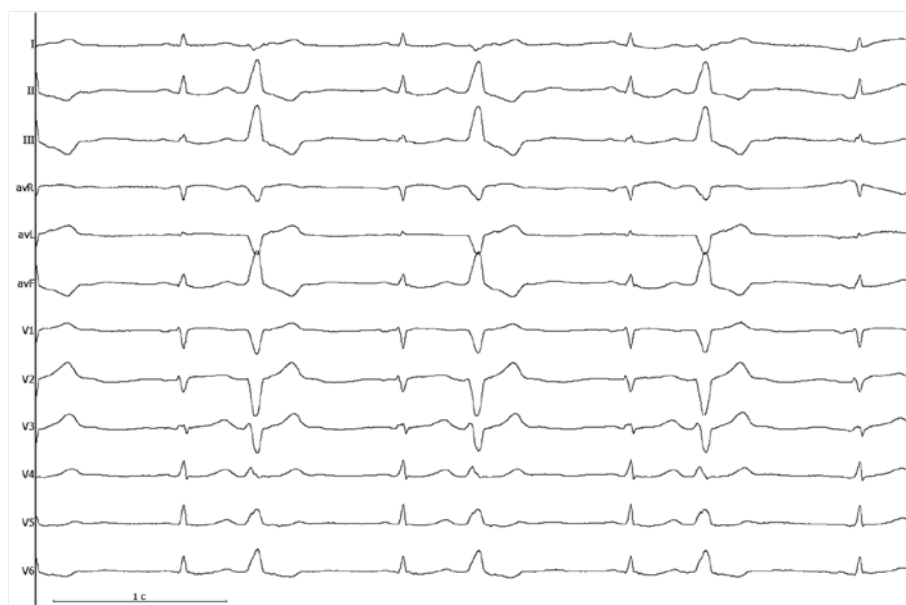


Рис. 1. Двенадцатиканальная ЭКГ, синусовый ритм с желудочковой экстрасистолой по типу бигеминии



Рис. 2. Процесс картирования и лечения желудочковой экстрасистолы в условиях электрофизиологической лаборатории:
a – флюороскопический контроль и данные отечественной навигационной системы «Астрокард» (АО «Медитек», Россия);
b – программно-аппаратный комплекс «АМИКАРД 01К» (компания «Амикард», Россия)

При анализе полученной трехмерной модели желудочков сердца область ранней активации выявлена на эндокардиальной поверхности в выводном отделе правого желудочка. Результат неинвазивного картирования в режиме реального времени – изохрон-

ная карта желудочков сердца (рис. 3), которая была импортирована в систему навигационного картирования. Это позволило более точно сравнивать локализацию зоны ранней активации во время желудочковой тахикардии.



Рис. 3. Результат многоканального картирования в режиме реального времени, выполненного интраоперационно в электрофизиологической лаборатории: карта активации с ранней зоной (красный цвет) в области выводного отдела правого желудочка

ИНТРАОПЕРАЦИОННОЕ КАРТИРОВАНИЕ И РАДИОЧАСТОТНАЯ АБЛАЦИЯ

В условиях электрофизиологической лаборатории пунктированы правая бедренная и левая подключичная вены, через которую позиционирован электрод в коронарный синус. Регистрируются частая ЖЭС и эпизоды неустойчивой ЖТ с распространением электрической активности из выводного отдела правого желудочка.

Выполнена анатомическая реконструкция ПЖ с использованием отечественной навигационной системы «Астрокард», куда были импортированы данные неинвазивного картирования. Построена активационная карта правого желудочка. Данные эндокардиального картирования постоянно сопоставлялись с данными неинвазивного картирования путем визуализации правого желудочка в соответствующих проекциях (рис. 4).

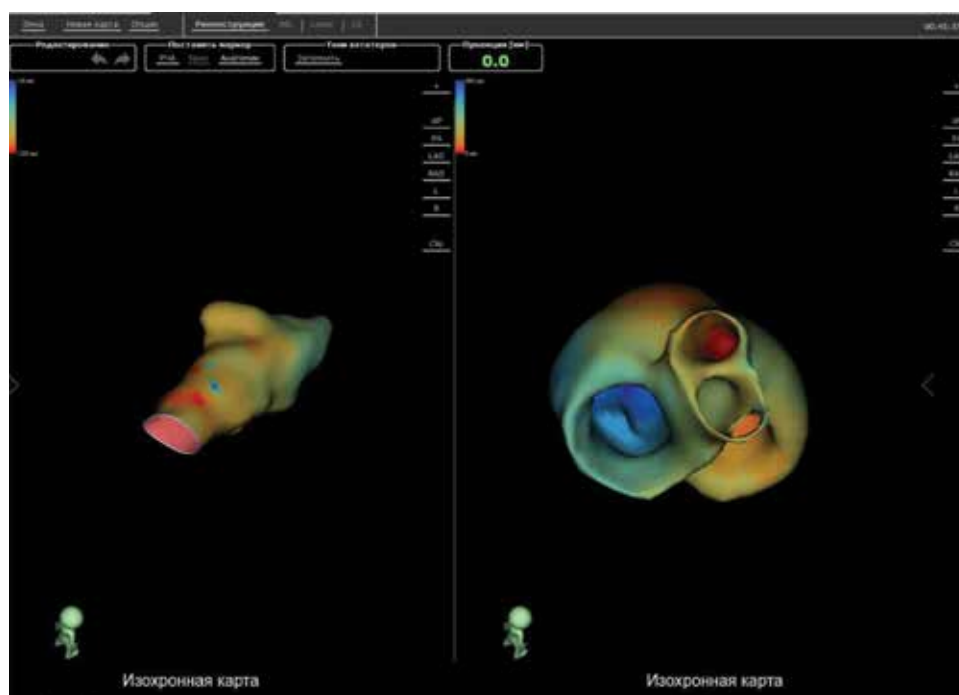


Рис. 4. Эндокардиальное картирование правого желудочка в условиях электрофизиологической лаборатории: в систему навигационного картирования импортирован результат неинвазивного картирования (справа)

При визуализации в режиме распространения возбуждения отмечается зона ранней активации в области выводного отдела правого желудочка, что полностью совпадает с результатами неинвазивного картирования. В этой области выполнены радиочастотные воздействия, после воздействия – полная элиминация желудочковой активности.

Общая длительность воздействия составила 7 мин, параметры радиочастотного воздействия с использованием орошаемого аблационного электрода составили 35 Вт. Отсутствие экстрасистол после воздействия – в течение 20 мин. Методами стимуляции нарушения ритма не индуцируются. Срок наблюдения составил 3 мес, нарушения ритма не регистрируются.

Несмотря на то, что данный клинический случай описывает типичную и наиболее распространенную локализацию ЖЭС, используемая методика применяется впервые. Она сможет продемонстрировать возможности картирования в режиме реального времени для диагностики желудочковых нарушений ритма сердца, что будет крайне важным шагом в картировании «быстрых» и «полиморфных» ЖТ для изучения механизма их возникновения и успешного интервенционного лечения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее распространенными являются две системы неинвазивного картирования сердца: CardioInsight Technologies Inc., Кливленд, Огайо [6, 7] и EP Solutions SA, Yverdon-les-Bains, Швейцария [8–10].

В исследовании S. Jamil-Copley и соавт. обследованы 24 пациента с ЖЭС из выводного отдела правого желудочка (18 пациентов) и выводного отдела левого желудочка (6 пациентов) [6]. Всем пациентам, включенным в исследование, было выполнено неинвазивное картирование на дооперационном этапе. Точность определения локализации экстрасистол, по данным неинвазивного картирования в сравнении с данными инвазивного картирования, составила 96%.

Е. Wissner и соавт. в своем исследовании показали, что у 18 (86%) из 21 пациента с ЖЭС/ЖТ правильный желудочковый сегмент был диагностирован в результате неинвазивного картирования по единичным экстрасистолам [11].

Фактически метод неинвазивного картирования потенциально может позволить точно диагностировать эпикардальное или эндокардальное происхождение и камеру возникновения ЖЭС. В данном клиническом случае напрямую сравнивалась локализация ЖЭС, полученная при анализе ЭКГ и данных инвазивного эндокардального картирования, а также данных неинвазивного картирования, полученного в режиме реального времени. В ранее про-

веденных исследованиях эпикардальные прорывы, полученные с использованием обоих методов, привели к очень большому среднему абсолютным ошибкам, превышающим 70 мм [12].

На сегодняшний день электрофизиологическая природа «полиморфных» ЖТ и фибрилляции желудочков (ФЖ) все еще окончательно не выяснена. Этому препятствует гемодинамическая нестабильность пациента во время развития данных аритмий, требующая незамедлительной кардиоверсии. Основным методом изучения механизмов аритмий на сегодняшний день является эндокардальное электроанатомическое картирование сердца. Картирование аритмий с целью изучения ее механизма возможно только при большом количестве точек, регистрирующих локальную активность сердца во время аритмии. Это возможно только при периодических и устойчивых аритмиях, при которых сохраняется стабильная гемодинамика.

ФЖ и «полиморфные» ЖТ вызывают резкое угнетение центральной гемодинамики. Они могут спонтанно прекращаться или трансформироваться в другие, более опасные аритмии. Это делает невозможным выполнение эндокардального электроанатомического картирования. Поэтому крайне важной задачей для изучения механизмов и интервенционного лечения жизнеугрожающих желудочковых аритмий является разработка метода, позволяющего картировать ЖТ при минимальной регистрации электрической активности миокарда во время аритмии.

Методика неинвазивного картирования в режиме реального времени, описанная в данном клиническом случае, позволит преодолеть многие из этих ограничений.

Эта методика может предоставить важную информацию о базовом механизме аритмии с использованием одного эктопического сокращения, которое будет зафиксировано в условиях электрофизиологической лаборатории, где на основании этих данных возможно выполнение интервенционного лечения желудочковой аритмии.

ВЫВОДЫ

1. Новый метод неинвазивного картирования в режиме реального времени сработал успешно и идентифицировал локализацию ЖЭС в выводном отделе правого желудочка.

2. Продемонстрирована высокая точность неинвазивного картирования в режиме реального времени в сравнении с инвазивным, что позволило эффективно устранить ЖЭС методом катетерной абляции.

3. С теоретической и математической точек зрения, эта технология имеет потенциал для определения трансмурального распределения участков

происхождения (эпикардальное или эндокардальное происхождение).

Таким образом, это исследование показало только предварительные данные, но они помогут сделать возможным картирование жизнеугрожающих, «быстрых» и «полиморфных» ЖТ, которые влекут за собой нарушения стабильности гемодинамики. Метод неинвазивного картирования в режиме реального времени дополнительно усиливает преимущества системы неинвазивного картирования и расширяет клиническую применимость метода при лечении жизнеугрожающих желудочковых аритмий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhong L., Lee Y.H., Huang X.M., Asirvatham S.J., Shen W.K., Friedman P.A., Hodge D.O., Slusser J.P., Song Z.Y., Packer D.L., Cha Y.M. Relative efficacy of catheter ablation vs antiarrhythmic drugs in treating premature ventricular contractions: a single-center retrospective study. *Heart Rhythm*. 2014; 11 (2):187–193. DOI: 10.1016/j.hrthm.2013.10.033.
2. Komatsu Y., Nogami A., Shinoda Y., Masuda K., Machino T., Kuroki K., Yamasaki H., Sekiguchi Y., Aonuma K. Idiopathic ventricular arrhythmias originating from the vicinity of the communicating vein of cardiac venous systems at the left ventricular summit. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2018; 11 (1): e005386. DOI: 10.1161/CIRCEP.117.005386.
3. Anter E., Frankel D.S., Marchlinski F.E., Dixit S. Effect of electrocardiographic lead placement on localization of outflow tract tachycardias. *Heart Rhythm*. 2012; 9 (5): 697–703. DOI: 10.1016/j.hrthm.2011.12.007.
4. Inaba T., Nakazawa Y., Yoshida K., Kato Y., Hattori A., Kimura T., Hoshi T., Ishizu T., Seo Y., Sato A., Sekiguchi Y., Nogami A., Watanabe S., Horigome H., Kawakami Y., Aonuma K. Routine clinical heart examinations using SQUID magnetocardiography at university of tsukuba hospital. *Supercond. Sci. Technol.* 2017; 30 (11). DOI: 10.1088/1361-6668/aa8c26.
5. Ito Y., Shiga K., Yoshida K., Ogata K., Kandori A., Inaba T., Nakazawa Y., Sekiguchi Y., Tada H., Sekihara K., Aonuma K. Development of a magnetocardiography-based algorithm for discrimination between ventricular arrhythmias originating from the right ventricular outflow tract and those originating from the aortic sinus cusp: a pilot study. *Heart Rhythm*. 2014; 11 (9): 1605–1612. DOI: 10.1016/j.hrthm.2014.05.032.
6. Jamil-Copley S., Bokan R., Kojodjojo P., Qureshi N., Koa-Wing M., Hayat S., Kyriacou A., Sandler B., Sohaib A., Wright I., Davies D.W., Whinnett Z., Peters S.N., Kanagaratnam P., Lim P.B. Noninvasive electrocardiographic mapping to guide ablation of outflow tract ventricular arrhythmias. *Heart Rhythm*. 2014; 11 (4): 587–594. DOI: 10.1016/j.hrthm.2014.01.013.
7. Cakulev I., Sahadevan J., Arruda M., Goldstein R.N., Hong M., Intini A., Mackall J.A., Stambler B.S., Ramanathan C., Jia P., Strom M., Waldo A.L. Confirmation of novel noninvasive high-density electrocardiographic mapping with electrophysiology study: implications for therapy. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2013; 6 (1): 68–75. DOI: 10.1161/CIRCEP.112.975813.
8. Revishvili A.S., Wissner E., Lebedev D.S., Lemes C., Deiss S., Metzner A., Kalinin V.V., Sopov O.V., Labartkava E.Z., Kalinin A.V., Chmelevsky M., Zubarev S.V., Chaykovskaya M.K., Tsiklauri M.G., Kuck K.H. Validation of the mapping accuracy of a novel non-invasive epicardial and endocardial electrophysiology system. *Europace*. 2015; 17 (8): 1282–1288. DOI: 10.1093/europace/euu339.
9. Wissner E., Saguner A.M., Metzner A., Chmelesky M., Tsyganov A., Deiss S., Maurer T., Kuck K.H. Radiofrequency ablation of premature ventricular contractions originating from the aortomitral continuity localized by use of a novel noninvasive epicardial and endocardial electrophysiology system. *Heart Rhythm Case Rep.* 2016; 2 (3): 255–257. DOI: 10.1016/j.hrcr.2016.02.004.
10. Wang Y., Cuculich P.S., Zhang J., Desouza K.A., Vijayakumar R., Chen J., Faddis M.N., Lindsay B.D., Smith T.W., Rudy Y. Noninvasive electroanatomic mapping of human ventricular arrhythmias with electrocardiographic imaging. *Sci. Transl. Med.* 2011; 3 (98): 98ra84. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002152.
11. Wissner E., Revishvili A., Metzner A., Tsyganov A., Kalinin V., Lemes C., Saguner A.M., Maurer T., Deiss S., Sopov O., Labartkava E., Chmelevsky M., Kuck K.H. Noninvasive epicardial and endocardial mapping of premature ventricular contractions. *Europace*. 2017; 19 (5): 843–849. DOI: 10.1093/europace/eww103.
12. Duchateau J., Sacher F., Pambrun T., Derval N., Chamorro-Servent J., Denis A., Ploux S., Hocini M., Jaïs P., Bernus O., Haïssaguerre M., Dubois R. Performance and limitations of noninvasive cardiac activation mapping. *Heart Rhythm*. 2019; 16 (3): 435–442. DOI: 10.1016/j.hrthm.2018.10.010.

Сведения об авторах

Артюхина Елена Александровна, д-р мед. наук, руководитель отделения электрофизиологических рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения аритмий, НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского, г. Москва. ORCID 0000-0001-7065-0250.
Дедух Елизавета Викторовна, аспирант, НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского, г. Москва. ORCID 0000-0002-4799-7456.
Яшков Максим Валерьевич, аспирант, НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского, г. Москва. ORCID 0000-0003-3997-8252.
Ревшвили Амиран Шотаевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского, г. Москва. ORCID 0000-0003-1791-9163.

(✉) Дедух Елизавета Викторовна, e-mail: dedukh.elizaveta@mail.ru

Поступила в редакцию 25.11.2020
 Подписана в печать 29.09.2020

Клинический случай: поражение легких при гранулематозе с полиангиитом

**Крапошина А.Ю.^{1,2}, Демко И.В.^{1,2}, Собко Е.А.^{1,2}, Гордеева Н.В.^{1,2}, Соловьева И.А.^{1,2},
Матвеева И.В.², Казмерчук О.В.¹, Кацер А.Б.¹, Абрамов Ю.И.¹, Мальчик Н.В.¹**

¹ Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

² Краевая клиническая больница (ККБ)
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3а

РЕЗЮМЕ

Представлен сложный для клинической диагностики случай заболевания гранулематозом с полиангиитом. В последнее время увеличилась заболеваемость системными васкулитами, а учитывая схожесть клинических симптомов с другими патологиями, врачу любой специальности следует проводить дифференциальную диагностику. Гранулематоз с полиангиитом характеризуется преимущественно поражением верхних дыхательных путей, легких и почек. Ключевым методом диагностики гранулематоза с полиангиитом является биопсия с гистологическим исследованием, позволяющим выявить воспалительный процесс в пораженных тканях. Особенностью гранулематоза с полиангиитом является регистрация антинейтрофильных цитоплазматических антител в сыворотке крови, однако данные антитела регистрируются лишь у 80% больных и не выявляются в фазе ремиссии, что значительно затрудняет диагностику.

Ключевые слова: гранулематоз с полиангиитом, поражение легких, системные васкулиты.

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: Крапошина А.Ю., Демко И.В., Собко Е.А., Гордеева Н.В., Соловьева И.А., Матвеева И.В., Казмерчук О.В., Кацер А.Б., Абрамов Ю.И., Мальчик Н.В. Клинический случай: поражение легких при гранулематозе с полиангиитом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 219–224. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-219-224>.

A clinical case of lung damage in granulomatosis with polyangiitis

**Kraposhina A.Yu.^{1,2}, Demko I.V.^{1,2}, Sobko E.A.^{1,2}, Gordeeva N.V.^{1,2}, Soloveva I.A.^{1,2},
Matveeva I.V.², Kazmerchuk O.V.¹, Katser A.B.¹, Abramov Yu.I.¹, Malchik N.V.¹**

¹ V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University
1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

² Krasnoyarsk Regional Clinical Hospital
3A, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

ABSTRACT

The article presents a case of granulomatosis with polyangiitis, which is difficult for clinical diagnosis. Recently, the incidence of systemic vasculitis has increased, and given the similarity of clinical symptoms with other pathologies, a doctor of any specialty should carry out differential diagnosis. Granulomatosis with polyangiitis is characterized mainly by damage to the upper respiratory tract, lungs, and kidneys. The main method for diagnosing granulomatosis with polyangiitis is biopsy with histological examination, which allows to detect inflammation in the affected tissues. A feature of granulomatosis with polyangiitis is detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies in the blood serum. However, these antibodies are recorded only in 80% of patients and are not detected in the remission phase, which makes diagnosis much more difficult.

Key words: granulomatosis with polyangiitis, lung damage, system vasculitis.

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: Kraposhina A.Yu., Demko I.V., Sobko E.A., Gordeeva N.V., Soloveva I.A., Matveeva I.V., Kazmerchuk O.V., Katser A.B., Abramov Yu.I., Malchik N.V. A clinical case of lung damage in granulomatosis with polyangiitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 219–224. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-219-224>.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы стоит отметить рост заболеваемости системными васкулитами, поражения характеризуются неспецифичными симптомами в дебюте, схожестью клинических симптомов с другими патологиями, что затрудняет их дифференциальную диагностику в современных условиях, несмотря на непрерывно развивающиеся диагностические методы в ревматологии. Одним из системных васкулитов является гранулематоз с полиангиитом Вегенера – гигантоклеточный гранулематозно-некротизирующий васкулит сосудов мелкого калибра, ассоциированный с выработкой антинейтрофильных цитоплазматических антител (ANCA) и характеризующийся преимущественным поражением верхних дыхательных путей, легких и почек [1–3]. Заболевание носит полиорганный характер, отличается многообразием симптоматики. Дебют заболевания чаще всего приходится на возраст старше 40 лет, в европейской популяции встречается в 1,5 раза чаще [2].

Несмотря на многолетнее изучение, этиология гранулематоза с полиангиитом остается неизвестной. Однако чаще всего манифестации заболевания предшествуют инфекции, вызванные золотистым стафилококком, пневмоцистой, а также острая респираторная вирусная инфекция, вакцинация и антибиотикопрофилактика, которые запускают процесс образования аутоантигенов [4]. Аутоиммунный процесс активизирует каскад клеточных реакций, воспроизводящих полиморфно-клеточное гранулематозное воспаление, которое приводит к активации макрофа-

гов, антигенпрезентирующих клеток, а затем эффекторных Т-клеток памяти и плазматиков, способных продуцировать не только интерлейкин (IL) 6, IL-10, фактор некроза опухоли α , но и ANCA [5].

В ходе данных процессов полиморфно-ядерные лейкоциты проникают в кровяное русло, нарушают проницаемость сосудистой стенки и продуцируют лизосомальные ферменты, что приводит к некрозу стенки сосуда и его окклюзии. Наиболее часто первыми очагами, отражающими аутоиммунное гранулематозное воспаление, являются верхние дыхательные пути, легкие и почки. Решающим методом диагностики гранулематоза с полиангиитом следует считать биопсию с гистологическим исследованием, только данные результаты могут подтвердить характер воспалительного процесса в пораженных тканях. Безусловно, отличительным признаком гранулематоза Вегенера является регистрация ANCA в сыворотке крови, но не стоит забывать, что изучаемые антитела регистрируются лишь у 80% больных, а также не выявляются в фазе ремиссии [6]. Мы приводим сложный для клинической диагностики случай заболевания гранулематозом с полиангиитом.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка К., 40 лет, была госпитализирована в отделение оториноларингологии Краевой клинической больницы г. Красноярск в июле 2019 г. с жалобами на выраженные головные боли, боли в заушной области, гноетечение из правого уха, периодический подъем температуры тела до 37,5–37,8 °С, пошатывание при ходьбе.

Из анамнеза: заболела остро (2 нед назад), появилась боль в правом ухе и гноетечение. Обратилась на прием в частную клинику к врачу, где было назначено антибактериальное и антимикотическое лечение, которое оказалось неэффективным. Пациентка была направлена в поликлинику Краевой клинической больницы.

При поступлении: сознание ясное, состояние средней степени тяжести, кожные покровы чистые, нормальной влажности, костно-мышечная система без особенностей. *Status localis*: носовая перегородка искривлена. Нижние носовые раковины отечны. При перкуссии сосцевидного отростка справа отмечается резкая болезненность. Правый наружный слуховой проход заполнен гнойным отделяемым; левый наружный слуховой проход свободный. Барабанная перепонка не визуализируется. Отоскопия: справа в наружном слуховом проходе обильно гнойное отделяемое, после санации – в проекции барабанной перепонки отмечается + ткань розового цвета с бугристой поверхностью (полип?), при дотрагивании инструментом болезненно, не кровоточит. Дыхание везикулярное. Частота дыхания 14 в мин. Тоны сердца ясные. Артериальное давление 110/70 мм рт. ст., частота сердечных сокращений 56 уд./мин. Живот мягкий, безболезненный, в акте дыхания участвует. Мочеиспускание свободное, безболезненное. Был выставлен предварительный диагноз: острый гнойный средний отит справа, перфоративная стадия. Острый правосторонний мастоидит. Менингит?

В анализе крови наблюдается относительный лейкоцитоз ($9,16 \times 10^9/\text{л}$), гипохромная анемия (эритропения $3,55 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин 113 г/л), повышение С-реактивного белка (132,5 мг/л) и фибриногена (5,1 г/л), а также увеличение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) (61 мм/ч). Для исключения отогенной нейроинфекции было проведено исследование ликвора, которое не выявило данных за менингит. На компьютерной томограмме височных костей – картина острого правостороннего мезотимпанита. Рентгенография органов грудной клетки – легкие расправлены, без видимых инфильтративных изменений. Плевральные полости свободны, определяются плевродиафрагмальные спайки справа. Было проведено эндоскопическое электрохирургическое удаление новообразования среднего уха. Диагноз после операции: хронический гнойный эпимезотимпанит с полипом наружного слухового прохода справа и с явлениями наружного отита, субтотальный дефект барабанной перепонки. Операционный материал был взят на патогистологическое исследование, которое зарегистрировало картину плоскоклеточной папилломы с диффузным хроническим воспалением.

В отделении больная получала антибактериальную (цефтазидим), противовоспалительную терапию. Несмотря на проводимое лечение, пациентка жаловалась на сильный кашель, ухудшение состояния, подъем температуры тела до $38,8^\circ\text{C}$. Для исключения пневмонии проведена рентгенография органов грудной клетки, выявлено периферическое образование нижней доли правого легкого. Пациентке проведена мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки (ОГК), картина может соответствовать деструктивной пневмонии, необходимо дифференцировать с абсцессом; двухсторонний плевральный выпот. Лабораторно: лейкоцитоз ($10,9 \times 10^9/\text{л}$), нейтрофилез (74,3%), усиление гипохромной анемии (107 г/л), увеличение СОЭ (58 мм/ч).

Осмотрена торакальным хирургом, выставлен диагноз: абсцедирующая пневмония нижней доли правого легкого. Назначили антибактериальную терапию (цефоперазон/сульбактам 2 г 3 раза/сут). Посев мокроты на наличие кислотоустойчивых микобактерий (КУМ) дал отрицательный результат. Трахеобронхоскопия показала картину правостороннего диффузного слабо выраженного бронхита со слабо выраженной слизистой гиперсекрецией.

На ультразвуковом исследовании (УЗИ) плевральных полостей определялся выпот ($V = 80 \text{ см}^3$), проведена трансторакальная пункция, в ходе которой получено 200,0 мл прозрачной жидкости светло-соломенной окраски. Цитологическое исследование плевральной жидкости: эритроциты, эозинофильное вещество, выраженное количество нейтрофильных лейкоцитов в стадии дегенеративных изменений, многочисленные фрагменты разрушенных клеточных элементов, признаки дистрофических изменений.

После проведенных инструментальных исследований было принято решение о переводе пациентки для дальнейшего лечения в отделение торакальной хирургии и изменении тактики консервативного лечения – назначили левофлоксацин, меропенем, амикацин и гемотрансфузии (эритромасты) № 6. При повторной МСКТ ОГК отмечалась отрицательная динамика за счет нарастания площади ранее выявленных изменений. Также рядом – появление округлого образования в диаметре до 12 мм, в центре участок просветления, вокруг определялось матовое стекло, МСКТ-картина может соответствовать абсцессу. Сохраняются следы плеврального выпота с двух сторон. Справа по медиальной поверхности определяется осумкование плеврита. В анализе крови регистрировались признаки воспаления и гипо-

хромной анемии, исследование мокроты на КУМ показало отрицательный результат.

Постановка окончательного диагноза затруднена, дифференциальная диагностика проводилась со следующими заболеваниями: периферическая опухоль нижней доли правого легкого с распадом, инфильтративный туберкулез легкого в стадии распада и абсцесс легкого. При повторной МСКТ ОГК отмечалась отрицательная динамика за счет нарастания площади ранее выявленных изменений и появления округлого образования в диаметре до 12 мм, в центре участок просветления, вокруг матовое стекло – МСКТ-картина соответствовала абсцессу. Сохранились следы плеврального выпота с двух сторон. Справа по медиальной поверхности определялось осумкование плеврита.

Было принято решение о проведении торакотомии справа, нижней лобэктомии. В ходе оперативного вмешательства в базальных сегментах нижней доли правого легкого было обнаружено пальпируемое плотное образование размером около 10 см, в проекции которого легкое плотно фиксировано к диафрагме и боковой костальной поверхности грудной стенки. В S1 выявлено наличие очагового образования до 0,5 см. Было принято решение о резекции очагового образования в сегменте и удаление нижней доли. Основной послеоперационный диагноз – абсцесс легкого. Однако проведенное патогистологическое исследование операционно-биопсийного материала показало морфологическую картину гранулематозного воспаления (единичные эпителиоидно-клеточные гранулемы и большое количество гигантских многоядерных клеток типа Пирогова – Лангханса).

В сентябре 2019 г. пациентка переведена в Красноярский краевой противотуберкулезный диспансер № 1 для дальнейшего лечения с диагнозом: инфильтративный туберкулез нижней доли правого легкого в фазе распада. *Mycobacterium tuberculosis* (–). Обострение хронического гнойного среднего отита справа. Острый гнойный средний отит слева. Вторичный (на фоне гнойного эпимезотимпанита) периферический неврит лицевого нерва справа с легким парезом.

В Красноярском краевом противотуберкулезном диспансере № 1 пациентка получала противотуберкулезную терапию в течение 22 сут, положительная динамика не отмечалась. В 17 проведенных исследованиях мокроты и содержимого ушей на КУМ регистрировались отрицательные результаты, дважды было проведено исследование с помощью полимеразной цепной реакции, результаты также не выявили туберкулезной инфекции. Отмечалось

прогрессирование процесса со стороны оториноларингологических (ЛОР) органов: двухсторонний средний отит. Мастоидит справа, фиброматоз десен, фиброзные изменения в полости носа с признаками кровоточивости слизистой оболочки.

В октябре 2019 г. пациентка экстренно госпитализирована в ЛОР-отделение Краевой клинической больницы с жалобами на боль в ушах, больше справа, снижение слуха на оба уха, гнойные выделения из ушей, онемение правой щеки, скуловой области. На основании жалоб и анамнеза был выставлен диагноз: хронический двухсторонний гнойный средний отит, обострение. Острый мастоидит справа? Была проведена антростома справа: антрум небольших размеров, щелевидной формы, расширен, в антруме грануляции, полипозно-измененная слизистая оболочка, по патологическому процессу единично вскрыты клетки сосцевидного отростка, гнойного отделяемого не получено, слизистая оболочка гиперплазированная. Кость размягчена по типу «сахарной кости», легко удалялась ложкой. Патогистологическое исследование операционного материала зарегистрировало отсутствие данных за гранулематозное воспаление, картина хронического воспаления с умеренной активностью.

Учитывая частые обострения хронического гнойного отита, наличие выраженного деструктивного процесса в легких с выраженным воспалительным ответом на фоне проводимой антибактериальной и противотуберкулезной терапии лечащим врачом принято решение о проведении консилиума с привлечением пульмонолога и нефролога.

В ходе осмотра пациентки отмечались пастозность голеней, увеличенные безболезненные подмышечные лимфоузлы справа максимального размера не более 2 см. На передней брюшной стенке над пупком – уплотнение синеватого цвета с изъязвлением, покрыто корочкой, из которого периодически появляются гнойные выделения. На внутренней трети поверхности правого бедра и области поясницы пальпировались уплотнения в диаметре 2,5–3 см, безболезненные, кожа над ними не изменена. В легких – сухие хрипы, преимущественно справа в нижних отделах. Полученные данные, такие как отсутствие ответа на проводимую терапию, сохраняющийся синдром воспалительного ответа, респираторный, анемический и отечный синдромы, неврит лицевого нерва справа, поражение ЛОР-органов, позволяли предположить развитие системного васкулита.

Для подтверждения диагноза больной было проведено МСКТ ОГК в прикорневой зоне: слева определяются два полостных образования с неравномерно утолщенными стенками. В нижней доле

правого легкого определяются округлые образования с четкими ровными контурами, размерами в диаметре 11,4 мм, данные образования расположены субплеврально. МСКТ-картина может соответствовать болезни Вегенера. УЗИ плевральной полости зарегистрировало неоднородную жидкость ($V = 100 \text{ см}^3$) с фибринозным компонентом в правой плевральной полости. Патогистологическое исследование слизистой оболочки правого бронха выявило среди фиброзной ткани диффузный выраженный полиморфно-клеточный воспалительный инфильтрат, что соответствует картине воспалительного процесса. Патоморфологическое исследование слизистой десны зарегистрировало картину продуктивного гранулематозного воспаления мягких тканей слизистой десны. С учетом анамнестических данных наиболее характерно для гранулематоза Вегенера.

Принято решение о проведении повторного консилиума, на котором сделано следующее заключение. С учетом клинической картины: поражение верхних и нижних дыхательных путей, органов слуха, полости рта, данных морфологического исследования, продуктивное гранулематозное воспаление мягких тканей слизистой десны, наличие отрицательных результатов исследования на КУМ, отсутствие эффекта от противотуберкулезной терапии, несмотря на отрицательные ANCA, поставлен диагноз: гранулематоз с полиангиитом, высокой степени активности, тяжелое течение, с поражением легких (множественные инфильтраты с деструкцией), органов слуха (двухсторонний отит, мастоидит справа), фиброматозом десен. Анемия средней степени тяжести.

После проведения пульс-терапии метилпреднизолоном 1 000 мг № 3 и циклофосфамидом 1 000 мг № 1 с последующим переходом на пероральный прием метилпреднизолона (48 мг/сут) отмечалась положительная клиническая, лабораторная и рентгенологическая динамика. МСКТ ОГК в динамике от 14.11.2019 г.: отмечалось уменьшение количества жидкости в плевральной полости справа, уменьшение размеров очагов и инфильтрации в верхних отделах правого легкого. К февралю 2020 г. пациентке проведено пять пульсов циклофосфамидом в дозе 1 000 мг. В настоящий момент продолжает прием метилпреднизолона 38 мг/сут.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай в очередной раз демонстрирует сложность дифференциальной диагностики системных поражений. Многоликость клинического течения и отсутствие специфичных симптомокомплексов обуславливают заметную трудность в диагностике и лечении гранулематоза с полиангиитом. Несмотря на это, тщательное сопоставление клинических проявлений, данных лабораторных и инструментальных исследований, иммунологический поиск маркеров могут влиять на более раннюю и точную диагностику системных васкулитов. Необходимо помнить, что поздняя диагностика и постановка диагноза чреваты развитием необратимых поражений жизненно важных органов, которые могут привести не только к ухудшению качества жизни, но и к снижению данных пятилетней выживаемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов А.А., Алексеева Е.И. Клинические рекомендации для педиатров. Ревматические болезни у детей. М.: ПедиатрЪ, 2016: 144.
2. Petty R.E., Laxer R.M., Lindsley C.B., Wedderburn L. Textbook of pediatric rheumatology; 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2016: 736.
3. Гордеева Н.В., Демко И.В., Мамаева М.Г., Зеленый С.В., Гусева И.С., Собко Е.А., Крапошина А.Ю., Соловьева И.А., Чубарова С.В. Гиперчувствительный пневмонит (трудный клинический случай). *Сибирское медицинское обозрение*. 2015; 5: 92–95.
4. Edmondson S.J., Attaran S., Rosendahl U.P. Complete resolution of Wegener's granulomatosis lung granuloma after aortic root replacement. *Aorta (Stamford)*. 2016; 4 (1): 25–28. DOI: 10.12945/j.aorta.2016.15.009.
5. Kubaisi B., Abu Samra K., Foster C.S. Granulomatosis with polyangiitis (Wegener's disease): An updated review of ocular disease manifestations. *Intractable Rare Dis. Res.* 2016; 5 (2): 61–69. DOI: 10.5582/irdr.2016.01014.
6. Rosenbaum J.T., Choi D., Wilson D., Grossniklaus H.E., Harrington C.A., Sibley C.H., Dailey R.A., Ng J.D., Steele E.A., Czyz C.N., Foster J.A., Tse D., Alabiad C., Dubovy S., Parekh P.K., Harris G.J., Kazim M., Patel P.J., White V.A., Dolman P.J., Korn B.S., Kikkawa D.O., Edward D.P., Alkatan H.M., al-Hussain H., Yeatts R.P., Selva D., Stauffer P., Planck S.R. Orbital pseudotumor can be a localized form of granulomatosis with polyangiitis as revealed by gene expression profiling. *Exp. Mol. Pathol.* 2015; 99 (2): 271–278. DOI: 10.1016/j.yexmp.2015.07.002.

Вклад авторов

Крапошина А.Ю. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Демко И.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Собко Е.А. – обоснование рукописи

или проверка критически важного интеллектуального содержания. Гордеева Н.В., Соловьева И.А., Матвеева И.В. – разработка концепции и дизайна. Казмерчук О.В., Кацер А.Б., Абрамов Ю.И., Мальчик Н.В. – анализ и интерпретация данных.

Сведения об авторах

Крапошина Ангелина Юрьевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-пульмонолог, лечебно-диагностическое отделение, ККБ, г. Красноярск. ORCID 0000-0001-6896-877X.

Демко Ирина Владимировна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; зав. легочно-аллергологическим центром, ККБ г. Красноярск. ORCID 0000-0001-8982-5292.

Собко Елена Альбертовна, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; зав. отделением аллергологии, ККБ, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-9377-5213.

Гордеева Наталья Владимировна, канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-пульмонолог, лечебно-диагностическое отделение, ККБ, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-0586-8349.

Соловьева Ирина Анатольевна, д-р мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-пульмонолог, лечебно-диагностическое отделение, ККБ, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-1999-9534.

Матвеева Ирина Владимировна, зав. отделением нефрологии и ревматологии, ККБ, г. Красноярск.

Казмерчук Ольга Витальевна, науч. сотрудник, кафедра внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0001-7999-4113.

Кацер Анна Борисовна, науч. сотрудник, кафедра внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-6649-8900.

Абрамов Юрий Игоревич, науч. сотрудник, кафедра внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-9937-1025.

Мальчик Наталья Валерьевна, науч. сотрудник, кафедра внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

(✉) **Крапошина Ангелина Юрьевна**, e-mail: angelina-maria@inbox.ru

Поступила в редакцию 03.06.2020

Подписана в печать 29.09.2020

Клинический случай идиопатического легочного фиброза на фоне коморбидной патологии

Тетенева А.В.^{1,3}, Калюжин В.В.¹, Чернявская Г.М.¹, Беспалова И.Д.¹, Черногорюк Г.Э.¹, Завадовская В.Д.¹, Жогина Т.В.¹, Устюжанина Е.А.², Кузин Е.В.², Варфоломеева И.А.², Седляр О.В.², Медикова Е.А.¹, Кошавцева Ю.И.¹, Потапов К.В.¹, Карзилов А.И.¹, Поровский Я.В.¹, Соловьев М.М.¹

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

² Томская областная клиническая больница (ТОКБ)
Россия, 634063, г. Томск, ул. И. Черных, 96

³ Медико-санитарная часть № 2
Россия, 634040, г. Томск, ул. Бела Куна, 3

РЕЗЮМЕ

Идиопатический легочный фиброз (ИЛФ) относится к наиболее распространенным заболеваниям из группы интерстициальных заболеваний легких и характеризуется неуклонным прогрессированием и неблагоприятным прогнозом. В течение последнего десятилетия был достигнут значительный прогресс в разработке диагностического алгоритма для пациентов с ИЛФ, предполагающий анализ клинических, лабораторных и инструментальных данных, прежде всего, результатов компьютерной томографии высокого разрешения (КТВР). Точное следование алгоритму диагностики и правильная интерпретация данных КТВР являются необходимым условием для постановки диагноза ИЛФ.

В Томской области разработана маршрутизация больных с подозрением на ИЛФ. Примером успешного следования этому алгоритму является представленный клинический случай. Широкое внедрение в лечебно-диагностический процесс современных алгоритмов диагностики ИЛФ и повышение качества визуализационных методов, прежде всего КТВР, проводимые в рамках дифференциального диагноза, открывают перспективы ранней диагностики данного патологического процесса, а своевременно назначенная антифибротическая терапия (нинтеданиб, пирфенидон) при ИЛФ позволяет замедлить прогрессирование патологического процесса и улучшить прогноз.

Ключевые слова: идиопатический легочный фиброз, обычная интерстициальная пневмония, нинтеданиб, антифибротическая терапия, лечение.

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: Тетенева А.В., Калюжин В.В., Чернявская Г.М., Беспалова И.Д., Черногорюк Г.Э., Завадовская В.Д., Жогина Т.В., Устюжанина Е.А., Кузин Е.В., Варфоломеева И.А., Седляр О.В., Медикова Е.А., Кошавцева Ю.И., Потапов К.В., Карзилов А.И., Поровский Я.В., Соловьев М.М. Клинический случай идиопатического легочного фиброза на фоне коморбидной патологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (3): 225–231. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-225-231>.

A clinical case of idiopathic pulmonary fibrosis against the background of comorbid pathology

Teteneva A.V.^{1,3}, Kalyuzhin V.V.¹, Chernyavskaya G.M.¹, Beshpalova I.D.¹, Chernogoryuk G.E.¹, Zavadovskaya V.D.¹, Zhogina T.V.¹, Ustyuzhanina E.A.², Kuzin E.V.², Varfolomeeva I.A.², Sedlyar O.V.², Medikova E.A.¹, Koshchavtseva Yu.I.¹, Potapov K.V.¹, Karzilov A.I.¹, Porovsky Ya.V.¹, Solovev M.M.¹

¹ *Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

² *Tomsk Regional Clinical Hospital
96, I. Chernykh Str., Tomsk, 634063, Russian Federation*

³ *Medical and Sanitary Hospital No. 2
3, Bela Kuna Str., Tomsk, 634040, Russian Federation*

ABSTRACT

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is one of the most common diseases in the group of interstitial lung diseases, which is characterized by persistent progression and poor prognosis. Over the past decade, experts have made significant progress in developing a diagnostic algorithm for IPF patients. This algorithm includes analysis of clinical, laboratory, and instrumental data, primarily the results of high-resolution computed tomography (HRCT). Precise adherence to the diagnostic algorithm and correct interpretation of HRCT data are prerequisites for IPF diagnosis.

Specialists of the Tomsk region have developed routing of patients with suspected IPF. The presented clinical case is a successful example of adhering to this algorithm. Wide implementation of modern diagnostic algorithms into diagnosis and treatment of IPF and quality improvement of imaging methods, primarily HRCT, carried out as a part of the differential diagnosis, open up prospects for early diagnosis of this pathology. A timely prescribed antifibrotic therapy (nintedanib, pirfenidone) in IPF allows to slow down pathological progression and improves the prognosis.

Key words: idiopathic pulmonary fibrosis, usual interstitial pneumonia, nintedanib, antifibrotic therapy, treatment.

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: Teteneva A.V., Kalyuzhin V.V., Chernyavskaya G.M., Beshpalova I.D., Chernogoryuk G.E., Zavadovskaya V.D., Zhogina T.V., Ustyuzhanina E.A., Kuzin E.V., Varfolomeeva I.A., Sedlyar O.V., Medikova E.A., Koshchavtseva Yu.I., Potapov K.V., Karzilov A.I., Porovsky Ya.V., Solovev M.M. A clinical case of idiopathic pulmonary fibrosis against the background of comorbid pathology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (3): 225–231. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-3-225-231>.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным данным, интерстициальные болезни легких (ИБЛ) составляют 20% всех заболеваний данных органов. Общими признаками, объединяющими ИБЛ, являются прогрессирующая одышка, нарушения функции внешнего дыхания рестриктивного типа, распространенные, двухсторонние изменения при рентгенологическом исследовании и компьютерной томографии (КТ). Диагностика ИБЛ до настоящего времени остается крайне

неудовлетворительной, диагностические ошибки составляют до 80%, а адекватная специализированная помощь пациентам нередко оказывается через 1,5–2 года после возникновения первых признаков заболевания. Столь удручающая ситуация объясняется не только отсутствием патогномичных признаков (клинических, рентгенологических, функциональных, лабораторных и даже морфологических) при ИБЛ, но и недостаточностью знаний врачей о данной патологии и ошибочным мнением о ее низкой распространенности [1].

Наиболее частым заболеванием из группы ИБЛ является идиопатический легочный фиброз (ИЛФ). В среднем на долю ИЛФ приходится 20–30% всех случаев ИБЛ. Идиопатический легочный фиброз является специфической формой хронической прогрессирующей фиброзирующей интерстициальной пневмонии с неизвестной причиной. Возникает преимущественно у людей пожилого возраста, поражает только легкие и связан с гистологическим и (или) рентгенологическим паттерном обычной интерстициальной пневмонии (ОИП) [2].

Наиболее частыми клиническими симптомами ИЛФ являются медленно прогрессирующая одышка и непродуктивный кашель, присутствующие у 80–90% пациентов, крепитация (хрипы Velcro) на высоте вдоха, по тембру напоминающие звук текстильной застежки-липучки на одежде, в нижних отделах легких, симптом «барабанных палочек» и «часовых стекол» (у 25–50% пациентов). Следует иметь в виду, что на ранних стадиях заболевание может протекать практически бессимптомно.

Для ИЛФ характерно прогрессирующее, злокачественное течение с высоким риском развития неблагоприятного исхода. Без лечения средняя продолжительность жизни пациентов составляет 3 года, а выживаемость в течение 5 лет – около 30% [1]. Высокая смертность пациентов с данной патологией объясняется особенностями патогенеза заболевания – преобладанием фиброза при незначительной выраженности воспалительных изменений. Основным механизмом, который приводит к развитию прогрессирующего легочного фиброза, является персистирующее повреждение альвеолярного эпителия с последующим нарушением процессов его регенерации, активацией фибробластов и миофибробластов, избыточным отложением компонентов внеклеточного матрикса. Указанные изменения определяют неэффективность традиционной иммуносупрессивной терапии у пациентов с ИЛФ [2].

В связи с этим важным является появление двух новых антифибротических препаратов для лечения этой патологии – пирфенидона и нинтеданиба, одобренных FDA в 2014 г. и зарегистрированных в России в 2016–2017 гг. Они доказали эффективность при ИЛФ: снижали прогрессирование заболевания, замедляли уменьшение легочных объемов, повышали выживаемость больных [3, 4]. Так, в мае 2019 г. (исследование Senscis, 600 больных) было доказано, что на фоне нинтеданиба замедляется прогрессирование заболевания, снижаются потери функции жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) [5]. Причем установлено, что при лечении нинтеданибом замедляется скорость снижения показателей ФЖЕЛ независимо от его ис-

ходного уровня, что дает основание рекомендовать его как при самой ранней стадии болезни, еще до развития клинически значимых нарушений респираторной функции, так и при значительном снижении функциональных параметров дыхания [6, 7]. Таким образом, появление препаратов, которые улучшают прогноз заболевания, определяет важность ранней диагностики ИЛФ.

В течение последнего десятилетия был достигнут значительный прогресс в разработке диагностического алгоритма для пациентов с ИЛФ, предполагающий анализ клинических, лабораторных и инструментальных данных, прежде всего, результатов компьютерной томографии высокого разрешения (КТВР).

Данный алгоритм на первом этапе требует тщательного сбора анамнеза для исключения других известных причин ИБЛ, например, профессиональных и бытовых воздействий, заболеваний соединительной ткани, лекарственной токсичности. Кроме этого, следует проводить дифференциальную диагностику с заболеваниями, имеющими сходную клиническую симптоматику, например с хронической сердечной недостаточностью (одышка, утомляемость, кашель, крепитация в легких, снижение массы тела) [2, 8].

Следующим этапом является проведение и анализ данных КТВР. Совершенствование современных методов диагностики и внедрение в клиническую практику КТВР позволили значительно расширить верификацию диагноза ИЛФ в дебюте заболевания [9, 10]. Золотым стандартом диагностики ИЛФ в настоящее время является спиральная компьютерная томография (СКТ) легких. Для ИЛФ характерна КТВР-картина, которая проявляется как ОИП, включающая следующие признаки: ретикулярные изменения, сотовая дегенерация и особенности распределения патологических изменений преимущественно в субплевральных и заднебазальных отделах. Критерии оценки данных КТВР основаны на вероятности заболевания. Флешнерским обществом рентгенологов выделено четыре основных рентгенологических паттерна: типичная картина ОИП, вероятная, неопределенная, а также КТ-картина, не связанная с ИЛФ, характерная для другого ИБЛ (не ИЛФ) [11].

Типичная картина ОИП при КТВР характеризуется наличием признаков сотового легкого, ретикулярных изменений и периферических тракционных бронхоэктазов с преобладанием указанных изменений в базальных отделах (реже диффузных) и субплеврально. При отсутствии картины сотового легкого и наличии остальных признаков рентгенологическая картина ОИП становится лишь «вероятной». Признаками, нетипичными для ОИП или

исключающими ее, являются: выраженный симптом «матового стекла», участки консолидации, одиночные очаги и диссеминация, преобладание изменений в верхних и средних отделах легких, перибронховаскулярное распределение изменений, воздушные кисты внекортикальных отделов, буллезная эмфизема.

Важно подчеркнуть, что современный алгоритм диагностики ИЛФ предлагает дифференцированный подход к использованию инвазивных методов диагностики. Так, проведение биопсии легкого не является обязательным для верификации диагноза при наличии клинической картины ИЛФ, КТ-паттерна типичной или вероятной ОИП. Проведение хирургической биопсии легкого (ХБЛ) рекомендуется при наличии КТ-картины, нетипичной для ОИП. В таких случаях диагноз устанавливают на основании сочетания данных КТВР и гистологической картины.

Таким образом, точное следование алгоритму диагностики и правильная интерпретация данных КТВР являются необходимым условием для постановки диагноза ИЛФ.

В Томской области разработана маршрутизация больных с подозрением на ИЛФ. При подозрении на ИЛФ проводится:

1. Плановая госпитализация в пульмонологическое отделение ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница».
2. В отделении проводится обследование пациента согласно Федеральным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению идиопатического легочного фиброза (2016), исключение других интерстициальных поражений легких. Диагноз устанавливается после обсуждения всех полученных данных консилиумом врачей.
3. После первично поставленного диагноза ИЛФ все документы (с предоставлением сканов КТВР органов грудной клетки (ОГК)) передаются для подтверждения или исключения диагноза ИЛФ федеральным экспертам для внесения в регистр пациентов с ИЛФ на территории РФ.
4. После подтверждения диагноза следует назначение лечения, ставшее более доступным в нашей стране после регистрации новых антифиброзных препаратов.

Примером успешного следования этому алгоритму является представленный клинический случай.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка К., 67 лет, впервые обратилась в пульмонологическое отделение ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница» (ТОКБ) в октябре 2015 г. с жалобами на общую слабость, перебои в работе сердца, одышку смешанного характера при обычной

ходьбе до 10 м и подъеме по лестнице на 10 ступенек (по шкале MRC 2 балла), эпизодическое повышение температуры тела до 38,5 °С, кашель с отхождением мокроты серого цвета до 30 мл/сут. Из анамнеза известно, что кашель беспокоит в течение последних 15 лет, одышка смешанного характера появилась 5 лет назад.

Анамнез. В 2015 г. диагностирована ишемическая болезнь сердца (ИБС): пароксизмальная форма фибрилляции предсердий, наджелудочковая экстрасистолия, пароксизмальная наджелудочковая тахикардия. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН), стадия 2А. Гипертоническая болезнь, стадия 3, риск 4. Постоянно принимает сотагексал 80 мг по ¼ табл. 2 раза/сут и кардиомагнил 75 мг 1 раз/сут. Струмэктомия в 1995 г. по поводу диффузного токсического зоба, постоянно принимает L-тироксин 100 мг/сут. Страдает варикозной болезнью вен нижних конечностей. Вредных привычек нет.

Объективный статус. Состояние средней степени тяжести. Температура тела 36,3 °С. Пульс 100 уд./мин, частота дыхательных движений 20 в минуту, SpO₂ 96%, артериальное давление 110/70 мм рт. ст. Сознание ясное, контакт полный. Кожные покровы умеренной влажности, диффузный цианоз. Суставы ногтевых фаланг кистей деформированы по типу «барабанных палочек», ногтевые пластинки в виде «часовых стекол». Язык с налетом бело-желтого цвета влажный. Грудная клетка цилиндрическая. Перкуторный звук с коробочным оттенком. Нижняя граница легких поднята на одно ребро. Дыхание жесткое, крепитация в средних и нижних отделах с обеих сторон. Сердце: тоны равномерно ослаблены, ритм правильный. Печень по краю реберной дуги. Живот мягкий, безболезненный. Селезенка не пальпируется. Периферических отеков нет. Признаки варикозного расширения вен нижних конечностей.

Спирографическое исследование: нарушение вентиляционной функции легких преимущественно по рестриктивному типу I степени. Данные КТВР: картина соответствует ОИП. С учетом наличия клинической картины, характерной для ИЛФ и КТ-картины, ОИП, биопсия легкого не проводилась.

Поставлен диагноз ИЛФ, медленно прогрессирующее течение, с формированием «сотового легкого». При выписке из стационара пациентке рекомендовано наблюдение в динамике, применение только симптоматической терапии, так как в тот период времени антифиброзные препараты с доказанной эффективностью при ИЛФ (нинтеданиб (варгатеф) и пирфенидон (эсбriet)) в России были недоступны. Применяемые многие годы при этом заболевании глюкокортикостероиды и цитостатики

не рекомендованы к применению в качестве постоянной терапии, поскольку негативно влияют на его течение [2].

Повторное обращение и госпитализация в пульмонологическое отделение ТОКБ в феврале 2017 г. были вызваны ухудшением состояния (прогрессирование одышки).

Объективный статус: без существенной динамики. Обращало на себя внимание снижение степени насыщения крови кислородом (SpO_2) с 96 (2015 г.) до 91%, что характеризует наличие дыхательной недостаточности 1-й степени и свидетельствует об отрицательной динамике заболевания. Показатели спирографии и бодиплетизмографии не показали существенной динамики.

Спирография от 27.02.2017. Жизненная емкость легких (ЖЕЛ) 85%Д, ФЖЕЛ 84%Д, объем форсированного выдоха за 1-ю с ($ОФВ_1$) 60%Д, $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ 76,4%.

Бодиплетизмография от 02.03.2017. Структура общей емкости легких не изменена. Бронхиальное сопротивление в норме. $VC = 93,5\%Д$; $TLC 82,8\%Д$; $RV 78,2\%Д$; $R_{tot} 43,1\%Д$.

СКТ ОГК от 25.03.2017. Грудная клетка обычной формы и размеров, деструктивных изменений в структуре ребер, позвонков, лопаток и ключиц не выявлено. В легких отмечены: ретикулярные (сетчатые) изменения за счет утолщения легочного интерстиция, выражены умеренно. Матовое стекло в зонах ретикулярных изменений определяется. Тракционные бронхоэктазы, сотовое легкое в кортикальных отделах выражены. Распределение изменений кортикальное базальное. Диафрагма расположена высоко, объем нижних долей уменьшен.

Просветы крупных бронхов не изменены. Междолевые щели и синусы свободны, жидкости в плевральных полостях нет. Жировая клетчатка средостения имеет гомогенное строение, увеличена в объеме (липоматоз). Лимфатические узлы в средостении и в корнях легких умеренно увеличены, не сливаются в конгломераты. Предсердия и желудочки сердца обычных размеров и формы. Аорта и ее ветви с признаками атеросклероза, верхняя полая вена в пределах возрастной нормы. Пищевод нормально расположен, стенки его не утолщены, просвет расширен, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы.

Заключение. КТ-картина характерна для обычной интерстициальной пневмонии.

Результаты СКТ ОГК были направлены на рассмотрение главному внештатному специалисту – рентгенологу-радиологу Минздрава РФ И.Е. Тюрину. Ответ получен в электронном варианте в регистрах ИЛФ 26.05.2017. Заключение: картина ОИП.

Учитывая длительное применение лекарственных препаратов по поводу сопутствующей патологии, в том числе L-тироксина (100 мг) с 1995 г., проводилась дифференциальная диагностика между ИЛФ и фиброзирующим альвеолитом лекарственного генеза. Поэтому на консилиуме принято решение о назначении пробной терапии преднизолоном *per os* 30 мг/сут в течение 1 мес с последующим уменьшением до поддерживающей (10 мг/сут), которую пациентка принимала в течение 1 года (с 10.03.2017 до 01.03.2018) без положительной клинической и КТ-динамики.

В дальнейшем больная продолжала наблюдаться. Основной диагноз: идиопатический легочный фиброз, медленно прогрессирующее течение с формированием «сотового легкого». Осложнение: хроническое легочное сердце, стадия компенсации. Дыхательная недостаточность 1-й степени.

Сопутствующий диагноз. ИБС: фибрилляция предсердий, пароксизмальная форма. Наджелудочковая экстрасистолия, пароксизмальная наджелудочковая тахикардия. ХСН, 1-я стадия. Гипертоническая болезнь, 3-я стадия. Риск сердечно-сосудистых осложнений 4. Диффузный узловый зоб, состояние после струмэктомии от 1995 г., послеоперационный гипотиреоз. Варикозная болезнь вен нижних конечностей, хроническая венозная недостаточность.

Состояние прогрессивно ухудшалось, нарастала одышка. В феврале 2019 г. в связи с ухудшением состояния (нарастанием одышки, повышением температуры до 38 °С, снижением сатурации крови кислородом 89%), госпитализирована в ТОКБ. Дифференциальная диагностика проводилась между обострением ИЛФ и внебольничной пневмонией. Согласно современным данным, несмотря на постепенное прогрессирование ИЛФ, течение заболевания может осложняться остро возникающими периодами ухудшения симптомов заболевания, не связанных с инфекцией дыхательных путей, тромбоэмболией ветвей легочной артерии (ТЭЛА), декомпенсацией сердечной недостаточности и другими известными факторами. Данные эпизоды обострения течения ИЛФ рассматриваются как обострение ИЛФ. Вопрос определения причины ухудшения при ИЛФ имеет принципиальное значение, поскольку связан с назначением терапии. Обострение ИЛФ, как правило, требует наращивания терапии глюкокортикостероидами (вплоть до проведения пульс-терапии), декомпенсация сопутствующей патологии, тромбоэмболия легочной артерии – соответствующего лечения. Инфекции же дыхательных путей – противомикробной терапии, в частности, наличие внебольничной пневмонии предусматривает обязательное назначение антибиотиков.

Анализ клинической картины показал, что нарастание одышки не сопровождалось усилением других признаков сердечной недостаточности. По данным эхокардиографии наблюдались признаки легочной гипертензии умеренной степени. Нарушений локальной сократимости не выявлено. Глобальная функция левого желудочка оставалась в пределах нормы.

Ситуация была расценена как внебольничная полисегментарная пневмония слева, тяжелое течение, вызванная *Actinobacter baumannii*. Фоновый диагноз: идиопатический легочный фиброз. Стадия сотового легкого, прогрессирующее течение. Назначение антибиотикотерапии привело к положительной клинической и рентгенологической динамике и стабилизации состояния.

15 марта 2018 г. была проконсультирована главным внештатным специалистом пульмонологом МЗ РФ профессором С.Н. Авдеевым, диагноз ИЛФ подтвержден, рекомендована паллиативная терапия препаратом нинтеданиб (варгатеф).

С февраля 2019 г. по программе паллиативной помощи начала прием препарата нинтеданиб (варгатеф) по 150 мг 2 раза/сут. В декабре 2019 г. в плановом порядке (динамическое наблюдение) госпитализирована в ТОКБ. Ухудшения состояния на фоне лечения нинтеданибом (варгатеф) за 10 мес нет, обострений заболевания не было. Терапию переносит хорошо. Показатели насыщения артериальной крови кислородом стабильны (SpO_2 91–92%). Показатели спирографии и бодиплетизмографии также без отрицательной динамики.

Спирография от 13.12.2019: ЖЕЛ 87%, ФЖЕЛ 87%, ОФВ₁ 67%, ОФВ₁/ФЖЕЛ 84%. Проба с бронхолитиком: результат пробы отрицательный.

СКТ ОГК от 18.12.2019: динамики в сравнении с данными предшествующего КТ исследования нет (30.01.2020, профессор И.Е. Тюрин, копия из регистров ИЛФ, номер пациента 1759).

Таким образом, на фоне лечения нинтеданибом (варгатефан) имеет место стабилизация течения заболевания, что является основной целью лечения ИЛФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИЛФ – неуклонно прогрессирующее заболевание с неблагоприятным прогнозом, клинические проявления которого, в первую очередь, – одышка при физической нагрузке и кашель, имитируют симптомы ряда других патологических состояний. Широкое внедрение в лечебно-диагностический процесс современных алгоритмов диагностики ИЛФ и повышение качества визуализационных методов, прежде всего КТБП, проводимые в рамках дифференциаль-

ного диагноза, открывают перспективы ранней диагностики данного патологического процесса. Своевременно назначенная антифибротическая терапия (нинтеданиб, пирфенидон) при ИЛФ позволяет замедлить прогрессирование патологического процесса и улучшить прогноз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопов А.Л., Баранова О.П., Богданов А.Н., Бондаренко И.Б., Двораковская И.В., Илькович М.М., Илькович Ю.М., Лучкевич В.С., Новикова Л.Н., Орлова Г.П., Орлов С.В. Интерстициальные и орфанные заболевания легких. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019: 560.
2. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Белевский А.С., Демур С.А., Илькович М.М., Коган Е.А., Самсонова М.В., Сперанская А.А., Тюрин И.Е., Черняев А.Л., Черняк Б.А., Черняк А.В., Шмелев Е.И. Диагностика и лечение идиопатического легочного фиброза Федеральные клинические рекомендации. *Пульмонология*. 2016; 26 (4): 399–419. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-4-399-419.
3. Kondoh Y., Cottin V., Brown K.K. Recent lessons learned in the management of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur. Respir. Rev.* 2017; 26 (145): 170050. DOI: 10.1183/16000617.0050-2017.
4. Lancaster L., Crestani B., Hernandez P., Inoue Y., Wachtlin D., Loaiza L., Quaresma M., Stowasser S., Richeldi L. Safety and survival data in patients with idiopathic pulmonary fibrosis treated with nintedanib: pooled data from six clinical trials. *BMJ Open Respir. Res.* 2019; 6 (1): e000397. DOI: 10.1136/bmjresp-2018-000397.
5. Fabrellas F.E., Sanchez P.R., Abad S.C., Juan J.G. Prognosis and follow-up of idiopathic pulmonary fibrosis. *Med. Sci. (Basel)*. 2018; 6 (2): 51. DOI: 10.3390/medsci6020051.
6. Kreuter M., Swigris J., Pittrow D., Geier S., Klotzsche J., Prasse A., Wirtz H., Koschel D., Andreas S., Claussen M., Grohé C., Wilkens H., Hagmeyer L., Skowasch D., Meyer J.F., Kirschner J., Gläser S., Kahn N., Welte T., Neurohr C., Schwaiblmair M., Held M., Bahmer T., Oqueka T., Frankenberger M., Behr J. The clinical course of idiopathic pulmonary fibrosis and its association to quality of life over time: longitudinal data from the INSIGHTS-IPF registry. *Respir. Res.* 2019; 20 (1): 59. DOI: 10.1186/s12931-019-1020-3.
7. Crestani B., Huggins J.T., Kaye M., Costabel U., Glaspole I., Ogura T., Song J.W., Stansen W., Quaresma M., Stowasser S., Kreuter M. Long-term safety and tolerability of nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: results from the open-label extension study, INPULSIS-ON. *Lancet Respir. Med.* 2019; 7 (1): 60–68. DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30339-4.
8. Raghu G., Collard H.R., Egan J.J., Martinez F.J., Behr J., Brown K.K., Colby T.V., Cordier J.F., Flaherty K.R., Lasky J.A., Lynch D.A., Ryu J.H., Swigris J.J., Wells A.U., Ancochea J., Bouros D., Carvalho C., Costabel U., Ebina M., Hansell D.M., Johkoh T., Kim D.S., King T.E. Jr., Kondoh Y., Myers J., Müller N.L., Nicholson A.G., Richeldi L., Selman M., Dudden R.F., Griss B.S., Protzko S.L., Schünemann H.J.; ATS/ERS/JRS/ALAT Committee on Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic

- pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 183 (6): 788–824. DOI: 10.1164/rccm.2009-040GL.
9. Travis W.D., Costabel U., Hansell D.M., King T.E. Jr., Lynch D.A., Nicholson A.G., Ryerson C.J., Ryu J.H., Selman M., Wells A.U., Behr J., Bouros D., Brown K.K., Colby T., Collard H.R., Cordeiro C.R., Cottin V., Crestani B., Drent M., Dudden R.F., Egan J., Flaherty K., Hogaboam C., Inoue Y., Johkoh T., Kim D.S., Kitaichi M., Loyd J., Martinez F.J., Myers J., Protzko S., Raghu G., Richeldi L., Sverzellati N., Swigris J., Valeyre D.; ATS/ERS Committee on Idiopathic Interstitial Pneumonias. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 188 (6): 733–748. DOI: 10.1164/rccm.201308-1483ST.
 10. Raghu G., Chen S.Y., Yeh W.S., Maroni B., Li Q., Lee Y.C., Collard H.R. Idiopathic pulmonary fibrosis in US Medicare beneficiaries aged 65 years and older: incidence, prevalence, and survival, 2001–11. *Lancet Respir. Med.* 2014; 2 (7): 566–572. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70101-8.
 11. Lynch D.A., Sverzellati N., Travis W.D., Brown K.K., Colby T.V., Galvin J.R., Goldin J.G., Hansell D.M., Inoue Y., Johkoh T., Nicholson A.G., Knight S.L., Raoof S., Richeldi L., Ryerson C.J., Ryu J.H., Wells A.U. Diagnostic criteria for idiopathic pulmonary fibrosis: a Fleischner Society White Paper. *Lancet Respir. Med.* 2018; 6 (2): 138–153. DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30433-2.

Сведения об авторах

Тетенева Анна Валентиновна, д-р мед. наук, зам. главного врача по медицинской части, Медико-санитарная часть № 2; профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4323-2798.

Калужин Вадим Витальевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9640-2028.

Чернявская Галина Михайловна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-0105-2307.

Беспалова Инна Давидовна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ; и.о. зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-4513-6329.

Черногорюк Георгий Эдинович, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5780-6660.

Завадовская Вера Дмитриевна, д-р мед. наук, профессор, и.о. зав. кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск.

Жогина Татьяна Владимировна, канд. мед. наук, доцент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск.

Устюжанина Елена Анатольевна, канд. мед. наук, зав. пульмонологическим отделением, ТОКБ, г. Томск.

Кузин Евгений Викторович, врач-пульмонолог, пульмонологическое отделение, ТОКБ, г. Томск.

Варфоломеева Ирина Александровна, врач-пульмонолог, пульмонологическое отделение, ТОКБ, г. Томск.

Седляр Ольга Владимировна, врач-пульмонолог, пульмонологическое отделение, ТОКБ, г. Томск.

Медикова Елизавета Алексеевна, аспирант, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск.

Кощавцева Юлия Игоревна, ординатор кафедры пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск.

Потапов Кирилл Владимирович, ординатор кафедры пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск.

Карзилов Александр Иванович, д-р мед. наук, чл.-корр. Российской академии естествознания, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск.

Поровский Ярослав Витальевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск.

Соловьев Михаил Михайлович, д-р мед. наук, доцент, кафедра госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) **Тетенева Анна Валентиновна**, e-mail: anna.dubodelova@mail.ru

Поступила в редакцию 10.06.2020

Подписана в печать 28.12.2020

К 75-летию со дня рождения Вячеслава Викторовича Новицкого

Посвящается памяти одного из ярчайших лидеров российской науки – ученому с мировой известностью, общественно-политическому и культурному деятелю, основателю и главному редактору журнала «Бюллетень сибирской медицины» академику РАН Вячеславу Викторовичу Новицкому



Седьмого января 2021 г. Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ), г. Томск, Российская академия наук и медицинская общественность понесли огромную утрату – на 75-м году ушел из жизни талантливый ученый и организатор, выдающийся представитель научной интеллигенции Вячеслав Викторович Новицкий.

Вячеслав Викторович Новицкий – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный работник культуры РФ, заведующий кафедрой патофизиологии СибГМУ (2000–2017), ректор СибГМУ (1997–2014). С 1990 по 2000 г. – по совместительству ведущий научный сотрудник НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (ныне Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского научного исследовательского медицинского центра Российской академии наук).

Вячеслав Викторович родился 23 августа 1946 г. в семье выдающихся врачей и преподавателей. Его

отец, Виктор Михайлович, был родом из сосланных в Сибирь польских дворян. Родители после окончания Томского электромеханического института инженеров железнодорожного транспорта совмещали преподавательскую работу в Томском политехническом институте (сейчас – Томский политехнический университет) и Томском институте радиоэлектроники и электронной техники (сейчас – Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники); В.М. Новицкий – проректор по учебной работе с 1965 по 1978 г.). Однако большое влияние на воспитание Вячеслава Викторовича и выбор его будущей профессии оказала бабушка – Елена Лазаревна, принадлежавшая к известной династии профессоров-медиков Шершевских.

Окончив томскую среднюю школу № 6 с серебряной медалью, В.В. Новицкий поступил на лечебный факультет Томского медицинского института (ТМИ, с 1993 г. – СибГМУ). После окончания вуза по специальности «лечебное дело» (1969), имея опыт работы в научном кружке на кафедре патофизиоло-



Студент
Вячеслав
Новицкий

гии при наставничестве профессора Д.И. Гольдберга, пять-шесть серьезных научных публикаций, многочисленные дипломы и грамоты, решил связать свою жизнь с медицинским университетом и наукой. Еще студентом стал возглавлять Научное студенческое общество им. Н.И. Пирогова ТМИ (1967–1972).

В ТМИ начинал работать младшим научным сотрудником Центральной научно-исследовательской лаборатории и ассистентом кафедры патофизиологии. Прошел все этапы становления как научный работник и преподаватель, проявляя увлеченность и преданность делу. В 1972 г. под научным руководством профессоров Д.И. Гольдберга и Е.Д. Гольдберга защитил кандидатскую диссертацию «Реакции системы крови при введении 5-фторурацила и фторафура в эксперименте», в 1986 г. – докторскую диссертацию «Реактивность системы крови в ранние и отдаленные сроки после действия противоопухолевых антибиотиков антрациклинового ряда» (научный консультант – член-корреспондент АМН СССР, профессор Е.Д. Гольдберг). Ученое звание профессора по кафедре патологической физиологии присвоено в 1989 г. В 1999 г. избран членом-корреспондентом РАМН (по специальности «патологическая физиология»), в 2005 г. – действительным членом (академиком) РАМН (с 2014 г. – академик РАН). В феврале 1988 г. – первый избранный на альтернативной основе проректор по научной работе, в декабре 1997 г. – первый избранный ректор СибГМУ.

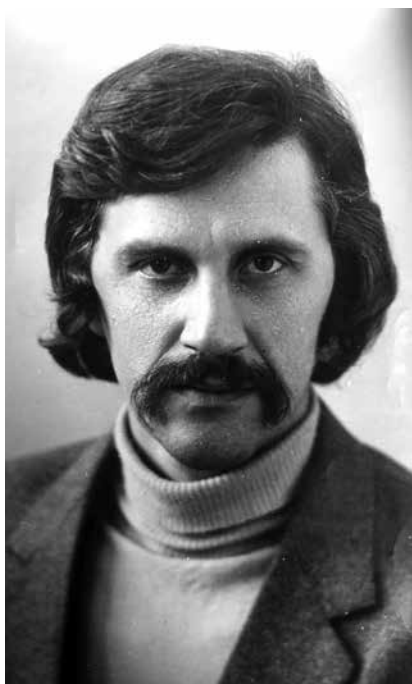
Будучи ректором СибГМУ, основным своим вкладом в развитие вуза считал поднятие рейтинга уни-

верситета с 36-го до 3-го места среди медицинских вузов России. Ввел в эксплуатацию новые корпуса СибГМУ – учебно-лабораторный, консультативный и лечебно-диагностический (ныне медицинский центр «Профессор»). Полностью подготовил к сдаче в эксплуатацию новый корпус госпитальных клиник СибГМУ. При нем был создан современный симуляционный центр СибГМУ и проведена существенная модернизация научно-образовательного процесса. СибГМУ стал первым среди медицинских вузов России, в котором была создана инновационная инфраструктура, реализующая цикл продвижения научных разработок на рынок – от идеи до организации производства. В 2005 г. за проведенные реформы Независимым общественным советом конкурса «Золотая медаль «Европейское качество» (Gold Medal «European Quality») В.В. Новицкий был награжден почетным знаком «Ректор года», а возглавляемый им вуз удостоен престижной награды «За европейское качество образования».

Однако главными своими достижениями на посту проректора и ректора СибГМУ В.В. Новицкий считал успешную реализацию уникальной программы по сохранению исторического наследия университета, в числе которых галерея горельефных портретов выдающихся ученых на фасаде клиник СибГМУ, издание и переиздание двухтомного биографического словаря о профессорах СибГМУ, создание уникального музея истории кафедральных научных школ СибГМУ и существенное омоложение профессорско-преподавательского состава университета за счет молодых докторов наук. Всегда подчеркивал важность соблюдения принципа преемственности в науке, образовании и работе врача. Большое внимание уделял воспитанию и поддержке талантливой молодежи, повышению качества медицинского образования путем внедрения в процесс обучения новейших достижений медико-биологической науки.

Вячеслав Викторович Новицкий – представитель одной из ведущих отечественных научно-медицинских школ – томской школы патофизиологов, среди воспитанников которой 6 действительных членов и 2 члена-корреспондента АМН СССР, РАМН, РАН, 8 заслуженных деятелей науки РФ, 2 лауреата Государственной премии СССР, 2 лауреата премии Правительства РФ, 5 лауреатов именных академических премий, более 100 докторов и 400 кандидатов наук.

Будучи прямым учеником и последователем выдающихся российских патофизиологов Д.И. Гольдберга и Е.Д. Гольдберга и продолжателем традиций томской классической университетской патофизиологической школы, Вячеслав Викторович разработал собственное научное направление, в рамках которого



Доцент
В.В. Новицкий

продолжают исследоваться **вопросы** дисрегуляторной патологии кроветворения при действии противоопухолевых препаратов и других болезнетворных факторов, фундаментальные (в том числе молекулярные) механизмы повреждения клеток красной и белой крови при психических расстройствах и социально значимой соматической патологии инфекционного и неинфекционного генеза. Научная школа под руководством академика РАН (РАМН) В.В. Новиц-

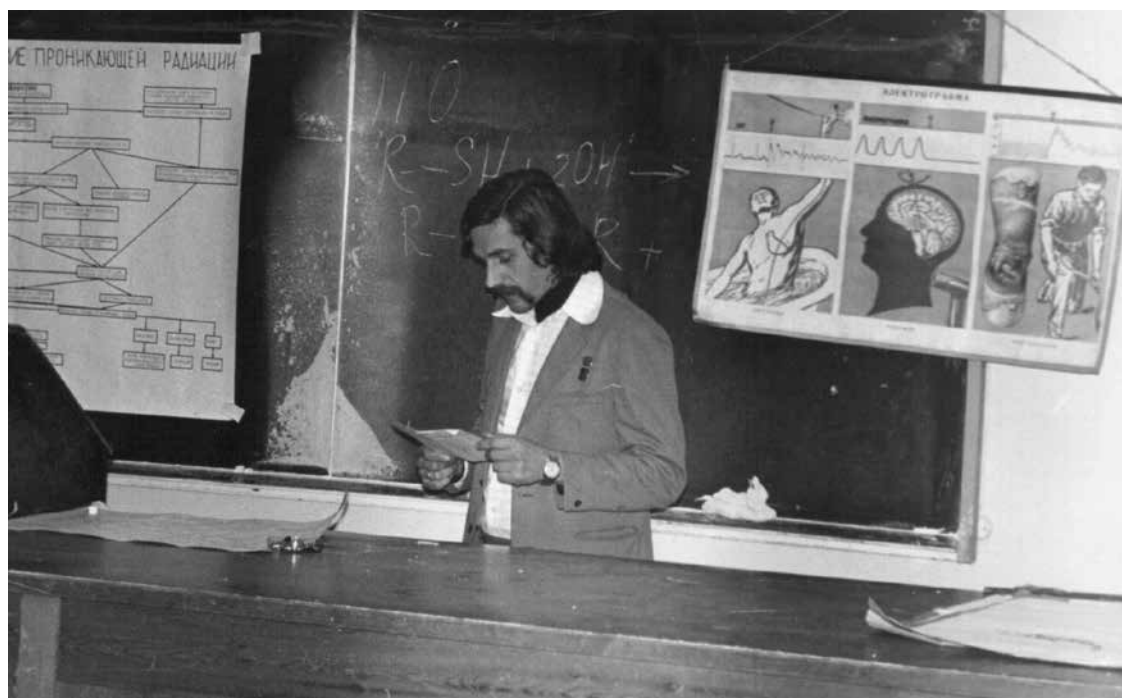
кого 6 раз подтверждала звание «Ведущей научной школы Российской Федерации» в конкурсах научных школ Совета по грантам Президента Российской Федерации (2003, 2006, 2008, 2012, 2014, 2016).

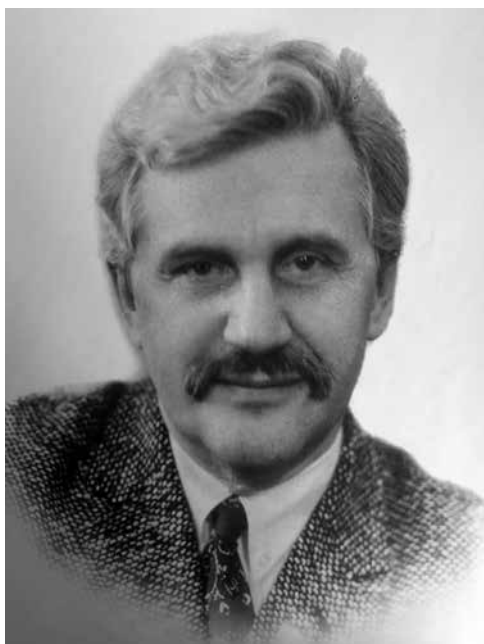
Вячеслав Викторович подготовил 45 докторов и 108 кандидатов наук, большинство из которых защитились в возрасте до 35 лет. В 2015–2016 гг. входил в ТОП-100 самых цитируемых ученых России по направлению «Медицина и здравоохранение». Автор более 800 печатных работ в области теоретической гематологии, патофизиологии, цитологии и клеточной биологии, в том числе 44 монографий, 18 учебных пособий, 1 пособия для врачей, 2 авторских свидетельств и 17 патентов РФ на изобретения. Создатель уникального атласа по электронной микроскопии эритроцитов. Автор и редактор 5 изданий учебника (1994, 2001, 2006, 2009, 2018) по патологической физиологии для студентов медицинских вузов (на русском и казахском языках), соавторы которых – известные патофизиологи, представители старейших московской, казанской, томской, харьковской, тбилисской научных медицинских школ и крупные специалисты учреждений РАН.

За цикл работ «Молекулярные основы патологии клеток крови при социально значимых заболеваниях» в 2010 г. присуждена почетная награда академии наук – премия РАМН имени И.В. Давыдовского в области медицины по общей патологии (присуждается один раз в 10 лет).

Вячеслав Викторович – ярчайший пример сочетания многих выдающихся талантов – ученого,

Доцент
В.В. Новицкий
на лекции по
патофизиологии





Проректор В.В. Новицкий

организатора, активного общественно-политического и культурного деятеля. Основатель, художественный руководитель, автор текстов и сценариев для спектаклей популярного в 1970–1980 гг. творческого объединения «КОМУ» (клуба отдыха молодых ученых при томском Доме ученых). В 1996 г. ему было присвоено звание «Заслуженный работник культуры Российской Федерации».



Вячеслав Викторович – обладатель многочисленных государственных, ведомственных и общественных наград России, Польши, Великобритании, Германии, Франции, Бельгии за личный вклад в науку, культуру, гуманизм и прогрессивную политику. Действительный член Польской академии медицины (с 1998), действительный член Всемирной академии медицины Альберта Швейцера (с 1999), действительный член Международной академии наук высшей школы (с 1997). Соросовский профессор (1997). Professor honoris causa of philosophy (in humanities) Польской академии медицины (2006).

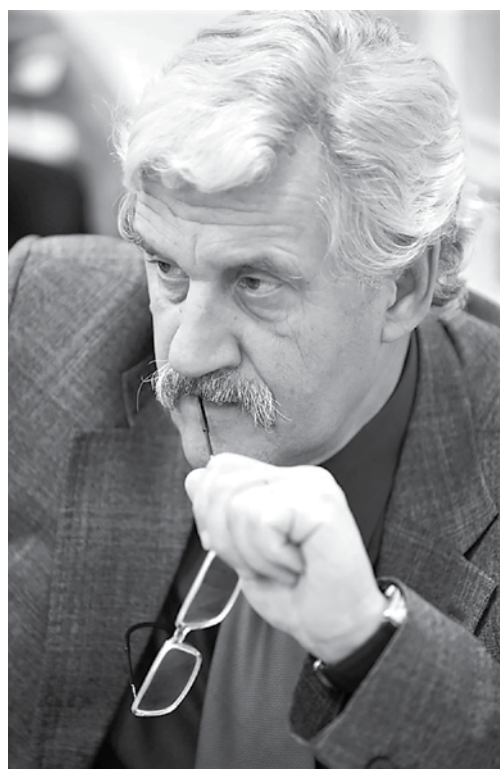
За вклад в становление российской демократии получил благодарность Президента Российской Федерации Б.И. Ельцина и памятный подарок – именные наручные часы (1996). Депутат Законодательной Думы Томской области второго (1997–2001), третьего (2001–2006) и четвертого (2006–2011) созывов. В 2000–2006 гг. дважды входил в число наиболее влиятельных региональных лидеров России. За трудовые успехи в области здравоохранения и особо выдающиеся заслуги в деле укрепления России удостоен государственных наград – ордена Почета (2005) и ордена «За заслуги перед Отечеством» IV степени (2010). Почетный гражданин города Томска (2006).

Заместитель председателя Совета ректоров медицинских и фармацевтических вузов России при Министерстве здравоохранения России (2009–2013), член экспертного совета ВАК при Минобрнауки России (2011–2013), член научно-координационного совета ФЦП при Минобрнауки России (2011–2013), член Президиума СО РАМН (1998–2013), член экспертного совета Российского научного фонда (с 2013). Лауреат конкурсов Томской области в сфере образования, науки, здравоохранения и культуры (1997, 2004, 2016). Победитель конкурса «Человек года» Томской области в номинации «Ученый года» (2001). Лауреат Всероссийского конкурса «Ученый года» (2010). «Почетный профессор СибГМУ» (2016). Ректор года (всероссийские конкурсы 2009, 2012, 2013 гг.). Победитель конкурса губернатора Томской области для профессоров (2017). Председатель диссертационного совета Д 208.096.01 при СибГМУ. Создатель и главный редактор журнала «Бюллетень сибирской медицины».

Все, кто учился у Вячеслава Викторовича и работал с ним, знали и будем помнить его как человека чрезвычайной силы духа, целеустремленного, добивающегося совершенного результата в любом направлении своей работы. «Патологический оптимист», – так нередко он сам о себе говорил. Но ему ничего не давалось легко и просто, как могло казаться со стороны; его успех – результат огромного каждодневного

труда. Его работоспособность поражала многих. А еще удивляли огромное жизнелюбие, желание творить и быть востребованным, преумножать свои знания и делиться ими с другими. Он сделал невероятно много хорошего и оставил добрую память о себе...

Имя Вячеслава Викторовича Новицкого можно прочесть на первой в истории города Томска авангардной парковой скульптуре «Беременная», изготовленной заслуженным художником России Н. Гнедых и установленной ректором СибГМУ В.В. Новицким рядом с акушерской клиникой университета (2005). Память о Вячеславе Викторовиче навсегда останется в его книгах – и не только по патофизиологии, но и в одной из последних его книг – его «спонтанном эссе» «О разном... Искренне. Вячеслав Новицкий» (2016), ставшей настольной у тех, кому интересны и дороги история Томска, томской медицины и томской интеллигенции.



Ректор В.В. Новицкий

Учебник
1994 года



Учебник
2006 года



Учебник 2014 года



Учебник
2018 года



Кафедра патофизиологии. 2008 г.



Модераторы форума
«Развитие Сибири». 2012 г.



Шествие со студентами. 2012 г.



Молодые доктора наук. 2012 г.



Выпускники лечфака

РЕКТОР НАВСЕГДА

ISSN PRINT: 1682-0363 | ISSN ONLINE: 1819-3684 | Бюллетень сибирской медицины
Bülleten' sibirskoj mediciny

bulletinENG | РУС

Бюллетень сибирской медицины

Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ | О ЖУРНАЛЕ | МОЙ КАБИНЕТ | ПОИСК | СВЕЖИЙ НОМЕР | АРХИВ | НОВОСТИ | АРХИВ 2002-2011



Научно-практический рецензируемый журнал

Научно-практический журнал общемедицинского профиля «Бюллетень сибирской»

медицины/Bulletin of Siberian Medicine» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты научных исследований, ориентированных на разработку передовых медицинских технологий.

С целью объединения научной медицинской общественности, распространения актуальной информации и содействия профессиональному росту специалистов журнал публикует оригинальные научные статьи, представляющие результаты экспериментальных и клинических исследований, лекции, научные обзоры, отражающие результаты исследований в различных областях медицины. Приоритет для публикации предоставляется материалам по перспективным направлениям современной медицинской науки:

- молекулярная медицина,
- регенеративная медицина и биоинженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина,
- трансляционная медицина.

Журнал выполняет широкий спектр функций, которые в целом дают представление об основных направлениях развития российской медицинской науки и ее достижениях, ее конкурентоспособности и степени интеграции в международное научное сообщество.

Научно-практический рецензируемый журнал «Бюллетень сибирской медицины / Bulletin of Siberian Medicine» издается Сибирским государственным медицинским университетом с 2001 г. при поддержке ТРОО «Академия доказательной доказательной медицины».

Главный редактор – член-корреспондент РАН О.И. Уразова.

Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № 77-7366 от 26.03.2001 г.

ISSN 1682-0363

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция 01.12.2015).

Индексация:

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- Киберленинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на страницах «Бюллетень сибирской медицины» публикуются

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Рецензирование

Этика публикаций

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок различного характера

Том 16, № 1 (2017)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия

бронхиальная астма воспаление дети

OPEN ACCESS

WILEY CROSSREF

АНТИПЛАГИАТ

AcademicKeys

АНРИ

CYBERLENINKA

DOAJ

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ БИБЛИОТЕКА LIBRARY.RU

EMERGING SOURCES CITATION INDEX

Global F5

Google

ЭБС

NEICON

NLM Catalog

Open Archives

Research Bible

РГБ

Science Index

rnmi.ru

ROAD

Russian Science Citation Index

Scopus

ULRICH'S PERIODICALS DIRECTORY

НАУЧНО-ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЦЕНТР НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИИЦ НАН)

WorldCat

znaniy.com

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (online)
БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
2021. Т. 20. № 3. 1–236
Подписной индекс 10650