

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



Том 21

№ 3. 2022

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

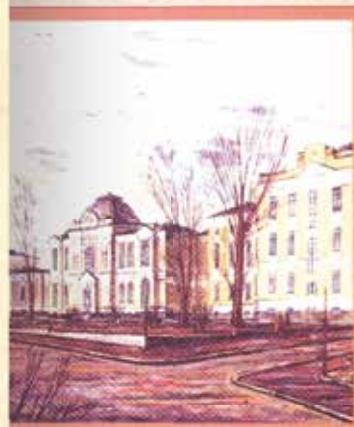
ISSN 1682-0563

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 1. 2002

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 3. 2002

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 4. 2002

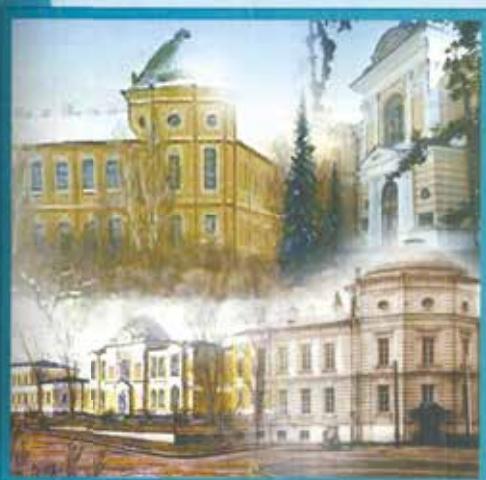
ISSN 1682-0563

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 2. 2004

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 2. 2012

20 ЛЕТ ЖУРНАЛУ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ»

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 21, № 3, 2022

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.tomsk@mail.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 28.09.2022 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 28,5. Усл. печ. л. 28,0.
Тираж 500 экз. Заказ 703.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 30.09.2022.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

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

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

В.М. Алифирова, профессор, д-р мед. наук (Томск)

Л.И. Афтанс, 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)

А. Antsaklis, профессор (Греция)

F. Chervenak, профессор (США)

C. Dadak, профессор (Австрия)

Y. Dekhtyar, профессор (Латвия)

M. Epple, профессор (Германия)

D. Gailani, профессор (США)

P. Odermatt (Швейцария)

J. Odland (Норвегия)

M. Poyurovsky, профессор (Израиль)

V. Zhdankin, профессор (США)

При перепечатке ссылка на
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна.
Ответственность за достоверность информации,
содержащейся в рекламных материалах, несут рекламирующие.

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

Peer-reviewed scientific-practical journal
Issued quarterly

Volume 21, No. 3, 2022

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

FOUNDER AND PUBLISHER:

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

Registered by the Ministry of Mass Media and Communications of the Russian Federation

Certificate of registration
No. 77-7366 of 26.03.2001

The journal "Bulletin of SiberianMedicine" is included in the list of peer-reviewed scientific journals and publications issued in the Russian Federation, which should publish main scientific results of doctoral and Candidate of Sciences theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed in:
Scopus
Web of Science (WoS (ESCI))
Science Index
RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Editorial Board Office:
107, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation
Telephone: +7-(382-2)-51-41-53.
<http://bulletin.tomsk.ru>
E-mail: bulletin.tomsk@mail.ru

Publisher: Siberian State Medical University.
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050,
Russian Federation.
Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid
Translators: M.E. Orlova, K.Yu.Skvortsova
Electronic makeup, cover design
L.D. Krivtsova

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

Signed to print on 28.09.2022
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.s. 28,5. C.p.s. 28,0.
500 copies. Order No. 703.

The price – free.
Date of publication 30.09.2022.

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF:

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

SCIENCE EDITOR

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

EDITORIAL BOARD:

V.M. Alifirova, *Professor (Tomsk)*

L.I. Aftanas, *Academician of RAS (Novosibirsk)*

A.A. Baranov, *Academician of RAS (Moscow)*

A.I. Vengerovsky, *Professor (Tomsk)*

Ye.G. Grigoriyev, *Corresponding Member of RAS (Irkutsk)*

A.M. Dygai, *Academician of RAS (Tomsk)*

M.V. Zav'yalova, *Professor (Tomsk)*

L.V. Kapilevich, *Professor (Tomsk)*

S.I. Karas, *Professor (Tomsk)*

R.S. Karpov, *Academician of RAS (Tomsk)*

V.I. Kiselyov, *Corresponding Member of RAS (Barnaul)*

S.V. Logvinov, *Professor (Tomsk)*

À.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

<i>Бахтин В.М., Изможерова Н.В., Белоконова Н.А.</i>	
Комплексообразование фторхинолонов с ионами магния	6
<i>Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Быков В.В., Дзюман А.Н., Носарев А.В., Григорьева А.В., Гусакова С.В.</i>	
Морфологические изменения в сердце и аорте крыс при ди- ет-индукционном метаболическом синдроме	13
<i>Веснина Ж.В., Анашбаев Ж.Ж., Тетенева А.В., Кривоногов Н.Г., Беспалова И.Д., Сазонова С.И., Сердюков Н.А., Потапов К.В.</i>	
Радионуклидные методы в оценке легочной перфузии и вен- тиляции у пациентов с дисплазией соединительной ткани	22
<i>Галкин С.А., Васильева С.Н., Симуткин Г.Г., Иванова С.А.</i>	
Нарушения исполнительных функций при аффективных расстройствах: различия при биполярном аффективном рас- стройстве и депрессивном эпизоде	28
<i>Галкин С.А., Найденко Д.Г., Корнетов А.Н., Гойко В.Л., Мягков М.Г.</i>	
Особенности отношения к вакцинации против COVID-19 в России	34
<i>Добнер С.Ю., Федосенко С.В., Родионов Е.О., Яровой Н.Д., Петров В.А., Тузиков С.А., Старовойтова Е.А., Самыкина И.А.</i>	
Рак легкого у больных ХОБЛ и факторы, ассоциированные со снижением их выживаемости	41
<i>Киблицкая А.А., Максимов А.Ю., Гончарова А.С., Непомнящая Е.М., Златник Е.Ю., Егоров Г.Ю., Лукбанова Е.А., Заикина Е.В., Волкова А.В.</i>	
Варианты создания гетеротопических и ортопатических PDX-моделей колоректального рака человека	50
<i>Королькова А.А., Хижса В.В., Козлова Д.И., Маслянский А.Л., Вавилова Т.В.</i>	
Кальпротектин в плазме крови как новый биомаркер в оценке активности ревматоидного артрита	59
<i>Мальцев С.В., Сизякина Л.П., Лебеденко А.А.</i>	
Особенности функционирования врожденного иммунитета у детей с хронической крапивницей	67

ORIGINAL ARTICLES

<i>Bakhtin V.M., Izmoyerova N.V., Belokonova N.A.</i>	
Complexation of fluoroquinolones with magnesium ions	6
<i>Birulina J.G., Ivanov V.V., Buyko E.E., Bykov V.V., Dzyuman A.N., Nosarev A.V., Grigoreva A.V., Gusakova S.V.</i>	
Morphological changes in the heart and aorta of rats with diet-induced metabolic syndrome	13
<i>Vesnina Zh.V., Anashbaev Zh.Zh., Teteneva A.V., Krivonogov N.G., Bespalova I.D., Sazonova S.I., Serdyukov N.A., Potapov K.V.</i>	
Radiionuclide methods in assessing pulmonary perfusion and ventilation in patients with connective tissue dysplasia	22
<i>Galkin S.A., Vasilieva S.N., Simutkin G.G., Ivanova S.A.</i>	
Executive dysfunction in affective disorders: differences in bipolar affective disorder and depressive episode	28
<i>Galkin S.A., Naidenko D.G., Kornetov A.N., Goiko V.L., Myagkov M.G.</i>	
Features of the attitude to vaccination against COVID-19 in Russia	34
<i>Dobner S.Yu., Fedosenko S.V., Rodionov E.O., Yarovoy N.D., Petrov V.A., Tuzikov S.A., Starovoitova E.A., Samykina I.A.</i>	
Lung cancer in patients with COPD and factors associated with reduced survival	41
<i>Kiblitskaya A.A., Maksimov A.Y., Goncharova A.S., Nepomnyashchaya Ye.M., Zlatnik Ye.Y., Yegorov G.Y., Lukbanova Ye.A., Zaikina Ye.V., Volkova A.V.</i>	
Variants of creating heterotopic and orthotopic PDX models of human colorectal cancer	50
<i>Korolkova A.A., Khizha V.V., Kozlova D.I., Maslyanskiy A.L., Vavilova T.V.</i>	
Calprotectin in the blood plasma as a new biomarker in assessing the activity of rheumatoid arthritis	59
<i>Maltsev S.V., Sizyakina L.P., Lebedenko A.A.</i>	
Features of the functioning of innate immunity in children with chronic idiopathic urticaria	67

Мустафина Л.Р., Логвинов С.В., Нарыжная Н.В., Курбатов Б.К., Маслов Л.Н.	73	Mustafina L.R., Logvinov S.V., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Maslov L.N. The effect of age and a high-fat, high-carbohydrate diet on the development of arterial hypertension and kidney disease in the experiment
Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н.	81	Nonka T.G., Lebedeva E.V., Repin A.N. The effect of depressive disorder on the clinical presentation of coronary artery disease and five-year survival of patients after myocardial infarction
Сметаненко Е.А., Хонина Н.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Баторов Е.В., Пасман Н.М., Черных Е.Р.	87	Smetanenko E.A., Khonina N.A., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Batorov E.V., Pasman N.M., Chernykh E.R. Expression of inhibitory receptors PD-1, CTLA-4, and Tim-3 by peripheral T cells during pregnancy
Стилиди И.С., Ковалева О.В., Грачев А.Н., Чевкина Е.М., Подлесная П.А., Царапаев П.В., Сулейманов Э.А., Кушлинский Н.Е.	96	Stiliidi I.S., Kovaleva O.V., Gratchev A.N., Tchevkina E.M., Podlesnaya P.A., Tsarapaev P.V., Suleymanov E.A., Kushlinskii N.E. sPD-1/sPD-L1 proteins in non-small cell lung cancer and esophageal squamous cell carcinoma
Тигунцев В.В., Герасимова В.И., Корнетова Е.Г., Федоренко О.Ю., Семке А.В., Корнетов А.Н.	105	Tiguntshev V.V., Gerasimova V.I., Kornetova E.G., Fedorenko O.Y., Semke A.V., Kornetov A.N. Association of polymorphic variants of GRIN2A and GRIN2B genes with alcohol and tobacco abuse in patients with schizophrenia
Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Котиева И.М., Морозова М.И.	112	Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Surikova E.I., Neskubina I.V., Pogorelova Yu.A., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Kotieva I.M., Morozova M.I. Insulin-like growth factors and their carrier proteins in kidneys of rats with experimental diabetes, malignant tumor, and their combination
Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Кононова Т.Е., Невская К.В., Андреев С.Л.	120	Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Denisenko O.A., Kononova T.E., Nevskaya K.V., Andreev S.L. Differentiation and subpopulation composition of VEGFR2+ cells in the blood and bone marrow in ischemic cardiomyopathy
ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ		REVIEWS AND LECTURES
Брагина О.Д., Чернов В.И., Деев С.М., Толмачев В.М.	132	Bragina O.D., Chernov V.I., Deyev S.M., Tolmachev V.M. Clinical possibilities of HER2-positive breast cancer diagnosis using alternative scaffold proteins

<i>Веснина Ж.В., Гракова Е.В.</i> Лучевые методы диагностики в оценке состоятельности коронарных шунтов	140	<i>Vesnina Zh.V., Grakova E.V.</i> Diagnostic radiology methods for assessing coronary artery bypass graft viability
<i>Гарбузенко Д.В.</i> Современные стратегии таргетной терапии фиброза печени	154	<i>Garbuzenko D.V.</i> Current strategies for targeted therapy of liver fibrosis
<i>Зоркальцев М.А., Завадовская В.Д., Саприня Т.В., Замышевская М.А., Удодов В.Д., Шестаков А.В., Михайлова А.А., Лойко Ю.Н., Мусина Н.Н.</i> Патоген-специфическая молекулярная визуализация и методы молекулярного тестирования в прогнозе осложненного течения синдрома диабетической стопы, риска ампутаций и выживаемости пациентов	166	<i>Zorkaltsev M.A., Zavadovskaya V.D., Saprinya T.V., Zamyshevskaya M.A., Udodov V.D., Shestakov A.V., Mikhailova A.A., Loyko Yu.N., Musina N.N.</i> Pathogen-specific molecular imaging and molecular testing methods in the prognosis of the complicated course of diabetic foot syndrome, the risk of amputation, and patient survival
<i>Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Терентьева Н.Н., Грекова Е.В., Копьева К.В., Усов В.Ю., Гарганеева Н.П., Павленко О.А., Горелова Ю.В., Тетенева А.В.</i> Перспективные направления лечения хронической сердечной недостаточности: совершенствование старых или разработка новых?	181	<i>Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Bespalova I.D., Kalyuzhina E.V., Terentyeva N.N., Grakova E.V., Kopeva K.V., Usov V.Yu., Garganeeva N.P., Pavlenko O.A., Gorelova Yu.V., Teteneva A.V.</i> Promising directions in the treatment of chronic heart failure: improving old or developing new ones?
<i>Крапошина А.Ю., Собко Е.А., Демко И.В., Казмерчук О.В., Кацер А.Б., Абрамов Ю.И.</i> Роль катепсина S в патофизиологии бронхиальной астмы	198	<i>Kraposhina A.Yu., Sobko E.A., Demko I.V., Kazmerchuk O.V., Kacer A.B., Abramov Yu.I.</i> The role of cathepsin S in the pathophysiology of bronchial asthma
<i>Кучер А.Н., Валиахметов Н.Р., Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Павлюкова Е.Н., Назаренко М.С.</i> Фенотипическая вариабельность гипертрофической кардиомиопатии у носителей патогенного варианта p.Arg870His гена MYH7	205	<i>Kucher A.N., Valiakhmetov N.R., Salakhov R.R., Golubenko M.V., Pavlyukova E.N., Nazarenko M.S.</i> Phenotype variation of hypertrophic cardiomyopathy in carriers of the p.Arg870His pathogenic variant in the MYH7 gene
<i>Потекаев Н.Н., Борзых О.Б., Шнайдер Н.А., Петрова М.М., Карпова Е.И., Насырова Р.Ф.</i> Синтез коллагена в коже: генетические и эпигенетические аспекты	217	<i>Potekaev N.N., Borzykh O.B., Shnayder N.A., Petrova M.M., Karpova E.I., Nasyrova R.F.</i> Collagen synthesis in the skin: genetic and epigenetic aspects
ЮБИЛЕИ		JUBILEES
Ростислав Сергеевич Карпов (к 85-летию со дня рождения)	227	<i>Rostislav S. Karpov</i> (devoted to the 85 th birthday)

УДК 616.33:543.215.1-71

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-6-12>

Комплексообразование фторхинолонов с ионами магния

Бахтин В.М., Изможерова Н.В., Белоконова Н.А.

Уральский государственный медицинский университет (УГМУ)

Россия, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

РЕЗЮМЕ

Цель. Провести анализ прочности комплексных соединений фторхинолонов левофлоксацина и моксифлоксацина с ионами магния.

Материалы и методы. В диапазоне концентраций 0,0–1,0 ммоль/л исследовано образование комплексов с ионами магния фторхинолонов левофлоксацина и моксифлоксацина и лигандов сравнения динатрия этилендиаминтетраацетата (ЭДТА), цитрата натрия и глицина. Согласно разработанной авторами методике (патент RU 2680519 C1), измеряли скорость модельной реакции образования грубодисперсной системы фосфатов магния. Комплексообразующую активность лигандов выражали относительно активности динатрия ЭДТА и сопоставляли с теоретическими константами равновесий соответствующих реакций. Зависимость комплексообразующей активности от дозы рассчитывали по уравнению Михаэлиса – Ментен, вычисляли концентрацию, при которой достигался полумаксимальный эффект (C_{50}).

Результаты. Установлена корреляция между активностью динатрия ЭДТА, цитрат-ионов, глицина и теоретическими их константами равновесия ($R = -0,87$, $p < 0,001$). Левофлоксацин и моксифлоксацин в диапазоне концентраций 0,0–0,4 ммоль/л проявляли меньший комплексообразующий эффект, чем динатрия ЭДТА ($p < 0,001$), в диапазоне концентраций 0,6–1,0 ммоль/л их эффект был сопоставим ($p > 0,050$). Активность фторхинолонов была одинаковой во всех концентрациях ($p > 0,050$), однако C_{50} моксифлоксацина была меньше, чем левофлоксацина: 0,13 ммоль/л (95%-й доверительный интервал (95%-й ДИ) 0,11–0,15) и 0,22 ммоль/л (95%-й ДИ 0,19–0,26) соответственно ($p < 0,001$). Активность левофлоксацина в диапазоне концентраций 0,4–1,0 ммоль/л превышала активность цитрат-ионов и глицина ($p < 0,001$). Комплексообразующая активность моксифлоксацина в диапазоне концентраций 0,2–1,0 ммоль/л была выше, чем у цитрат-ионов, в диапазоне 0,4–1,0 ммоль/л выше, чем у глицина ($p < 0,001$).

Заключение. Предложенный метод показал, что комплексообразующая активность фторхинолонов близка к активности динатрия ЭДТА и превышает активность цитрат-ионов и глицина. Комплексообразование фторхинолонов и ионов магния может сопровождаться серьезными нежелательными реакциями, вызванными дефицитом ионов магния в клетках.

Ключевые слова: моксифлоксацин, левофлоксацин, ионы магния, комплексные соединения

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

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

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом УГМУ (протокол № 8 от 25.10.2019).

Для цитирования: Бахтин В.М., Изможерова Н.В., Белоконова Н.А. Комплексообразование фторхинолонов с ионами магния. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):6–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-6-12>.

✉ Бахтин Виктор Михайлович, bakhtin.v95@mail.ru

Complexation of fluoroquinolones with magnesium ions

Bakhtin V.M., Izmozherova N.V., Belokonova N.A.

*Ural State Medical University
3, Repina Str., Ekaterinburg, 620028, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To evaluate strength of magnesium ion complexes with levofloxacin and moxifloxacin.

Materials and methods. Complexation of levofloxacin, moxifloxacin, and reference ligands (ethylenediaminetetraacetate (EDTA), sodium citrate, and glycine) with magnesium ions in the range from 0.0 to 1.0 mmol / l was studied. The technique developed by the authors (patent RU 2680519 C1) was used to measure the rate of a model formation reaction of a magnesium phosphate coarse dispersion. Complexing activity of ligands was expressed in relation to EDTA activity and compared with the theoretical ion exchange equilibrium constants. The half maximal effective concentration (C_{50}) calculated by the Michaelis – Menten equation was used to evaluate the dependence of the complexing activity on the dose.

Results. A correlation between the activity of EDTA, citrate ions, and glycine and the theoretical equilibrium constants ($R = -0.87, p < 0.001$) was found. In the range from 0.0 to 0.4 mmol / l, both levofloxacin and moxifloxacin showed a lesser complexing effect than EDTA ($p < 0.001$), and in the range from 0.6 to 1.0 mmol / l, their complexing effect was comparable ($p > 0.050$). The activity of fluoroquinolones did not differ at any concentration ($p > 0.050$), but moxifloxacin C_{50} (0.13 mmol / l; 95% confidence interval (CI) 0.11–0.15) was significantly lower than that of levofloxacin (0.22 mmol / l; 95% CI 0.19–0.26), ($p < 0.001$). Within the 0.4–1.0 mmol / l concentration range, the activity of levofloxacin was higher than that of citrate ions and glycine ($p < 0.001$). Complexing activity of moxifloxacin was higher than that of citrate ions within the range of 0.2–1.0 mmol / l, and in the range of 0.4–1.0 mmol / l, it was higher than that of glycine ($p < 0.001$).

Conclusion. The proposed method showed that the complexing activity of fluoroquinolones was close to that of EDTA and exceeded the activity of citrate ions and glycine. The complexation of fluoroquinolones may be associated with their ability to induce side effects associated with magnesium deficiency.

Keywords: magnesium deficiency, fluoroquinolones, moxifloxacin, levofloxacin, complex compounds

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.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee at Ural State Medical University (Protocol No. 8 of 25.10.2019).

For citation: Bakhtin V.M., Izmozherova N.V., Belokonova N.A. Complexation of fluoroquinolones with magnesium ions. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):6–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-6-12>.

ВВЕДЕНИЕ

Фторхинолоны (ФХ) являются противомикробными средствами с широким антибактериальным спектром. Клиническое применение ФХ ограничено большим количеством нежелательных реакций, таких как тендиниты и разрыв сухожилий [1, 2], аневризма и расслоение аорты [3], повреждение суставных хрящей у детей [2], удлинение интервала QT с риском развития аритмий [2, 4]. Высказано множество предположений о механизмах развития токсических эффектов ФХ [5]. Образование комплексов этих

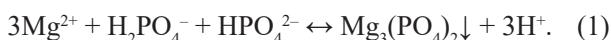
лекарственных средств с ионами Mg^{2+} [5–7] нарушает функционирование магний-зависимых клеточных белков, например, может развиваться дезорганизация соединительной ткани вследствие дисфункции зависимых от ионов магния интегринов [8]. При терапии ФХ инфекционных заболеваний нарушается обмен магния в тканях [9, 10]. Для изучения патогенеза нежелательных реакций необходима количественная оценка прочности комплексов ФХ с ионами Mg^{2+} .

Цель – провести анализ прочности комплексных соединений фторхинолонов лекофлоксацина и моксифлоксацина с ионами магния.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были выбраны левофлоксацин и моксифлоксацин как ФХ с широким спектром антибактериальной активности. Для приготовления растворов использовали фармацевтические субстанции левофлоксацина гемигидрата (Shangyu Jingxin Pharmaceutical Co., Ltd., Китай) и моксифлоксацина гидрохлорида (Bayer AG, Германия). Комплексообразующие свойства ФХ сравнивали с эффектом динатрия этилендиаминтетрацетата (ЭДТА), глицина и цитрат-ионов (в виде цитрата натрия).

Комплексообразующую активность оценивали методом, разработанным авторами (патент на изобретение RU 2680519 C1, 22.02.2019 [11]). Метод основан на модельной реакции образования грубодисперсной системы (ГДС) фосфатов магния в реакции (1):

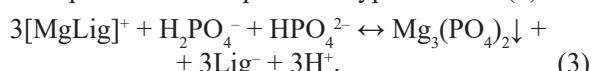


Источником ионов магния служил 1,0 М сульфат магния, источником гидро- и дигидрофосфат-ионов – буферная система с pH 8,5–9,2, получаемая смешиванием растворов 0,1 М K₂HPO₄ и 0,1 М KH₂PO₄. При введении в реакционную систему вещества, образующего комплексные соединения с ионами магния, одновременно с реакцией (1) протекала реакция (2):



где Lig – исследуемое вещество (лиганд).

Реакция совмещенного гетерогенно-лигандообменного равновесия выражается уравнением (3):



Введение лиганда снижает количество доступных для реакции (1) ионов магния, что сопровождается смещением равновесия (3) влево и замедлением формирования ГДС. Скорость процесса оценивали турбидиметрически с помощью спектрофотометра Leki SS2107UV (MEDIORA OY, Финляндия) по величине уменьшения светопропускания реакционной системы за 3 мин (ΔT_3).

Техника проведения эксперимента: измеряли светопропускание системы, содержащей 10 мл раствора анализируемого вещества в требуемой концентрации и 5 мл фосфатного буфера с pH 8,5–9,2 (T_0), после чего добавляли 0,3 мл раствора 1 М MgSO₄, через 3 мин светопропускание измеряли повторно (T_3). Степень уменьшения светопропускания ΔT_3 рассчитывали по формуле (4):

$$\Delta T_3 = T_0 - T_3. \quad (4)$$

За критерий комплексообразующей активности (1,00) принимали свойства раствора ЭДТА. Величину относительной активности исследуемого вещества рассчитывали по формуле (5):

$$\text{OA} = \frac{\Delta T_3(\text{контроль}) - \Delta T_3(\text{лиганд})}{\Delta T_3(\text{контроль}) - \Delta T_3(\text{стандарт})}, \quad (5)$$

где ΔT_3 (контроль) – уменьшение светопропускания в контрольном опыте (вместо раствора вещества – дистilledированная вода); ΔT_3 (лиганд) – уменьшение светопропускания в опыте с исследуемым раствором; ΔT_3 (стандарт) – уменьшение светопропускания в опыте с раствором ЭДТА в той же концентрации.

Эксперимент повторяли пятикратно для каждого вещества с целью повышения статистической мощности исследования. Исследуемый диапазон концентраций лигандов выбирали с учетом соотношения концентраций ФХ и ионов магния в крови. Нормальное содержание Mg²⁺ в сыворотке крови составляет 0,66–1,07 ммоль/л, среднее – 0,87 ммоль/л [12]. Концентрация левофлоксацина после приема внутрь в дозе 500 мг достигает в плазме здоровых добровольцев максимального значения 5,19 мкг/мл и в течение первых суток снижается до 0,46 мкг/мл, что составляет 0,014 и 0,001 ммоль/л соответственно (молярная масса левофлоксацина – 361 г/моль). Расчетное отношение концентраций ионов магния и левофлоксацина в плазме находится в диапазоне 62,1–870,0 [13]. В аналогичном исследовании фармакокинетики максимальная концентрация моксифлоксацина в плазме составляет 3,10 мг/л (0,008 ммоль/л), соответствующее соотношение с концентрацией ионов магния (108,8) близко к значениям для левофлоксацина [14].

В нашем исследовании содержание ионов магния в реакционной системе составляло 19,6 ммоль/л, концентрация исследуемого лиганда снижалась в 1,53 раза по сравнению с исходной после добавления фосфатного буфера и сульфата магния. В связи с этим расчетные границы диапазона концентраций исходных растворов исследуемых лигандов составляли 0,03 и 0,49 ммоль/л.

Междуд тем концентрация ФХ в тканях значительно выше, чем в плазме. В исследовании [15], выполненном на гусях, показано, что экспозиция левофлоксацина, выраженная как площадь под кривой «время – концентрация» (area under curve, AUC), в тканях намного больше, чем в плазме. Отношение AUC в печени к AUC в плазме составляло 37,35. В связи с этим диапазон концентраций исходных растворов лигандов был расширен (0,00–1,00 ммоль/л).

Использованный экспериментальный метод позволяет рассчитать активность исследуемого лиганда в сравнении с активностью ЭДТА, который рас-

сматривается как стандарт с комплексообразующей активностью 1,00. В связи с этим для сопоставления экспериментальных значений активности глицина и цитрат-ионов с известными константами нестабильности их магниевых комплексов вычисляли константы равновесия (K_p) реакций соответствующих комплексов магния с ЭДТА (реакция (6)):



K_p рассчитывали по формуле (7):

$$K_p = \frac{[[\text{MgEDTA}][\text{Lig}^-]]}{[[\text{MgLig}]^+][\text{EDTA}^{2-}]} = \frac{[\text{Mg}^{2+}][[\text{MgEDTA}][\text{Lig}^-]]}{[\text{Mg}^{2+}][[\text{MgLig}]^+][\text{EDTA}^{2-}]} = \frac{K_h([\text{MgLig}]^+)}{K_h([\text{MgEDTA}])}. \quad (7)$$

Прочность комплекса $[\text{MgLig}]^+$ обратно пропорциональна K_p процесса (6). Константа нестабильности (K_h) комплексов ионов магния с цитрат-ионами составляет $6,30 \times 10^{-4}$, с глицином – $3,55 \times 10^{-4}$, с ЭДТА – $2,04 \times 10^{-9}$ [16].

Результаты обрабатывали статистически с помощью программы Statistica 13.0 (лицензия № JPZ904I805602ARCN25ACD-6). Нормальный характер распределения данных был подтвержден с помощью критерия Шапиро – Уилка. Значения комплексообразующей активности представлены как среднее значение и стандартное отклонение ($M \pm S$). Корреляцию относительной активности цитрата и глицина в середине исследуемого диапазона концентраций (0,60 ммоль/л) с теоретически рассчитанными значениями K_p оценивали по критерию Пирсона. Дозозависимость активности лиганда определяли с помощью регрессионного анализа. Математическую модель кривых зависимости «доза – эффект» строили методом нелинейного оценивания с использованием уравнения Михаэлиса – Ментен [17], математически выраженного формулой (8):

$$\text{OA} = \frac{C}{C + C_{50}}, \quad (8)$$

где ОА – относительная активность лиганда; С – концентрация лиганда; C_{50} – подгоночный параметр, соответствующий концентрации, при которой развивается полумаксимальный комплексообразующий эффект. Для значений C_{50} рассчитывали 95%-й доверительный интервал (95%-й ДИ), значимость его различий между лигандами оценивали двусторонним критерием Стьюдента.

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) строили модель зависимости комплексообразующей активности от типа лиганда и его концентрации, которые рассматривали в качестве

независимых предикторов. Концентрации исследуемых лигандов были одинаковы, поправки на ко-вариату не требовалось. Апостериорные сравнения выполняли с использованием критерия Шеффе. Критическим был выбран уровень статистической значимости $p = 0,050$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кривые зависимости относительной комплексообразующей активности лигандов от концентрации приведены на рисунке.

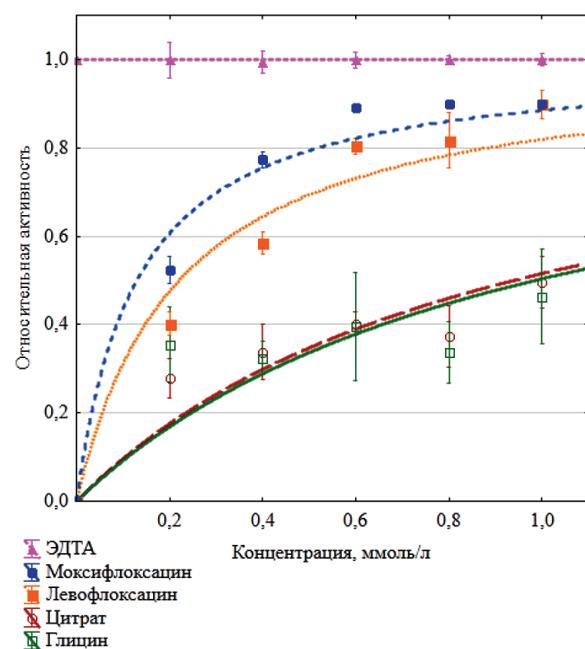


Рисунок. Относительная комплексообразующая активность исследованных веществ, $M \pm S$: изображены подгоночные кривые Михаэлиса – Ментен [17]

Установлена отрицательная корреляция относительной активности ЭДТА, цитрата и глицина с теоретически рассчитанными константами равновесия реакции (6) ($R = -0,87, p < 0,001$, таблица).

Таблица

Значения относительной активности и расчетных констант равновесия ЭДТА, цитрата и глицина, $M \pm S$		
Лиганд	Теоретическое значение K_p	Относительная активность, 0,60 ммоль/л
ЭДТА	–	$1,00 \pm 0,02$
Глицин	$1,74 \times 10^{-5}$	$0,40 \pm 0,12$
Цитрат	$3,09 \times 10^{-5}$	$0,40 \pm 0,03$

Дисперсионный анализ показал статистически значимые различия активности исследованных лигандов в зависимости от дозы (ANOVA, $p < 0,001$).

Активность ЭДТА, принимаемого за стандарт, не зависела от концентрации (регрессионный анализ,

$p = 0,817$) и графически выражалась горизонтальной прямой, описываемой уравнением: относительная активность = 1,00. ЭДТА оказывал значительно больший комплексообразующий эффект, чем цитрат и глицин ($p < 0,001$ во всех концентрациях, критерий Шеффе).

Левофлоксацин и моксифлоксацин в диапазоне низких концентраций (0,0–0,4 ммоль/л) оказывали значительно меньший комплексообразующий эффект, чем ЭДТА ($p < 0,001$ при каждой концентрации, критерий Шеффе), в высоких концентрациях их комплексообразующая активность были сопоставима с активностью ЭДТА ($p = 0,058; 0,134; 0,996$ для левофлоксацина и $p = 0,990; 0,997; 0,996$ для моксифлоксацина в концентрациях 0,6; 0,8 и 1,0 ммоль/л соответственно, критерий Шеффе). Комплексообразующий эффект ФХ не различался ни в одной из концентраций ($p = 1,000; 0,938; 0,084; 1,000; 1,000; 1,000$ при 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 ммоль/л соответственно). Графики относительной активности имели вид типичных кривых, описываемых уравнением Михаэлиса – Ментен. Расчетное значение C_{50} для левофлоксацина составляло 0,22 ммоль/л (95%-й ДИ 0,19–0,26), для моксифлоксацина – 0,13 ммоль/л (95%-й ДИ 0,11–0,15), различие значимо ($p < 0,001$, критерий Стьюдента).

Относительная активность цитрат-ионов и глицина не различалась ($p = 1,000$ для всех концентраций, критерий Шеффе). Левофлоксацин проявлял более высокую комплексообразующую активность, чем цитрат и глицин, в концентрациях 0,4 ммоль/л и более ($p < 0,001$, критерий Шеффе). Активность моксифлоксацина была выше, чем у глицина, начиная с концентрации 0,4 ммоль/л ($p < 0,001$, критерий Шеффе), и выше, чем у цитрата, в концентрации 0,2 ммоль/л ($p < 0,001$, критерий Шеффе).

ОБСУЖДЕНИЕ

Эмпирические значения относительной комплексообразующей активности соответствовали теоретически рассчитанным константам равновесия реакции (6) для ЭДТА, глицина и цитрат-ионов, что подтверждает принципиальную возможность применения предложенной экспериментальной методики для оценки комплексообразующей химической активности органических лигандов по отношению к ионам магния.

Проведенное с помощью разработанного авторами метода исследование показало, что активность ФХ в высоких концентрациях была такой же, как у ЭДТА, что свидетельствует о высокой прочности комплексных соединений ФХ и Mg^{2+} . Активность левофлоксацина и моксифлоксацина оказалась выше, чем у цитрат-ионов и глицина. Предполагает-

ся возможность конкуренции за ион магния между ФХ и биоорганическими веществами, такими как карбоновые кислоты, аминокислотные остатки белков, нуклеотиды и другие соединения.

Структура координационных соединений ФХ широко описана в литературе. Ионы магния связываются с норфлоксацином, левофлоксацином, офлоксацином, гатифлоксацином в молярном отношении 1 : 2 [5, 6]. Офлоксацин (R, S-рацемат) и левофлоксацин (S-энантиомер) одинаково связываются с ионами магния [18]. В образовании комплекса участвуют карбоксильная и карбонильная группы хинолонового кольца ФХ [6, 7, 18]. Азот пиперазинильного кольца не взаимодействует с ионами магния [7, 18].

Комплексообразующий эффект моксифлоксацина развивался быстрее, чем эффект левофлоксацина. Вероятно, в низких концентрациях моксифлоксацин значительно нарушает метаболизм в клетках. В работе [19] оценивали цитотоксическое влияние левофлоксацина, моксифлоксацина и цефуроксима на эпителий роговицы. Моксифлоксацин вызывал гибель половины эпителиоцитов культуры роговицы в меньшей концентрации, чем левофлоксацин (487 и 578 мкг/мл соответственно). Более высокая цитотоксичность моксифлоксацина была продемонстрирована также и в работе [20]. C_{50} , определенные в настоящей работе, различались мало, что свидетельствует о взаимосвязи цитотоксичности ФХ и их способности образовывать комплексы с ионами магния.

Сродство ФХ к ионам магния, определенное флуориметрически, коррелировало с их способностью нарушать развитие зачатка конечностей мышей в условиях *in vitro*. Наиболее выраженное повреждающее действие было характерно для спарфлоксацина, темафлоксацина и ципрофлоксацина, несколько меньшее – для флероксацина, ломефлоксацина и офлоксацина [21]. Наибольшее тератогенное действие на формирование зачатка конечности мышей оказывал грапофлоксацин, обладающий по результатам флуоресцентного анализа максимальным сродством к двухвалентным катионам кальция и магния [22].

В исследовании влияния комплексообразующих свойств ФХ на их антибактериальную активность константы аффинности по отношению к ионам магния оценивали методом ядерно-магнитного резонанса. Наименьшие константы были характерны для спарфлоксацина и офлоксацина ($10,1 \pm 0,6 \times 10^2 M^{-1}$), более высокие – для ципрофлоксацина ($13,0 \pm 0,5 \times 10^2 M^{-1}$), норфлоксацина ($13,0 \pm 1,0 \times 10^2 M^{-1}$) и пефлоксацина ($21,0 \pm 1,0 \times 10^2 M^{-1}$) [23]. Комплексообразование повышало минимальную ингибирующую концентрацию ФХ по отношению к

различным бактериальным штаммам [18, 23], что обусловлено нарушением проникновения этих веществ в клетки.

Кардиотоксичность ФХ обусловлена нарушением калиевого тока по каналам быстрого замедленного внешнего выпрямления IK_{p} /HERG [23], активность которых модулирует Mg^{2+} [24, 25]. Ионы магния образуют связи с остатками аминокислот между доменами S2 и S3 α -субъединицы канала [24, 25]. Можно предположить, что комплексообразование ФХ с Mg^{2+} , уменьшая проницаемость канала HERG, тормозит калиевый ток с нарушением реполяризации мембран, удлинением интервала QT и повышением риска развития аритмий. По данным метаанализа, моксифлоксацин как ФХ с наиболее выраженной комплексообразующей активностью по отношению к ионам магния вызывает аритмии чаще других соединений данного ряда [4].

Таким образом, исследование, проведенное с помощью разработанного авторами метода, показало, что высокая комплексообразующая активность ФХ сопровождается их конкуренцией с внутриклеточными субстратами за ионы Mg^{2+} , нарушением магний-зависимых биохимических процессов, повреждением клеток и их гибелю. Величина комплексообразующего эффекта ФХ связана с их токсичностью. Выраженные комплексообразующие свойства ФХ по отношению к Mg^{2+} могут лежать в основе развития тяжелых нежелательных реакций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный метод позволил экспериментально оценить комплексообразующие свойства ФХ по отношению к ионам магния. Комплексообразующая активность левофлоксацина и моксифлоксацина оказалась сопоставимой с активностью ЭДТА и была выше, чем активность цитрат-ионов и глицина. Возможна конкуренция ФХ за ионы магния с биоорганическими лигандами. Высокая комплексообразующая активность ФХ может приводить к развитию серьезных нежелательных реакций, вызванных внутриклеточным дефицитом ионов магния.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Bidell M.R., Lodise T.P. Fluoroquinolone-associated tendonopathy: does levofloxacin pose the greatest risk? *Pharmacotherapy*. 2016;36(6):679–693. DOI: 10.1002/phar.1761.
- Stahlmann R., Lode H.M. Risks associated with the therapeutic use of fluoroquinolones. *Expert Opin. Drug Saf*. 2013;12(4):497–505. DOI: 10.1517/14740338.2013.796362.
- Lee C.C., Lee M.G., Hsieh R., Porta L., Lee W.-C., Lee S.-H., Chang S.-S. Oral fluoroquinolone and the risk of aortic dissection. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018;72(12):1369–1378. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.06.067.
- Gorelik E., Masarwa R., Perlman A., Rotshild V., Abbasi M., Muzskat M. et al. Fluoroquinolones and Cardiovascular Risk: A Systematic Review, Meta-analysis and Network Meta-analysis. *Drug Saf*. 2019;42(4):529–538. DOI: 10.1007/s40264-018-0751-2.
- Michałak K., Sobolewska-Włodarczyk A., Włodarczyk M., Sobolewska J., Woźniak P., Sobolewski B. Treatment of the fluoroquinolone-associated disability: the pathobiochemical implications. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017;2017:8023935. DOI: 10.1155/2017/8023935.
- Uivarosi V. Metal complexes of quinolone antibiotics and their applications: an update. *Molecules*. 2013;18(9):11153–11197. DOI: 10.3390/molecules180911153.
- Serafin A., Stańczak A. The complexes of metal ions with fluoroquinolones. *Russ. J. Coord. Chem.* 2009;35(2):81–95. DOI: 10.1134/S1070328409020018.
- Förster C., Kociok K., Shakibaie M., Merker H.J., Vormann J., Günther T. et al. Integrins on joint cartilage chondrocytes and alterations by ofloxacin or magnesium deficiency in immature rats. *Arch. Toxicol.* 1996;70(5):261–270. DOI: 10.1007/s002040050272.
- Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А., Федотова Л.Э., Калачева А.Г., Тришина Т.Р. Антибиотикотерапия провоцирует дефицит магния. Что делать? *Фарматека*. 2016;327(14):6–13.
- Громова О.А., Торшин И.Ю., Моисеев В.С., Сорокина М.А. О фармакологических взаимодействиях магния с антибиотиками и дефиците магния, возникающем в результате антибиотикотерапии. *Терапия*. 2017;11(1):135–143.
- Белоконова Н.А., Изможерова Н.В., Бахтин В.М. Способ оценки комплексообразующих свойств лекарственных веществ по отношению к соединениям магния. Патент Российской Федерации RU 2680519 С1. 22.02.2019. Правообладатель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
- Громова О.А., Калачева А.Г., Торшин И.Ю., Грустливая У.Е., Прозорова Н.В., Егорова Е.Ю. и др. О диагностике дефицита магния. Часть 1. *Архивъ внутренней медицины*. 2014;(2):5–10. DOI: 10.20514/2226-6704-2014-0-2-5-10.
- Chien S.C., Rogge M.C., Gisclon L.G., Curtin C., Wong F., Natarajan J. et al. Pharmacokinetic profile of levofloxacin following once-daily 500-milligram oral or intravenous doses. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997;41(10):2256–2260. DOI: 10.1128/AAC.41.10.2256.
- Stass H., Kubitsch D., Schühly U. Pharmacokinetics, safety and tolerability of moxifloxacin, a novel 8-methoxyfluoroquinolone, after repeated oral administration. *Clin. Pharmacokinet.* 2001;40(Suppl.1):1–9. DOI: 10.2165/00003088-200140001-00001.
- Sartini I., Łebkowska-Wieruszewska B., Sitovs A., Lisowski A., Poapolathep A., Giorgi M. Levofloxacin pharmacokinetics and tissue residue concentrations after oral administration in Bilgorajska geese. *Br. Poult. Sci.* 2021;62(2):193–198. DOI: 10.1080/00071668.2020.1842855.

16. Никольский Б.П. Справочник химика. Т. 3. Химическое равновесие и кинетика. Свойства растворов. Электродные процессы. М.: Л.: Химия, 1965:1008.
17. Michaelis L., Menten M.L., Johnson K.A., Goody R.S. The original Michaelis constant: translation of the 1913 Michaelis – Menten paper. *Biochemistry*. 2011;50(39):8264–8269. DOI: 10.1021/bi201284u.
18. Drevenšek P., Košmrlj J., Giester G., Skauge T., Sletten E., Sepčić K. et al. X-ray crystallographic, NMR and antimicrobial activity studies of magnesium complexes of fluoroquinolones – racemic ofloxacin and its S-form, levofloxacin. *J. Inorg. Biochem.* 2006;100(11):1755–1763. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2006.06.011.
19. Haruki T., Miyazaki D., Matsuura K., Terasaka Y., Noguchi Y., Inoue Y., Yamagami S. Comparison of toxicities of moxifloxacin, cefuroxime, and levofloxacin to corneal endothelial cells *in vitro*. *J. Cataract Refract Surg.* 2014;40(11):1872–1878. DOI: 10.1016/j.jcrs.2014.08.027.
20. Fukuda M., Sasaki H. Effects of fluoroquinolone-based antibacterial ophthalmic solutions on corneal wound healing. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2015;31(9):536–540. DOI: 10.1089/jop.2014.0118.
21. Förster C., Rücker M., Shakibaei M., Baumann-Wilschke I., Vormann J., Stahlmann R. Effects of fluoroquinolones and magnesium deficiency in murine limb bud cultures. *Arch. Toxicol.* 1998;72(7):411–419. DOI: 10.1007/s002040050521.
22. Shakibaei M., Baumann-Wilschke I., Rücker M., Stahlmann R. Ultrastructural characterization of murine limb buds after in vitro exposure to grepafloxacin and other fluoroquinolones. *Arch. Toxicol.* 2002;75(11–12):725–733. DOI: 10.1007/s00204-001-0293-7.
23. Lecomte S., Baron M.H., Chenon M.T., Coupry C., Moreau N.J. Effect of magnesium complexation by fluoroquinolones on their antibacterial properties. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(12):2810–2816. DOI: 10.1128/AAC.38.12.2810.
24. Tristani-Firouzi M., Chen J., Mitcheson J.S., Sanguinetti M.C. Molecular biology of K(+) channels and their role in cardiac arrhythmias. *Am. J. Med.* 2001;110(1):50–59. DOI: 10.1016/s0002-9343(00)00623-9.
25. Lin M.C., Papazian D.M. Differences between ion binding to eag and HERG voltage sensors contribute to differential regulation of activation and deactivation gating. *Channels (Austin)*. 2007;1(6):429–437. DOI: 10.4161/chan.1.6.5760.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность д-ру физ.-мат. наук, профессору Анатолию Николаевичу Вараксину за консультативную помощь при проведении статистической обработки данных исследования.

Вклад авторов

Бахтин В.М., Изможерова Н.В., Белоконова Н.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикаций рукописи. Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку рукописи.

Информация об авторах

Бахтин Виктор Михайлович – аспирант, кафедра фармакологии и клинической фармакологии, УГМУ, г. Екатеринбург, bakhtin.v95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7907-2629>

Изможерова Надежда Владимировна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, УГМУ, г. Екатеринбург, nadezhda_izm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7826-9657>

Белоконова Надежда Анатольевна – канд. хим. наук, д-р техн. наук, доцент, зав. кафедрой общей химии, УГМУ, г. Екатеринбург, 89221503087@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0198-3016>

(✉) **Бахтин Виктор Михайлович**, bakhtin.v95@mail.ru

Поступила в редакцию 22.08.2021;
одобрена после рецензирования 09.11.2021;
принята к публикации 24.01.2022

УДК 616-008.9-021.6-02:616.12/.13]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-13-21>

Морфологические изменения в сердце и аорте крыс при диет-индуцированном метаболическом синдроме

Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Быков В.В., Дзюман А.Н., Носарев А.В., Григорьева А.В., Гусакова С.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель – выявить ранние морфологические изменения в сердце и аорте крыс при экспериментальном метаболическом синдроме, вызванном высокожировой и высокоуглеводной диетой (ВЖВУД).

Материалы и методы. Исследование выполнено на самцах крыс линии Wistar, которые были распределены на контрольную ($n = 10$) и экспериментальную ($n = 10$) группы. Крысы контрольной группы получали стандартный корм. Крысы экспериментальной группы в течение 12 нед находились на ВЖВУД. У животных определяли массу тела, артериальное давление (АД) и отдельные параметры углеводного и липидного обмена. Выполняли гистологическое исследование тканей сердца и аорты животных.

Результаты. Установлено, что ВЖВУД вызывает у крыс увеличение массы тела, ожирение, повышение АД, гипергликемию, триглицеридемию. При гистологическом исследовании сердца крыс экспериментальной группы выявлены признаки сосудистого поражения, липоматоза, очаговой дистрофии миокарда. В стенке аорты крыс, получавших высокожировой и высокоуглеводный рацион, выявлено накопление липидов в клетках меди, гиперплазия жировых клеток в адвенции, истончение и разволокнение эластических мембран.

Заключение. Исследование показало, что ВЖВУД является эффективным способом моделирования метаболического синдрома. Обнаруженные структурные изменения в тканях сердца и аорты могут лежать в основе развития кардиомиопатии и артериальной гипертензии при диет-индуцированном метаболическом синдроме.

Ключевые слова: высокожировая и высокоуглеводная диета, метаболический синдром, миокард, аорта, ожирение

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

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках научного проекта № 21-22-07-03-05 и при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (МК-3302.2022.1.4).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных СибГМУ (протокол № 1 от 07.12.2021).

Для цитирования: Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Быков В.В., Дзюман А.Н., Носарев А.В., Григорьева А.В., Гусакова С.В. Морфологические изменения в сердце и аорте крыс при диет-индуцированном метаболическом синдроме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):13–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-13-21>.

✉ Бирулина Юлия Георгиевна, birulina20@yandex.ru

Morphological changes in the heart and aorta of rats with diet-induced metabolic syndrome

Birulina J.G., Ivanov V.V., Buyko E.E., Bykov V.V., Dzyuman A.N., Nosarev A.V., Grigoreva A.V., Gusakova S.V.

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

ABSTRACT

Aim. To identify early morphological changes in the heart and aorta of rats with experimental metabolic syndrome induced by a high-fat and high-carbohydrate diet (HFHCD).

Materials and methods. The study was carried out on male Wistar rats. The animals were divided into two groups: a control group ($n = 10$) and an experimental group ($n = 10$). The rats from the control group were fed with a standard laboratory diet. The rats from the experimental group received HFHCD for 12 weeks. Body weight, blood pressure (BP), and individual parameters of carbohydrate and lipid metabolism were assessed in the rats. A histologic examination of the heart and aorta in the animals was performed.

Results. Feeding rats with HFHCD led to an increase in body weight, elevation of BP, obesity, hyperglycemia, and triglyceridemia. The histologic examination of the heart in the rats of the experimental group showed signs of vascular disease, lipomatosis, and focal myocardial degeneration. Lipid accumulation in the cells of the media, hyperplasia of adipocytes in the adventitia, and depletion and fragmentation of the elastic lamina were revealed in the aortic wall of the rats receiving HFHCD.

Conclusion. The study indicated that HFHCD is an effective way to model metabolic syndrome. Structural disorders in the heart and aorta may be the mainstay for the development of cardiomyopathy and arterial hypertension in diet-induced metabolic syndrome.

Keywords: high-fat, high-carbohydrate diet, metabolic syndrome, myocardium, aorta, obesity

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 funded by the project No. 21-22-07-03-05 and supported by the Council for Grants of the President of the Russian Federation (CS-3302.2022.1.4).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Commission for Control over Care and Use of Laboratory Animals at Siberian State Medical University (Protocol No. 1 of 07.12.2021).

For citation: Birulina J.G., Ivanov V.V., Buyko E.E., Bykov V.V., Dzyuman A.N., Nosarev A.V., Grigoreva A.V., Gusakova S.V. Morphological changes in the heart and aorta of rats with diet-induced metabolic syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):13–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-13-21>.

ВВЕДЕНИЕ

За последние десятилетия во всем мире резко возросло число сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). По оценкам экспертов, к 2030 г. смертность от ССЗ может достигать 23 млн человек в год [1]. Сравнительно недавние эпидемиологические исследования выявили взаимосвязь характера питания с увеличением распространенности ССЗ [2, 3]. Исследования показали, что пищевые жиры играют важную роль в развитии сердечно-сосудистой дисфункции [4]. В настоящее время 49% пациентов с ССЗ имеют избыточную массу тела и ожирение, которые,

в свою очередь, являются основными компонентами метаболического синдрома (МС) наряду с гипергликемией, инсулинорезистентностью, артериальной гипертензией, атерогенной дислипидемией [5, 6].

За последние годы проведен ряд исследований, доказывающих возможность и механизмы липотоксического поражения миокарда при ожирении, при котором изменяется как структура миокарда, так и его функциональное состояние [7, 8]. Системное воспаление и окислительный стресс, возникающие при МС, приводят к фиброзным изменениям в миокарде и связаны с ухудшением состояния эндотелиальной и гладкомышечной ткани сосудистой

стенки [9]. Кроме того, ожирение и связанная с ним сосудистая дисфункция способствуют ускоренному развитию артериальной гипертензии, что увеличивает риск возникновения сердечной недостаточности [10].

Экспериментальные диет-индуцированные модели МС являются наиболее доступным способом исследования морфофункциональных особенностей влияния метаболических нарушений на сердечно-сосудистую систему [11, 12]. В последние годы все большее распространение приобретает комбинированная высокожировая и высокоуглеводная диета (ВЖВУД), поскольку она максимально приближена к питанию современного человека и считается корректной для воспроизведения патогенетических факторов и феноменологии МС [13, 14]. Подробное описание гистологических изменений, возникающих в миокарде и сосудах на ранних стадиях МС, может способствовать разработке потенциальных подходов к терапии ССЗ при метаболических нарушениях.

Целью исследования явилось выявление ранних морфологических изменений в сердце и аорте крыс при экспериментальном МС, вызванном ВЖВУД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинской декларации. Животные содержались в стандартных условиях вивария с 12-часовой продолжительностью светового дня и свободным доступом к пище и воде. Для исследования самцы крыс линии Wistar (20 животных массой $270,6 \pm 30,1$ г, возраст на начало исследования 6 нед) были случайным образом распределены на контрольную ($n = 10$) и экспериментальную ($n = 10$) группы. Крысы контрольной группы (КГ) получали стандартный корм («Чара», Ассортимент-АгроКомпания, Россия; состав: белки 26%, жиры 5%, углеводы 45%). Крысы экспериментальной группы (ЭГ) получали специально разработанную ВЖВУД (состав: белки 16% жиры 22%, углеводы 54%), содержащую стандартный корм с добавлением животного жира (топленое сало, 17%), фруктозы (17%), холестерина (0,25%) и с заменой питьевой воды на 20%-й раствор фруктозы. Продолжительность эксперимента составила 12 нед, после чего животные подверглись эвтаназии в CO_2 -камере.

Для подтверждения развития МС у крыс, сдававшихся на ВЖВУД, в конце исследования измеряли массу тела и артериальное давление (АД) (Систола, Нейроботикс, Россия). У животных, подвергшихся эвтаназии, из сердца отбирали цельную кровь, извлекали висцеральную жировую ткань,

сердце, грудную часть нисходящего отдела аорты. Сыворотку крови для биохимических исследований получали путем центрифугирования цельной крови (3 000 об/мин, 10 мин) и хранили при -20°C для последующего анализа. Содержание глюкозы, триацилглицерола (ТАГ) и холестерина (ХС) в сыворотке крови определяли ферментативными колориметрическими методами (наборы Chronolab, Испания). Концентрацию ТАГ и ХС в аорте (в мг/г ткани) оценивали фотометрически с помощью наборов Chronolab (Испания) после экстракции из навесок ткани липидной фракции смесью хлороформ–метанол. Перед проведением анализа к хлороформной фазе добавляли 20%-й раствор детергента Thesit (Sigma-Aldrich, США) в хлороформе. Хлороформ удаляли потоком азота, эмульгированные липиды растворяли в дистиллированной воде. К полученной водной эмульсии добавляли рабочие реагенты из наборов для определения ТАГ и ХС.

Для оценки структурных изменений извлеченные сердце и фрагмент аорты фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине (BioVitrum, Россия) в течение 24 ч, отмывали от фиксатора, затем обезвоживали в растворе на основе изопропанола – IsoPrep (BioVitrum, Россия). Подготовленные объекты исследования заливали в парафиновую среду Histomix (BioVitrum, Россия) и на автоматическом микротоме HM355 S (Thermo Scientific, США) выполняли тонкие (5–6 мкм) срезы. Срезы окрашивали гематоксилином Джилла (BioVitrum, Россия), эозином (BioVitrum, Россия) и орсеином (BioVitrum, Россия) для идентификации эластических компонентов аорты. Для выявления липидов фрагменты аорты замораживали при температуре -80°C . Затем заливали в криогель и делали срезы толщиной 20 мкм на криотоме HM525 NX (Thermo Scientific, США) при -25°C , срезы монтировали на стекла с полилизином и окрашивали суданом III по Герксгеймеру (BioVitrum, Россия). Микропрепараты просматривали на микроскопе AxioScope 40 (Carl Zeiss, Германия), цифровые изображения срезов получали с помощью комплекса AxioVision 4.6. В гистологических препаратах аорты измеряли толщину интимы, меди, адвентииции (в мкм).

Статистический анализ результатов выполняли в программе SPSS Statistics 23. Данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения, описывали в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$), не подчиняющиеся – медианы и интерквартильного размаха Me (Q_1 ; Q_3). Различия между выборками устанавливали при помощи t -критерия Стьюдента или U -критерия Манна – Уитни, считали статистически значимым при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание животных на ВЖВУД в течение 12 нед способствовало увеличению массы тела, систолического и диастолического АД, удельной массы абдоминального жира, включающего мезентериальную, эпидидимальную и забрюшинную жировую клетчатку крыс ЭГ. Высокожировая и высокоуглеводная диета приводила к развитию гипергликемии, увеличению содержания ТАГ в сыворотке крови, также повышению концентрации ТАГ и ХС в стенке аорты (табл. 1).

Таблица 1

Показатель	Группа	
	контрольная, <i>n</i> = 10	экспериментальная, <i>n</i> = 10
Масса тела, г	415,3 ± 35,6	466,1 ± 32,1 (<i>p</i> = 0,002)
Систолическое АД, мм рт. ст.	129,1 ± 8,4	138,2 ± 8,1 (<i>p</i> = 0,005)
Диастолическое АД, мм рт. ст.	92,3 ± 8,2	110,4 ± 12,6 (<i>p</i> = 0,04)
Удельная масса жировой ткани, г	2,2 ± 0,3	4,8 ± 1,3 (<i>p</i> = 0,001)
Глюкоза (сыворотка), ммоль/л	4,1 ± 0,5	5,6 ± 0,7 (<i>p</i> = 0,002)
ТАГ (сыворотка), ммоль/л	1,2 ± 0,8	3,2 ± 0,9 (<i>p</i> = 0,001)
ХС (сыворотка), ммоль/л	2,2 ± 0,3	2,9 ± 0,4 (<i>p</i> = 0,055)
ТАГ (аорта), мг/г	4,2 ± 1,2	6,8 ± 1,4 (<i>p</i> = 0,001)
ХС (аорта), мг/г	1,1 ± 0,4	2,6 ± 0,6 (<i>p</i> = 0,03)

Примечание. Здесь и в табл. 2: *p* – различия по сравнению с контрольной группой.

Стенка сердца крыс КГ имела обычное строение. Кардиомиоциты желудочков имели вытянутую цилиндрическую форму, без патологической извитости, с различимыми продольной и поперечной исчерченностью. Интерстиций был представлен немногочисленными сосудами, которые в правом желудочке представляют собой единичные полнокровные артерии (рис. 1, A). Интерстиций миокарда левого желудочка был лучше выражен за счет более заметного полночария капилляров, расширения и запустевания венул наличия оптических пустых щелевидных пространств между кардиомиоцитами среднего и внутреннего слоев миокарда (рис. 1, B).

По сравнению с КГ в микропрепаратах правого желудочка крысы ЭГ обнаруживались локальные скопления жировых клеток в эпикарде правого желудочка (рис. 1, C). В стенке левого желудочка присутствовали очаги фрагментированных кардиомиоцитов, кардиомиоцитов с интенсивно окрашенной цитоплазмой и утратой продольной и поперечной исчер-

ченности (контрактуры). Обнаруживались участки миокарда, в котором кардиомиоциты располагались неупорядоченно (myocardial disarray) (рис. 1, D). Сохранялись вышеописанные в КГ изменения в сосудах, но они были более выраженным, а именно: перенаполнение эритроцитами и расширение просветов сосудов встречались чаще, присутствовали во всех сосудах микроциркуляторного русла и в более крупных артериях и венах, в некоторых из последних наблюдалась сепарация компонентов крови и заполнение просвета таких вен плазмой (рис. 1, D).

Стенка аорты крыс КГ имела нормальную архитектуру всех трех оболочек (рис. 2, A). Структура стенки аорты в ЭГ сохранялась, но появлялись скопления жировых клеток в адвенции. Также в цитоплазме многих интерстициальных клеток (фибробласты, гладкомышечные клетки) визуализировались множественные, неправильно округлой формы мелкие оптически пустые включения, и интерстициальные клетки приобретали вид ксантомных (рис. 2, B). Расположение клеток типа ксантомных варьировало по глубине стенки: почти всегда они локализовались в медиа ближе к адвенции, реже – в средней и наружной частях медиа. Морфометрическое исследование выявило увеличение толщины средней и наружной оболочки стенки аорты (табл. 2).

Таблица 2

Толщина оболочек стенки аорты, мкм, <i>Мe</i> (<i>Q₁</i> ; <i>Q₃</i>)			
Группа	Интима	Медиа	Адвенция
Контрольная, <i>n</i> = 10	5,2 (4,6; 6,9)	63,4 (60,7; 0,4)	10,5 (9,5; 13,1)
Экспериментальная, <i>n</i> = 10	6,1 (5,1; 7,3)	71,6 (67,1; 78,5) (<i>p</i> = 0,01)	14,8 (13,3; 16,5) (<i>p</i> = 0,001)

В замороженных срезах аорты крыс КГ, окрашенных суданом III по Герксгеймеру, суданофильтные компоненты оранжевого цвета выявлялись исключительно в липоцитах адвенциальной оболочки исследуемого сосуда (рис. 3, A) и были немногочисленными. Жировые клетки в адвенции аорты в ЭГ были нагружены суданофильтальными включениями, которые также в небольшом количестве определялись в клетках наружной части меди (рис. 3, B).

Стенка аорты крыс КГ при окраске орсеином, выявляющем эластические компоненты – мембранны и волокна, как и при стандартной окраске, имела обычное строение (рис. 4, A). Признаки эластолиза – уменьшение окрашиваемости, истончение, очаговое разволокнение эластических окончательных мембран – наблюдались в ЭГ. Так же увеличивалась извитость эластических компонентов меди, нарушилось их взаимное параллельное расположение (рис. 4, B).

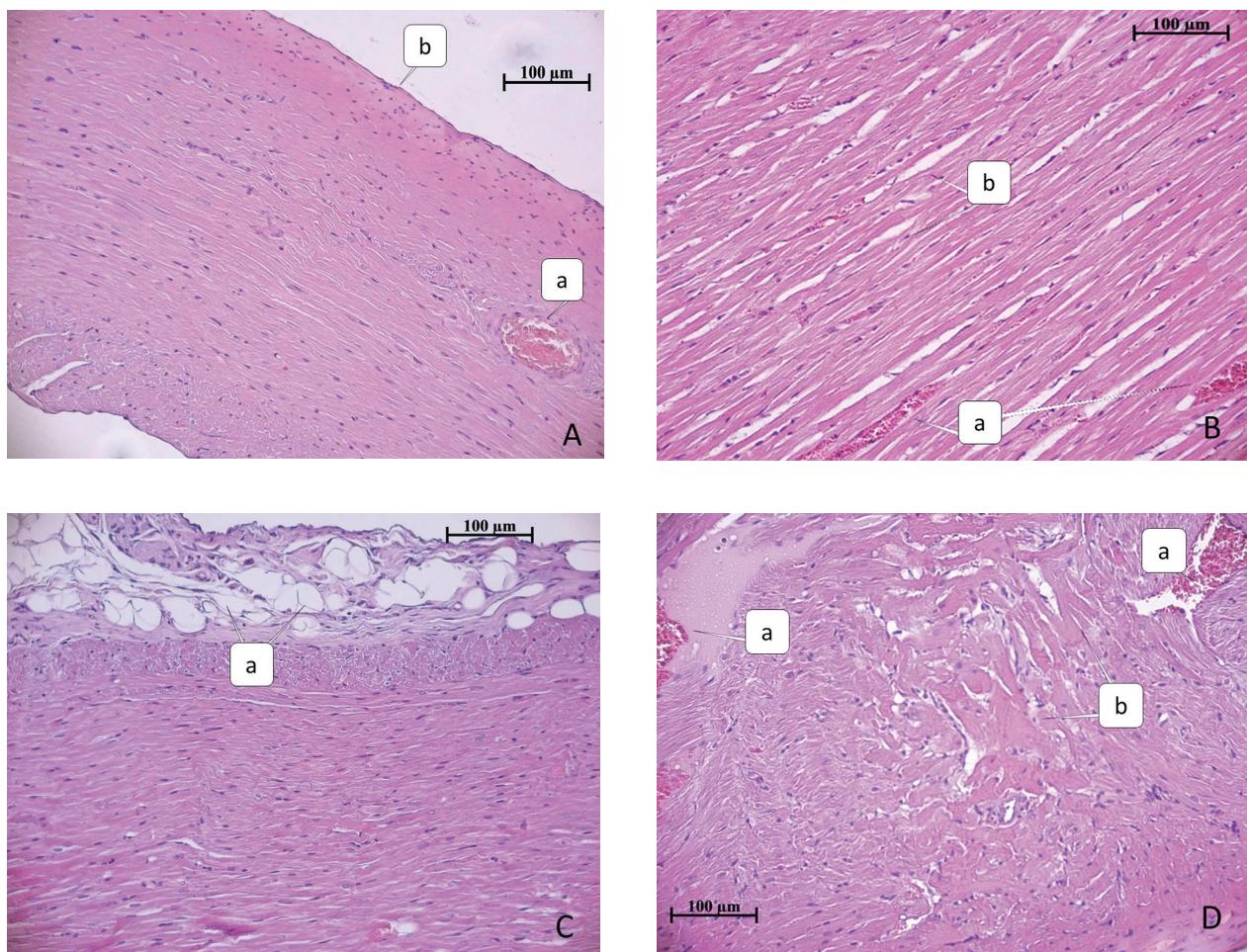


Рис. 1. Влияние ВЖВУД на морфологическую структуру миокарда крысы. *A* – фрагмент стенки правого желудочка крысы КГ: полнокровие артерии (*a*), отсутствие липоматоза эпикарда (*b*). *B* – фрагмент стенки левого желудочка крысы КГ: полнокровие капилляров (*a*), отек интерстиция (*b*). *C* – фрагмент стенки правого желудочка крысы ЭГ: липоматоз эпикарда (*a*). *D* – фрагмент стенки левого желудочка крысы ЭГ: полнокровие и плазмостаз в сосудах (*a*), myocardial disarray и контрактуры кардиомиоцитов (*b*) $\times 200$. Здесь и на рис. 2 окраска гематоксилином и эозином

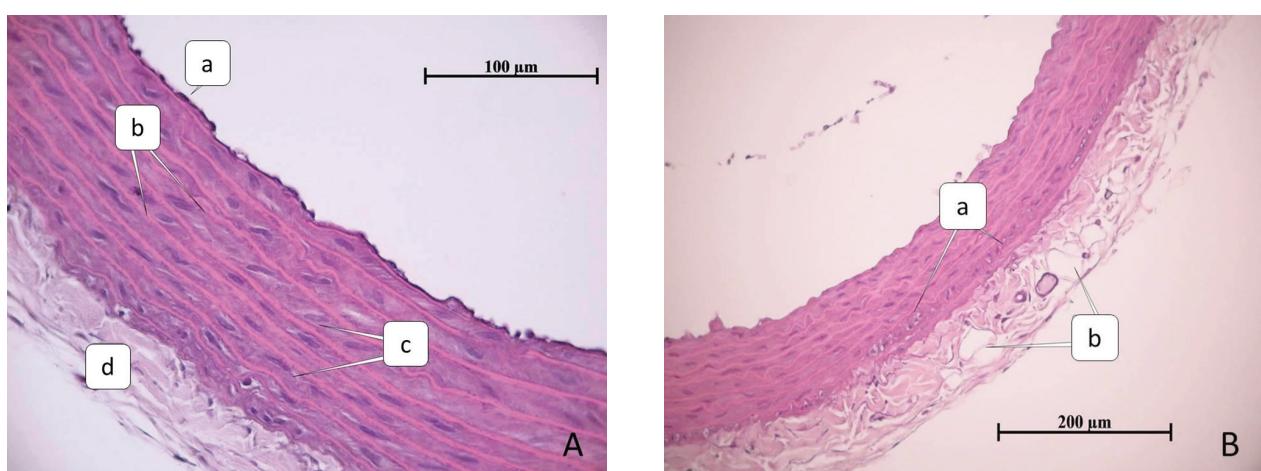


Рис. 2. Влияние ВЖВУД на морфологическую структуру стенки аорты крыс. *A* – поперечный срез аорты крысы КГ: эндотелий (*a*), эластические окончатые мембранны (*b*), интерстициальные клетки (*c*), адвентиция (*d*) имеют обычный вид. $\times 200$. *B* – поперечный срез аорты крысы ЭГ. Интерстициальные клетки типа ксантомных в медиа (*a*), жировые клетки в адвентиции (*b*). $\times 100$

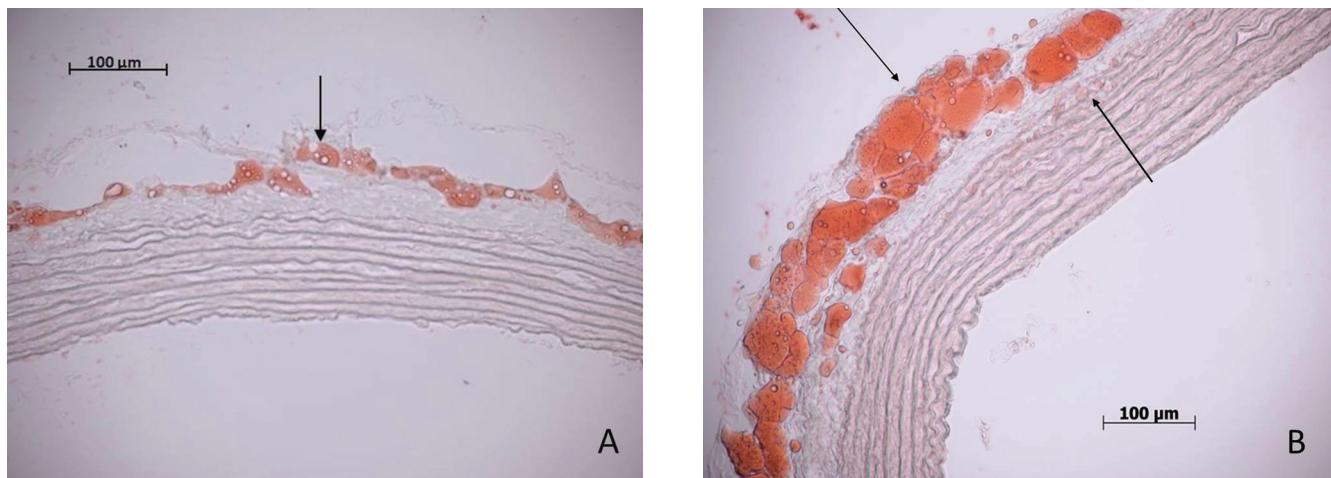


Рис. 3. Накопление липидов в стенке аорты крыс на фоне ВЖВУД. А – поперечный срез аорты крысы КГ. Локализация суданофильтных компонентов (липидов) в жировых клетках адвентиции (черная стрелка). В – поперечный срез аорты крысы ЭГ. Накопление суданофильтных компонентов (липидов) в жировых клетках адвентиции и клетках меди (черная стрелка).

А, В – окраска суданом III по Герксгеймеру. $\times 200$

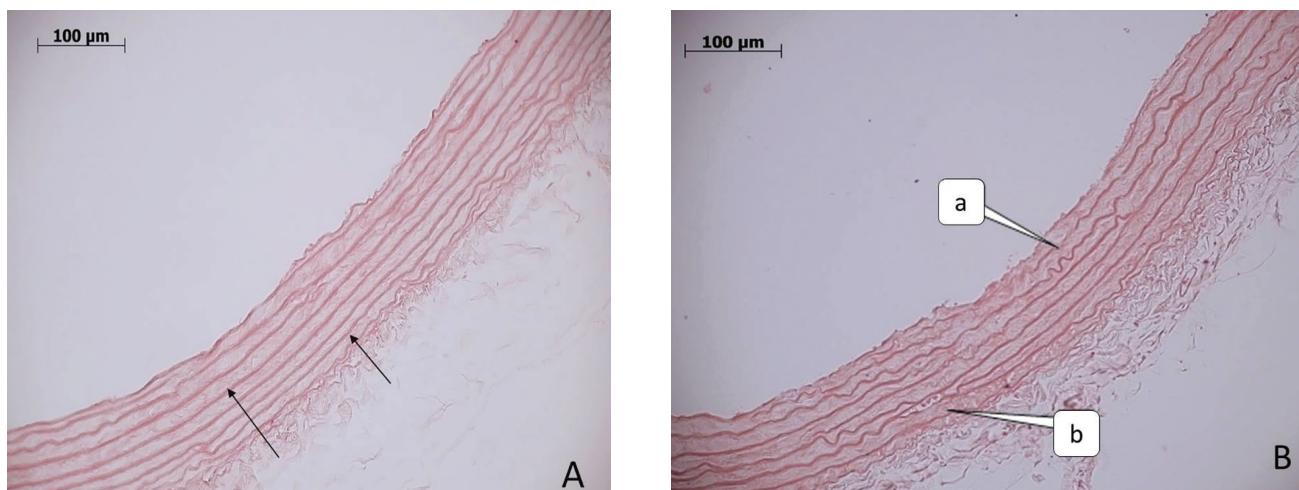


Рис. 4. Изменение эластической пластины в стенке аорты крыс на фоне ВЖВУД. А – поперечный срез аорты крысы КГ. Эластические окончательные мембранны (черная стрелка) нормального строения. В – поперечный срез аорты крысы ЭГ. Увеличение извивости (а), нарушение параллельности эластических окончательных мембран (б). А, В – окраска орсеином. $\times 200$

ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальные модели животных представляют собой один из наиболее ценных и доступных инструментов для понимания патофизиологических механизмов, лежащих в основе МС. Одним из способов моделирования МС является использование специально разработанных диет [3, 11]. Отмечается, что диеты, включающие компоненты как с высоким содержанием жиров, так и с высоким содержанием углеводов, являются наиболее клинически репрезентативными, чем только однокомпонентные рационы [12, 15].

В настоящем исследовании МС у крыс индуцировали при помощи ВЖВУД. Содержание животных

на данной диете в течение 12 нед приводило к приросту массы тела животных, ожирению, повышению АД, развитию гипергликемии, повышению концентрации ТАГ в сыворотке крови. Полученные данные свидетельствуют о том, что кормление крыс высокожировым и высокоуглеводным рационом способствует формированию МС [4, 13].

Нарушения углеводного и липидного обмена, возникающие при МС, в комплексе с хроническим воспалением и окислительным стрессом приводят к развитию патоморфологических изменений в сердечно-сосудистой системе [16, 17]. Известно, что нарушения регуляции энергетического гомеостаза в сердце при МС связано с различными адаптация-

ми и изменениями в структуре и функции миокарда, происходящими по мере аномального накопления липидов и гиперплазии жировой ткани [18]. Экспериментальные исследования на крысах, получавших диету с высоким содержанием жиров и (или) углеводов, также показали, что окислительный стресс является потенциальным механизмом кардиотоксичности, вызванной ожирением [8, 19]. Отмечается, что в сердечной мышце животных, получавших подобный рацион, морфологически определяются отсутствие и (или) дезорганизация миофиламентов, расширение везикул саркоплазматического ретикулума, уменьшение диаметра миофибрилл, внутриклеточная вакуолизация, наличие липидных включений, гипертрофия и признаки фиброзных изменений [10, 14, 20], причем последние наиболее выражены при повышенном содержании в пище насыщенных жирных кислот.

В то же время отмечено, что сосудистая эндотелиальная дисфункция, развивающаяся при МС [16], индуцированном ВЖВУД, провоцирует стаз форменных элементов и расширение просветов сосудов в толще миокарда. Полученные нами результаты, а именно очаговые повреждения кардиомиоцитов в левом желудочке в виде контрактур и фрагментации, липоматоз в эпикарде, нарушения микроциркуляции (гиперемия) в сердцах крыс экспериментальной группы в целом согласуются с уже известными данными. Однако обнаруженные нами изменения не были выражены.

При гистологическом исследовании микропрепарата аорты крыс экспериментальной группы наблюдали начало ремоделирования стенки сосуда по атеросклеротическому типу, которое в большей степени затрагивало среднюю и адвентициальную оболочку. Уменьшение орсеинофилии, прерывистость окончатых эластических мембран, наличие ксантомных клеток, появление суданофильтальных включений в интерстициальных клетках меди, гиперплазия жировых клеток в адвентиции, являются, вероятно, причиной и субстратом увеличения толщины стенки аорты у животных, находившихся на ВЖВУД, что также характерно для экспериментального МС [9, 21, 22]. Подобные морфологические изменения аорты проявляются и изменением ее механических свойств, в том числе снижением эластичности и увеличением жесткости ее стенки [23]. Это происходит из-за эластолиза и уменьшения продукции эластических компонентов с одновременным увеличением продукции коллагена, что приводит к увеличению соотношения коллаген/эластин. Утолщение стенки аорты и ее уплотнение за счет увеличения коллагенового компонента, а также дистрофия гладких

миоцитов могут быть структурной основой, способствующей артериальной гипертензии. В то же время накопление ТАГ в аорте может рассматриваться как дополнительный прогностический критерий жесткости сосудистой стенки [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование продемонстрировало, что ВЖВУД является эффективным способом моделирования МС у крыс, вызывает ожирение, повышение АД, гипергликемию, триглицеридемию. Возникающие при МС морфологические изменения в стенке сердца характеризуются поражением сосудистого русла, липоматозом, очаговой дистрофией миокарда. В аорте выявлены признаки ремоделирования меди, инфильтрации липидами интерстициальных клеток меди, гиперплазии жировых клеток, разволокнение эластических мембран. Обнаруженные структурные нарушения могут лежать в основе развития кардиомиопатии и АГ при диет-индукционном МС. Полученная экспериментальная модель может быть использована в изучении механизмов развития метаболических и гемодинамических нарушений при МС, а также для тестирования потенциальных кардиопротекторных и ангиопротекторных фармакологических агентов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Michos E.D., Khan S.S. Further understanding of ideal cardiovascular health score metrics and cardiovascular disease. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* 2021;19(7):607–617. DOI: 10.1080/14779072.2021.1937127.
- Rider O.J., Lewis A.J., Neubauer S. Structural and metabolic effects of obesity on the myocardium and the aorta. *Obesity Facts*. 2014;7(5):329–338. DOI: 10.1159/000368429.
- Rodríguez-Correa E., González-Pérez I., Clavel-Pérez P.I., Contreras-Vargas Y., Carvajal K. Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice? *Nutr. Diabetes*. 2020;10(1):24. DOI: 10.1038/s41387-020-0127-4.
- Poudyal H., Panchal S.K., Ward L.C., Waanders J., Brown L. Chronic high-carbohydrate, high-fat feeding in rats induces reversible metabolic, cardiovascular, and liver changes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012;302(12):E1472–E1482. DOI: 10.1152/ajpendo.00102.2012.
- Aydin S., Aksoy A., Aydin S., Kalayci M., Yilmaz M., Kulloglu T. et al. 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.
- Saklayen M.G. The global epidemic of the metabolic syndrome. *Curr. Hypertens. Rep.* 2018;20(2):12. DOI: 10.1007/s11906-018-0812-z.
- Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г., Козаренко А.А., Воробьева Ю.В. Особенности морфологии, структуры и функции сердца при ожирении. *Российский кардиологический*

- журнал. 2012;(4):93–99. DOI: 10.15829/1560-4071-2012-4-93-99.
8. Jiménez-González S., Marín-Royo G., Jurado-López R., Bartolomé M.V., Romero-Miranda A., Luaces M. et al. The cross-talk between cardiac lipotoxicity and mitochondrial oxidative stress in the cardiac alterations in diet-induced obesity in rats. *Cells*. 2020;9(2):451. DOI: 10.3390/cells9020451.
 9. Saraf R., Huang T., Mahmood F., Owais K., Bardia A., Khabbaz K.R. et al. Early cellular changes in the ascending aorta and myocardium in a swine model of metabolic syndrome. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146481. DOI: 10.1371/journal.pone.0146481.
 10. Leopoldo A.S., Sugizaki M.M., Lima-Leopoldo A.P., do Nascimento A.F., Luvizotto R., de Campos D.H. et al. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. *Can. J. Cardiol.* 2010;26(8):423–429. DOI: 10.1016/s0828-282x(10)70440-2.
 11. Leonardi B.F., Gosmann G., Zimmer A.R. Modeling diet-induced metabolic syndrome in rodents. *Mol. Nutr. Food Res.* 2020;64(22):2000249. DOI: 10.1002/mnfr.202000249.
 12. Panchal S.K., Brown L. Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011;2011:351982. DOI: 10.1155/2011/351982.
 13. Wong S.K., Chin K.Y., Suhaimi F.H., Ahmad F., Ima-Nirwana S. The effects of a modified high-carbohydrate high-fat diet on metabolic syndrome parameters in male rats. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 2018;126(4):205–212. DOI: 10.1055/s-0043-119352.
 14. Okatan E.N., Kizil S., Gokturk H., Can B., Turan B. High-carbohydrate diet-induced myocardial remodelling in rats. *Curr. Res. Cardiol.* 2015;2(1):5–10. DOI: 10.4172/2368-0512.1000020.
 15. Artinano A.A., Castro M.M. Experimental rat models to study the metabolic syndrome. *Br. J. Nutr.* 2009;102(9):1246–1253. DOI: 10.1017/S0007114509990729.
 16. Tran V., De Silva T.M., Sobey C.G., Lim K., Drummond G.R., Vinh A. et al. The vascular consequences of metabolic syndrome: rodent models, endothelial dysfunction, and current therapies. *Front. Pharmacol.* 2020;11:148. DOI: 10.3389/fphar.2020.00148.
 17. Ruan X.-H., Ma T., Fan Y. Ablation of TMEM126B protects against heart injury via improving mitochondrial function in high fat diet (HFD)-induced mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;515(4):636–643. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.05.084.
 18. Sahraoui A., Dewachter C., Vegh G., Mc Entee K., Naeije R., Bouguerra S.A. et al. High fat diet altered cardiac metabolic gene profile in Psammomys obesus gerbils. *Lipids Health Dis.* 2020;19(1):123. DOI: 10.1186/s12944-020-01301-y.
 19. Feriani A., Bizzarri M., Tir M., Aldawood N., Alabdai H., Allagui M.S. et al. High-fat diet-induced aggravation of cardiovascular impairment in permethrin-treated Wistar rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021;222:112461. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112461.
 20. Lepczyński A., Ożgo M., Michałek K., Dratwa-Chałupnik A., Grabowska M., Herosimczyk A. et al. Effects of three-month feeding high fat diets with different fatty acid composition on myocardial proteome in mice. *Nutrients*. 2021;13(2):330. DOI: 10.3390/nu13020330.
 21. Logvinov S.V., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Gorbulov A.S., Birulina Y.G., Maslov L.L. et al. High carbohydrate high fat diet causes arterial hypertension and histological changes in the aortic wall in aged rats: The involvement of connective tissue growth factors and fibronectin. *Exp. Gerontol.* 2021;154:111543. DOI: 10.1016/j.exger.2021.111543.
 22. Таримов К.О., Субботкин М.В., Куланова А.А., Петренко В.И., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И. и др. Сравнительный анализ коррекции морффункциональных нарушений в сердечно-сосудистой системе при моделированном метаболическом синдроме. *Ожирение и метаболизм*. 2020;17(2):208–219. DOI: 10.14341/omet12296.
 23. Martinez-Quinones P., McCarthy C.G., Watts S.W., Klee N.S., Komic A., Calmasini F.B. et al. Hypertension induced morphological and physiological changes in cells of the arterial wall. *Am. J. Hypertens.* 2018;31(10):1067–1078. DOI: 10.1093/ajh/hpy083.
 24. Wang X., Ye P., Cao R., Yang X., Xiao W., Zhang Y. et al. Triglycerides are a predictive factor for arterial stiffness: a community-based 4.8-year prospective study. *Lipids Health Dis.* 2016;15:97. DOI: 10.1186/s12944-016-0266-8.

Вклад авторов

Бибулина Ю.Г., Иванов В.В. – разработка концепции и дизайна, написание рукописи. Дзюман А.Н., Быков В.В. – выполнение гистологического исследования, анализ и интерпретация данных. Носарев А.В., Гусакова С.В. – утверждение рукописи. Буйко В.В., Григорьева А.В. – моделирование метаболического синдрома, биохимические исследования.

Информация об авторах

Бибулина Юлия Георгиевна – канд. биол. наук, доцент, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, birulina20@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1237-9786>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, руководитель центра доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9348-4945>

Буйко Евгений Евгеньевич – лаборант, центр доклинических исследований, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, buykoevgen@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6714-1938>

Быков Владимир Валерьевич – канд. мед. наук, ассистент, кафедра фармакологии, СибГМУ, г. Томск, vladimir.b.1989@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5145-2184>

Дзюман Анна Николаевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск, dzyman@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0795-0987>

Носарев Алексей Валерьевич – д-р мед. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, avnosarev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0119-9707>

Григорьева Анна Валерьевна – ассистент, кафедра биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, anna-grigoreva-87@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1962-9584>

Гусакова Светлана Валерьевна – д-р мед. наук, зав. кафедрой биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, gusacova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5047-8668>

(✉) **Бирулина Юлия Георгиевна**, birulina20@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.01.2022;
одобрена после рецензирования 21.02.2022;
принята к публикации 17.03.2022

УДК 616-018.2-007.17:612.2-073.916
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-22-27>

Радионуклидные методы в оценке легочной перфузии и вентиляции у пациентов с дисплазией соединительной ткани

**Веснина Ж.В.¹, Анашбаев Ж.Ж.², Тетенева А.В.³, Кривоногов Н.Г.¹, Беспалова И.Д.³,
Сazonova C.I.¹, Сердюков Н.А.³, Потапов К.В.³**

¹Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634034, г. Томск, ул. Киевская, 111а

²Национальный медицинский исследовательский центр (НИМЦ) им. акад. Е.Н. Мешалкина
Россия, 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

³Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель. Провести сцинтиграфическую оценку состояния бронхоальвеолярной системы и легочной микропиркуляции у пациентов с дисплазией соединительной ткани.

Материалы и методы. В исследование включен 31 пациент мужского пола призывающего возраста с дисплазией соединительной ткани (ДСТ), диагностированной согласно клиническим рекомендациям 2019 г., средний возраст $19,6 \pm 2,6$ лет, и 25 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту, составивших группу контроля. Всем пациентам выполняли вентиляционно-перфузионную сцинтиграфию легких в планарном режиме с определением скорости альвеолярно-капиллярной проницаемости.

Результаты. У пациентов с ДСТ апикально-базальный градиент перфузии (U/L_Q) имел более низкие значения по сравнению с группой контроля в среднем на 24% ($p = 0,046$) и более высокие значения альвеолярно-капиллярной проницаемости в обоих легких, как на 10-й, так и на 30-й мин.

Заключение. Вентиляционно-перфузионная сцинтиграфия в статическом режиме позволяет на доклиническом этапе выявить функциональные нарушения у пациентов с ДСТ: снижение градиента перфузии по сравнению с группой контроля в среднем на 24% и повышение проницаемости альвеолярно-капиллярной мембранны.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, вентиляционно-перфузионная сцинтиграфия легких

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ (протокол № 8903 от 20.12.2021).

Для цитирования: Веснина Ж.В., Анашбаев Ж.Ж., Тетенева А.В., Кривоногов Н.Г., Беспалова И.Д., Сазонова С.И., Сердюков Н.А., Потапов К.В. Радионуклидные методы в оценке легочной перфузии и вентиляции у пациентов с дисплазией соединительной ткани. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):22–27. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-22-27>.

✉ Веснина Жанета Владимировна, zhvesnina@mail.ru

Radionuclide methods in assessing pulmonary perfusion and ventilation in patients with connective tissue dysplasia

Vesnina Zh.V.¹, Anashbaev Zh.Zh.², Teteneva A.V.³, Krivinogov N.G.¹, Bespalova I.D.³, Sazonova S.I.¹, Serdyukov N.A.³, Potapov K.V.³

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634034, Russian Federation

² E.Meshalkin National Medical Research Center
15, Rechkunovskaya Str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation

³ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To perform a scintigraphic assessment of the bronchopulmonary system and pulmonary microcirculation in patients with connective tissue dysplasia.

Materials and methods. The study included 31 male patients of conscription age with connective tissue dysplasia (CTD), diagnosed according to the 2019 clinical guidelines (average age (19.6 ± 2.6 years)), and 25 practically healthy individuals comparable in gender and age, who formed a control group. All patients underwent planar pulmonary ventilation – perfusion scintigraphy with determination of pulmonary alveolar – capillary permeability.

Results. In patients with CTD, the apical to basal perfusion gradient (U/L_Q) was on average 24% lower than in the control group ($p = 0.046$), and alveolar – capillary permeability was higher in both lungs, both at minute 10 and at minute 30.

Conclusion. Static pulmonary ventilation – perfusion scintigraphy allows to identify functional disorders in patients with CTD at the preclinical stage: a decrease in the perfusion gradient on average by 24% compared with the control group and an increase in alveolar – capillary membrane permeability.

Keywords: connective tissue dysplasia, pulmonary ventilation – perfusion scintigraphy

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.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 8903 of 20.12.2021).

For citation: Vesnina Zh.V., Anashbaev Zh.Zh., Teteneva A.V., Krivinogov N.G., Bespalova I.D., Sazonova S.I., Serdyukov N.A., Potapov K.V. Radionuclide methods in assessing pulmonary perfusion and ventilation in patients with connective tissue dysplasia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):22–27. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-22-27>.

ВВЕДЕНИЕ

Дисплазии соединительной ткани (ДСТ) – это генетически обусловленные состояния, проявляющиеся дефектами основного вещества и волокнистых структур соединительной ткани, лежащие в основе морфологических и функциональных нарушений разных органов и систем, характеризующиеся прогредиентным течением и определяющим особенности ассоциированных патологических состояний. Социально-медицинская значимость данных патологических проявлений обусловлена, с одной стороны,

высокой распространенностью в среде, ввиду накопления генетических дефектов в популяции и существенным влиянием антропогенных и абиотических факторов, с другой – прогрессирующим характером клинических проявлений, отличающихся полиорганными поражениями с риском развития тяжелых осложнений на поздних этапах, вплоть до летального исхода [1, 2].

Основным периодом клинического дебюта ДСТ является подростковый возраст, когда увеличение объема соединительной ткани соответствует росту и развитию организма [3]. Фенотипические проявле-

ния ДСТ принято разделять на группы в зависимости от органов и систем, вовлеченных в процесс. Первые систематизированные данные, свидетельствующие о поражении дыхательной системы при недифференцированных ДСТ, были опубликованы в 1994 г. [3].

Так, была выделена группа диспластикозависимых изменений органов дыхания, в основе которых, по мнению авторов, лежали генетически обусловленные дефекты фибриллогенеза. К этой группе были отнесены трахеобронхомегалия, трахеобронхомалация, синдром Вильямса – Кэмбелла, кистозная гипоплазия легких, бронхэкстазы, эмфизема и трахеобронхиальная дискинезия. Морфофункциональный статус системы дыхания при ДСТ характеризуется как повышенной эластичностью бронхиального дерева и альвеолярной ткани, так и внелегочными проявлениями: наличием торако-диафрагmalного синдрома, а также лабильным состоянием вегетативной нервной системы и системы иммунитета. Позже в группу диспластикозависимых изменений органов дыхания был включен спонтанный пневмоторакс как следствие буллезной эмфиземы легких [4, 5].

С точки зрения ряда авторов, в основе нарушения опорной функции соединительной ткани при ДСТ лежит генетически детерминированная «слабость» каркаса всех легочных структур (бронхов, сосудов, альвеол), которая под действием внешних факторов реализуется в постнатальном периоде в виде ряда клинических синдромов [5]. Нередко при диспластическом процессе отмечается снижение тонуса бронхиальной стенки с последующим формированием трахеобронхиальной дискинезии и бронхэкстазов [6]. Важнейшими внелегочными факторами, определяющими состояние органов дыхания при ДСТ, являются наличие деформации грудной клетки и позвоночника, слабость дыхательных мышц, особенности регуляции дыхания, а также состояние легочной гемодинамики [7, 8].

Известно, что лучевые методы исследования во многих случаях являются ведущими в диагностике бронхолегочной патологии. Однако общепринятые рентгенологические методы исследования позволяют выявить изменения легочной паренхимы на относительно поздних стадиях развития заболевания. Для оценки морфофункциональных изменений на доклиническом этапе течения патологического процесса весьма перспективным можно считать использование методов радионуклидной индикации, которые необременительны для пациента, легко воспроизводимы и высокочувствительны в отношении оценки как вентиляции, так и перфузии легких [9–11]. При этом при изучении патологических изменений в легких наиболее полную информацию можно получить

при использовании комбинированной вентиляционно-перфузионной сцинтиграфии, которая значительно дополняет данные состояния капиллярного русла кровотока показателями вентиляции легких, что существенно для диагностики ранних функциональных нарушений [12].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы является сцинтиграфическая оценка состояния бронхоальвеолярной системы и легочной микропиркуляции у пациентов с дисплазией соединительной ткани.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на результатах обследования группы лиц, подлежащих призыву на срочную службу в ряды Вооруженных сил Российской Федерации, на базе военно-врачебной комиссии г. Томска. В исследование был включен 31 пациент мужского пола в возрасте 16–22 лет. Средний возраст составил $19,7 \pm 2,7$ лет, индекс массы тела – $18,2 \pm 2,2$.

Наличие ДСТ определяли по данным анамнеза для выявления ранее диагностированных заболеваний, характерных для ДСТ, клинического обследования для обнаружения внешних признаков системного вовлечения соединительной ткани, включая антропометрию, и результатов инструментальных методов исследования. У всех пациентов установлена полигенная ДСТ, степень тяжести которой оценивали с помощью фенотипической таблицы Т.И. Кадуриной и В.Н. Горбуновой [4]. Критерии исключения: отсутствие возможности или несогласие пациентов с требованиями протокола, наличие заболеваний бронхолегочной системы, наличие острых и хронических заболеваний в фазе обострения. Контрольную группу составили 25 здоровых некурящих добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами основной группы.

Всем обследуемым проведена вентиляционно-перфузионная сцинтиграфия легких в планарном режиме с оценкой скорости альвеолярно-капиллярной проницаемости согласно ранее разработанной методике [9]. Вентиляционно-перфузионное отношение V/Q определяли в результате деления процента аккумуляции ингалированного радиоаэрозоля каждым легким в отдельности на аналогичный показатель перфузируемого радиофармпрепарата (РФП). Сцинтиграфические исследования выполняли на гамма-камере Forte (Philips Medical Systems, Нидерланды). Регистрация изображений и обработка сцинтиграмм проводились с использованием компьютерной системы JetStream Workspace 3.0 (PMS, Нидерланды).

Статистический анализ данных проведен с использованием пакета прикладных программ

Microsoft Office и Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Количественные данные представлены в виде среднего (M) и стандартного отклонения (SD). При сравнении независимых количественных переменных применяли U -тест Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Исследование проведено согласно принципам Хельсинкской декларации и одобрено этическим комитетом СибГМУ и согласовано с этическим комитетом НИИ кардиологии. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты сцинтиграфических исследований представлены в таблице. Как следует из таблицы, у пациентов с ДСТ среднее значение V/Q для правого легкого составило $0,97 \pm 0,06$, для левого легкого – $1,04 \pm 0,07$, и они не отличались от показателей лиц контрольной группы. При этом апикально-базальный градиент вентиляции (U/L_v) также не отличался от показателей контрольной группы, в то время как U/L_q -градиент перфузии оказался сниженным по сравнению с группой контроля в среднем на 24% ($p = 0,046$) и составил $0,52 \pm 0,14$.

Таблица

Сцинтиграфические показатели легочной перфузии и вентиляции у пациентов с дисплазией соединительной ткани, а также в группе контроля, $M \pm SD$

Показатель	Контрольная группа, $n = 25$	Группа с ДСТ, $n = 31$					
		ПЛ	U -тест (p) 1–2	ЛЛ	U -тест (p) 1–4	ПЛ + ЛЛ	U -тест (p) 1–6
V/Q	$0,98 \pm 0,03$	$0,97 \pm 0,06$	НД	$1,04 \pm 0,07$	НД	–	–
U/L_q	$0,68 \pm 0,03$	–	–	–	–	$0,52 \pm 0,14$	$0,046$
U/L_v	$0,66 \pm 0,04$	–	–	–	–	$0,63 \pm 0,11$	НД
АКП, %	10 мин	$10,6 \pm 2,9$	$18,73 \pm 8,51$	0,005	$15,56 \pm 8,58$	0,006	–
	30 мин	$21,3 \pm 4,3$	$33,17 \pm 9,87$	0,001	$30,32 \pm 9,96$	0,004	–

Примечание. ДСТ – дисплазия соединительной ткани; n – число пациентов в группе; ПЛ – правое легкое; ЛЛ – левое легкое; U -тест – тест Манна – Уитни; p – уровень статистической значимости; V/Q – вентиляционно-перфузионное отношение; U/L_q – апикально-базальный градиент легочной перфузии; U/L_v – апикально-базальный градиент легочной вентиляции; АКП – альвеолярно-капиллярная проницаемость.

Эффективное внешнее дыхание реализуется при участии трех физиологических процессов: легочной вентиляции, легочной перфузии и диффузии газов через альвеолярно-капиллярную мембрану. При различных патологических состояниях легких звенья этой сложной системы могут нарушаться. Для оценки этих нарушений необходимо использовать методологические подходы, позволяющие определить диагностически значимые показатели, к которым можно отнести вентиляционно-перфузионное соотношение, альвеолярно-капиллярную проницаемость и др. [9, 13–15].

При оценке результатов вентиляционно-перфузионной сцинтиграфии легких у пациентов с ДСТ сцинтиграфические показатели – V/Q, U/L_q , U/L_v – были следующими. Вентиляционно-перфузионное соотношение (V/Q) соответствовало значениям лиц контрольной группы в обоих легких (см. таблицу). Что касается апикально-базальных градиентов перфузии (U/L_q) и вентиляции (U/L_v), то регистрировалось изменение в сторону понижения только U/L_q ($0,52 \pm 0,14$; $p = 0,046$), в то время как U/L -градиент вентиляции существенно не отличался от показате-

лей контрольной группы (см. таблицу). В целом согласованность основных функциональных звеньев легких у пациентов с ДСТ была вполне удовлетворительной, некоторое снижение U/L_q вероятно, связано с функциональной вазоконстрикцией, способствующей уменьшению притока крови к плохо вентилируемым участкам легких.

Известно, что альвеолярный воздух и кровь легочных капилляров отделяет альвеолярно-капиллярная мембрана, через которую происходит транспорт газов согласно законам диффузии, а величина диффузионной способности легких зависит как от их объема, так и от соответствующей ему площади поверхности газообмена. Для оценки альвеолярно-капиллярной проницаемости легких нами был предложен и использован усовершенствованный способ вентиляционно-перфузионной пульмоно-сцинтиграфии, который характеризовался использованием вентиляционной сцинтиграфии легких в статическом режиме, проведением оценки вымыщения РФП из всего пораженного/интактного легкого, исследованием в задне-прямой проекции и регистрацией альвеолярно-капиллярной проницаемости по

вымыванию РФП на 10-й мин, а затем на 30-й мин после ингаляции РФП [9, 15].

В данном исследовании у пациентов с ДСТ было обнаружено увеличение скорости альвеолярно-капиллярной проницаемости (АКП) как в правом, так и в левом легком по сравнению с контрольной группой как на 10-й мин ($18,73 \pm 8,51\%$ ($p = 0,005$), $15,56 \pm 8,58\%$ ($p = 0,007$) соответственно), так и на 30-й мин исследования ($33,17 \pm 9,87\%$ ($p = 0,001$), $30,32 \pm 9,96\%$ ($p = 0,004$) соответственно) (см. таблицу).

Таким образом, у пациентов с ДСТ было выявлено значительное ускорение легочного клиренса РФП по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о повышении проницаемости альвеолярно-капиллярной мембранны. Обнаруженное нами снижение U/L-градиента перфузии при ДСТ можно объяснить участием вазоконстрикторного механизма в развитии альвеолярной гипоксии, а статистически значимое увеличение скорости АКП в обоих легких в отличие от таковых значений группы контроля является, вероятно, компенсаторной реакцией альвеолярно-капиллярной системы, направленной на увеличение газообмена [12, 14]. При этом в основе повышения АКП может быть как увеличение площади поверхности газообмена, характерное для первичной эмфиземы у пациентов с ДСТ, так и синдром гипервентиляции, нередко наблюдаемый у данной категории больных [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вентиляционно-перфузионная сцинтиграфия в статическом режиме позволяет на доклиническом этапе выявить функциональные нарушения у пациентов с ДСТ: снижение U/L-градиента перфузии по сравнению с группой контроля в среднем на 24% и повышение проницаемости альвеолярно-капиллярной мембранны.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Дисплазии соединительной ткани. Клинические рекомендации. Российское научное медицинское общество терапевтов, 2017.
- Вершинина М.В., Нечаева Г.И., Гринберг Л.М., Говорова С.Е., Хоменя А.А., Багишева Н.В. Клинико-функциональные составляющие бронхолегочного синдрома при дисплазии соединительной ткани. *Архивъ внутренней медицины*. 2015;2:55–61. DOI: 10.20514/2226-6704-2015-0-2-55-61.
- Яковлев В.М., Нечаева Г.И. Кардиореспираторные синдромы при дисплазии соединительной ткани. Омск: ОГМА; 1994.
- Кадурина Т.И., Горбунова В.Н. Дисплазия соединительной ткани: руководство для врачей. СПб.: ЭЛБИ, 2008:1121.
- Нечаева Г.И., Викторова И.А., Друк И.В. Дисплазия соединительной ткани: пульмонологические аспекты. *Пульмонология*. 2004;2:116–120.
- Клеменов А.В. Внекардиальные проявления недифференцированной дисплазии соединительной ткани. *Клиническая медицина*. 2003;10:1–6.
- Кучмаева Т.Б. Роль экспираторного стеноза трахеи и главных бронхов в развитии дыхательной недостаточности у больных с синдромом недифференцированной дисплазии соединительной ткани: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Владикавказ, 2008:137.
- Нечаева Г.И., Вершинина М.В., Говорова С.Е. Респираторная патология и дисплазия соединительной ткани: возможна ли единая концепция. *Пульмонология*. 2010;3:5–10.
- Лишманов Ю.Б., Кривоногов Н.Г., Завадовский К.В. Радионуклидная диагностика патологии малого круга кровообращения. Томск: СТТ, 2007:204.
- Рубин М.П. Радионуклидные методы диагностики функциональных нарушений легких в амбулаторных условиях. *Терапевтический архив*. 2008;1:10–16.
- Vaic M., Neilly J.B., Minciati M., Schuemichen C., Meignan M., Jonson B. Committee EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy: Part 1. Pulmonary imaging with ventilation/perfusion single photon emission tomography. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2009;36(8):1356–1370. DOI: 10.1007/s00259-009-1170-5.
- Гриппи М.А. Патофизиология легких. М.: Восточная книжная компания, 1997:344.
- Рубин М.П., Кулешова О.Д., Чечурин Р.Е. Радионуклидная перфузионная сцинтиграфия легких: методика исследования и интерпретации результатов. *Радиология – практика*. 2002;4:16–21.
- Уэйр Е.К., Ривс Д.Т. Физиология и патофизиология легочных сосудов. М.: Медицина, 1995:635.
- Мищустина Е.Л. Вентиляционно-перфузионная пульмоносцинтиграфия в дифференциальной диагностике инфильтративной патологии легких: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2009:26.
- Тетенева А.В., Бодрова Т.Н., Сердюков Н.А., Карзилов А.И., Ларченко В.В., Тетенев К.Ф. и др. Вентиляционная функция легких у пациентов с дисплазией соединительной ткани и дефицитом массы тела. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;4:19.

Вклад авторов

Веснина Ж.В. – сбор и анализ полученного материала, статистическая обработка данных, интерпретация данных, подготовка статьи. Анашбаев Ж.Ж. – проведение радионуклидных исследований, обработка сцинтиграфических исследований, заполнение базы данных. Тетенева А.В. – разработка концепции исследования, литературный поиск и анализ нозологической проблемы.

Кривоногов Н.Г. – разработка радионуклидной методики, методическое сопровождение, анализ результатов. Беспалова И.Д. – куриция отбора пациентов, клиническое обоснование способа диагностики и дизайна исследования, участие в сборе данных (клиническая часть). Сазонова С.И. – литературный поиск, обеспечение материальной базы для радионуклидных исследований. Сердюков Н.А. – куриция и получение информированного согласия пациентов на участие в исследовании, теоретическое и клиническое подтверждение результатов. Потапов К.В. – отбор пациентов, сбор первичной информации для заполнения клинической базы данных пациентов.

Информация об авторах

Веснина Жанета Владимировна – д-р мед. наук, врач-радиолог, зав. лабораторией, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, zhvesnina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9238-6814>

Анашбаев Жанат Жуманалиевич – врач-радиолог, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, zhanatizm@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3169-0326>

Тегенева Анна Валентиновна – д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, anna.dubodelova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4323-2798>

Кривоногов Николай Георгиевич – д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, kng@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2848-3254>

Беспалова Инна Давидовна – д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии, и.о. зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, innadave@mail2000.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4513-6329>

Сазонова Светлана Ивановна – д-р мед. наук, вед. научный сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, sazonova_si@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2799-3260>

Сердюков Николай Алексеевич – соискатель, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, serdykov@sibmail.com.

Потапов Кирилл Владимирович – аспирант, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, potapovschool@mail.ru. .

(✉) **Веснина Жанета Владимировна**, zhvesnina@mail.ru

Поступила в редакцию 18.01.08.2022;
одобрена после рецензирования 10.02.2022;
принята к публикации 17.03.2022

УДК 616.895
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-28-33>

Нарушения исполнительных функций при аффективных расстройствах: различия при биполярном аффективном расстройстве и депрессивном эпизоде

Галкин С.А.¹, Васильева С.Н.¹, Симуткин Г.Г.¹, Иванова С.А.^{1,2}

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель – выявить различия в исполнительном функционировании (ингибиторный контроль, рабочая память, когнитивная гибкость) между пациентами с биполярным аффективным расстройством и депрессивным эпизодом.

Материалы и методы. Обследованы 72 пациента в возрасте 20–40 лет с аффективными расстройствами. Из них 30 пациентов с биполярным аффективным расстройством, текущий эпизод легкой или умеренной депрессии, и 42 пациента с депрессивным эпизодом легкой, умеренной и тяжелой степени без психотических симптомов. Оценка исполнительного функционирования осуществлялась с помощью программного пакета для разработки психологических тестов PsyToolkit. Использовались компьютеризированные тесты Go/No-go (оценка ингибиторного контроля и психомоторной реакции), Corsi (определение объема пространственной рабочей памяти) и цветовой тест Струпа (Color Stroop) (оценка уровня когнитивной гибкости).

Результаты. При межгрупповом сравнении пациентов обнаружено, что пациенты с биполярным аффективным расстройством статистически значимо чаще совершали ошибки на сигнал «No-go» (ложное нажатие кнопки) в тесте Go/No-go ($p = 0,043$), однако у них отмечался больший объем рабочей памяти в teste Corsi ($p = 0,049$) по сравнению с пациентами с депрессивным эпизодом.

Заключение. Получены важные данные относительно специфики дефицита исполнительного функционирования в зависимости от типа аффективного расстройства. Представленные данные расширяют и дополняют имеющиеся сведения о когнитивных особенностях пациентов, страдающих биполярным аффективным расстройством и депрессивным эпизодом, что может быть полезным в клинической практике и служить дальнейшим направлением для будущих исследований.

Ключевые слова: аффективные расстройства, биполярное аффективное расстройство, депрессивный эпизод, исполнительные функции, когнитивный дефицит.

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

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания № 075-01184-22-00, тема «Биопсихосоциальные механизмы патогенеза и клинического полиморфизма, адаптационный потенциал и предикторы эффективности терапии у больных с психическими и поведенческими расстройствами в регионе Сибири» № 122020200054-8.

✉ Галкин Станислав Алексеевич, s01091994@yandex.ru

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья (протокол № 114 от 22.10.2018).

Для цитирования: Галкин С.А., Васильева С.Н., Симуткин Г.Г., Иванова С.А. Нарушения исполнительных функций при аффективных расстройствах: различия при биполярном аффективном расстройстве и депрессивном эпизоде. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):28–33. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-28-33>.

Executive dysfunction in affective disorders: differences in bipolar affective disorder and depressive episode

Galkin S.A.¹, Vasilieva S.N.¹, Simutkin G.G.¹, Ivanova S.A.^{1,2}

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

² Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To identify the differences in executive function (inhibitory control, working memory, cognitive flexibility) between patients with bipolar affective disorder and depressive episode.

Materials and methods. A total of 72 patients with affective disorders aged 20–40 years were examined. Of them, 30 patients had bipolar affective disorder, a current episode of mild or moderate depression, and 42 patients had a mild, moderate, and severe depressive episode without symptoms of psychosis. The executive function was evaluated using PsyToolkit, a set of software tools for programming psychological experiments. Computerized Go/No-go tasks (assessment of inhibitory control and psychomotor functions), the Corsi block-tapping test (assessment of visual and spatial working memory capacities), and the Stroop Color and Word Test (assessment of cognitive flexibility) were used.

Results. An intergroup comparison of patients revealed that patients with bipolar disorder significantly more often demonstrated false button press in the Go/No-go task ($p = 0.043$); however, they exhibited a greater working memory capacity in the Corsi block-tapping test ($p = 0.049$) compared with patients with a depressive episode.

Conclusion. Important data were obtained regarding the specifics of executive dysfunction depending on the type of affective disorder. The presented data expand and supplement available information about the cognitive characteristics of patients with bipolar affective disorder and depressive episode, which may be useful in clinical practice and serve a focus of future research.

Keywords: affective disorders, bipolar affective disorder, depressive episode, executive function, cognitive deficit

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 conducted within the state assignment No. 075-01184-22-00, the topic “Biopsychosocial mechanisms of pathogenesis and clinical polymorphism, adaptive potential and predictors of therapy effectiveness in patients with mental and behavioral disorders in Siberia” No. 122020200054-8.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Mental Health Research Institute (Protocol No. 114 of 22.10.2018).

For citation: Galkin S.A., Vasilieva S.N., Simutkin G.G., Ivanova S.A. Executive dysfunction in affective disorders: differences in bipolar affective disorder and depressive episode. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):28–33. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-28-33>.

ВВЕДЕНИЕ

Когнитивные нарушения являются частым симптомом аффективных расстройств (расстройств настроения). В частности, в ряде работ отмечаются нарушения памяти, внимания, мышления и другие симптомы у пациентов с аффективными расстройствами [1–4]. Существует ряд методов оценки когнитивных функций, но немногие из них в настоящее время используются в клинической практике. Учитывая частичное совпадение данных о типе и величине когнитивного дефицита у больных с депрессивным эпизодом (ДЭ) и биполярным аффективным расстройством (БАР), кажется маловероятным, что стандартные тесты могут быть использованы в качестве дополнительного инструмента для дифференциальной диагностики. В связи с этим становится актуальным поиск специфичных когнитивных нейромаркеров аффективных расстройств. Одним из таких нейромаркеров могут стать исполнительные функции.

Исполнительные функции (англ. executive functions) – это система высокоуровневых процессов, позволяющая планировать текущие действия в соответствии с общей целью, изменять реакцию в зависимости от контекста, избирательно уделять внимание нужным стимулам и игнорировать другие [5]. Исполнительные функции – базовые когнитивные процессы, к которым относятся внимание, сдерживающий (ингибиторный) контроль, рабочая память и когнитивная гибкость [5, 6]. Согласно данным ряда авторов, у пациентов с аффективными расстройствами отмечаются в разной степени тяжести нарушения исполнительного функционирования относительно здоровой группы контроля [1, 4]. Однако данных об особенностях дефицита исполнительных функций между пациентами с БАР и ДЭ нам также не удалось обнаружить.

Основываясь на данных различных исследований [1, 2, 4], мы предполагаем, что пациенты с БАР будут иметь более выраженные нарушения исполнительных функций, чем пациенты с ДЭ. Тем не менее прямых сравнений обеих групп пациентов (с БАР и ДЭ) в рамках одного исследования в литературе представлено крайне мало.

Цель данного исследования – выявить различия в исполнительном функционировании (ингибиторный контроль, рабочая память, когнитивная гибкость) между пациентами с БАР и ДЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе отделения аффективных состояний НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, согласно протоколу, утвержден-

ному локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья (протокол № 114 от 22.10.2018). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

В рамках проведения исследования обследованы 72 пациента (средний возраст $28,92 \pm 6,97$ лет) с установленным диагнозом «Расстройства настроения (аффективные расстройства)» по Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Из них 30 пациентов (14 муж., 16 жен.) с биполярным аффективным расстройством, текущий эпизод легкой или умеренной депрессии (F31.3), и 42 пациента (18 муж., 24 жен.) с депрессивным эпизодом легкой, умеренной и тяжелой степени без психических симптомов (F32.0–2).

Критерии включения в исследование: установленный диагноз аффективного расстройства в рамках биполярного аффективного расстройства или депрессивного эпизода, возраст 20–40 лет, добровольное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: наличие выраженных органических нарушений головного мозга, умственная отсталость, прием лекарственных средств, влияющих на мозовую деятельность, отказ от участия в исследовании.

Информация о пациентах получена с помощью анкетирования, по данным которого собирался психический и соматический статус. Постановка диагноза происходила в соответствии с критериями МКБ-10 квалифицированными врачами-психиатрами. Оценка клинических симптомов определялась с помощью психометрических шкал: HDRS-17 (Hamilton Rating Scale for Depression – 17) – шкала Гамильтона для оценки степени выраженности депрессивных симптомов [7] и HARS (Hamilton Anxiety Rating Scale) – шкала Гамильтона для диагностики тревоги [8].

Диагностика когнитивного дефицита осуществлялась с помощью программного пакета для разработки психологических тестов PsyToolkit [9]. Использовались компьютеризированные тесты Go/No-go [10] (оценка ингибиторного контроля и психомоторной реакции), Corsi [11] (определение объема пространственной рабочей памяти) и цветовой тест Струпа (Color Stroop) [12] (оценка уровня когнитивной гибкости).

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программы Statistica 12 (StatSoft Inc., США). Статистические данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Для оценки межгрупповых различий использовался U-критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для начала мы проанализировали клинические показатели исследуемых групп пациентов (табл. 1).

Таблица 1

Клиническая оценка пациентов с аффективными расстройствами, $Me [Q_1; Q_3]$			
Параметр	Пациенты с ДЭ, $n = 42$	Пациенты с БАР, $n = 30$	p
Возраст, лет	28 [23; 34]	27 [21; 36]	0,992
Длительность заболевания, лет	5 [2; 10]	6 [2; 11]	0,586
HDRS-17	23 [18; 24]	20 [16; 25]	0,503
HARS	16 [10; 22]	15 [12; 23]	0,782

Сравниваемые группы пациентов не различались по возрасту ($p = 0,992$), длительности расстройства ($p = 0,586$), тяжести депрессивной симптоматики ($p = 0,503$) и уровню тревоги ($p = 0,782$). Таким образом, пациенты с монополярной депрессией и БАР были сопоставимы по клиническим параметрам. Также все участники исследования имели высшее или неоконченное высшее образование, что позволяет проводить их полноценное сравнение.

Затем мы сравнили показатели когнитивного функционирования (данные когнитивных тестов) между пациентами с монополярной депрессией и БАР (табл. 2).

Таблица 2

Данные когнитивных тестов у пациентов с ДЭ и БАР, $Me [Q_1; Q_3]$				
Тест		Пациенты с ДЭ, $n = 42$	Пациенты с БАР, $n = 30$	p
Go/No-go	ошибки на сигнал «Go»	3 [2; 6]	4 [1; 7]	0,890
	ошибки на сигнал «No-go»	0 [0; 1]	2 [1; 3]	0,043*
Corsi (объем рабочей памяти)		5 [5; 6]	6 [5; 7]	0,049*
Color Stroop (время), с		63 [54; 74]	65 [52; 73]	0,796

Было обнаружено, что пациенты с БАР статистически значимо чаще совершили ошибки на сигнал «No-go» (ложное нажатие кнопки) в teste Go/No-go ($p = 0,043$), однако у них отмечался больший объем рабочей памяти в teste Corsi ($p = 0,049$) по сравнению с пациентами с ДЭ.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании проведена оценка исполнительного функционирования (ингибиторный контроль, рабочая память, когнитивная гибкость) у пациентов, страдающих БАР и ДЭ. Результаты наглядно показали, что при аффективных расстрой-

ствах отмечаются в разной степени выраженности изменения исполнительных функций.

Пациенты с БАР, в отличие от пациентов с монополярной депрессией, совершали значительно больше ошибок на сигнал «No-go» в задаче Go/No-go, что указывает на выраженное нарушение ингибиторного контроля. В ряде исследований также был обнаружен дефицит ингибиторных процессов у пациентов с БАР, что согласуется с нашими результатами [1, 2]. Дефицит ингибиторного контроля – это базовая когнитивная дисфункция, которая может лежать в основе маниакальной психопатологии и приводить к более сложным определяющим заболевание поведенческим характеристикам, таким как импульсивность, отвлекаемость, снижение способности подавлять эмоциональные реакции [13]. В соответствии с этим, согласно данным нейровизуализационных исследований, области мозга, которые функционально связаны с ингибиторными процессами, такие как вентролатеральная префронтальная кора, дорсолатеральная префронтальная кора и правая нижняя лобная извилина, часто претерпевали структурные и (или) функциональные изменения у пациентов с БАР [14, 15]. Тем не менее у пациентов с ДЭ подобных изменений не обнаружено, в отношении данных когнитивного тестирования в нашем исследовании, что указывает на различия в психопатологии рассматриваемых расстройств.

Одновременно с этим в группе пациентов с ДЭ мы наблюдаем более выраженное снижение объема рабочей памяти в teste Corsi по сравнению с пациентами с БАР. Рабочая память имеет фундаментальное значение для выполнения многих когнитивных задач в повседневной деятельности [16]. Согласно ряду исследований, снижение объема рабочей памяти коррелирует с большим накоплением отвлекающей информации [17, 18]. Считается, что люди с более высоким уровнем функционирования рабочей памяти лучше «отфильтровывают» отвлекающие факторы и сосредоточиваются только на важной информации в данный момент времени. По мнению D.C. Glahn и соавт. [18], дефицит рабочей памяти лежит в основе рецидивирующих (рекуррентных) депрессивных расстройств. У пациентов с БАР подобных изменений не обнаружено, что еще раз указывает на различия в психопатологии рассматриваемых расстройств.

Однако мы обнаружили, что показатели когнитивной гибкости в teste Струпа и психомоторной реакции в задаче Go/No-go (сигнал «Go») были в равной степени снижены у пациентов с БАР и ДЭ относительно нормы, что свидетельствует о сходстве психопатогенеза данных расстройств. Психомоторная реакция связана с когнитивной концепцией о скорости обработки информации. Проявления

психомоторной задержки могут включать снижение скорости речи и задержку моторной активности. Указанные изменения являются характерными симптомами депрессивного состояния [19].

Стоит отметить, что у пациентов с БАР, согласно полученным результатам, наблюдается одновременно снижение психомоторной реакции и дефицит ингибиторного контроля. Указанные особенности могут лежать в основе маниакальных (нарушение ингибиторного контроля) и депрессивных (снижение психомоторной реакции) симптомов у пациентов с БАР. Когнитивная гибкость – способность переключаться с одной задачи на другую в зависимости от изменяющихся условий – играет важную роль в способности человека адаптироваться к окружающей среде. Согласно литературным данным, помимо содействия целенаправленному поведению когнитивная гибкость участвует в регуляции эмоций, а нарушение этой способности присутствует при расстройствах настроения [19, 20]. В контексте БАР и ДЭ когнитивная гибкость является важной составляющей патогенеза этих расстройств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования получены важные данные относительно специфики дефицита исполнительного функционирования в зависимости от типа аффективного расстройства. Представленные данные расширяют и дополняют имеющиеся сведения о когнитивных особенностях при БАР и ДЭ, что может быть полезным в клинической практике и служить дальнейшим направлением для будущих исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- MacQueen G.M., Memedovich K.A. Cognitive dysfunction in major depression and bipolar disorder: assessment and treatment options. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 2017;71(1):18–27. DOI: 10.1111/jpcn.12463.
- Kessing L.V., Miskowiak K. Does cognitive dysfunction in bipolar disorder qualify as a diagnostic intermediate phenotype? – a perspective paper. *Front Psychiatry*. 2018;(9):490. DOI: 10.3389/fpsyg.2018.00490.
- Fett A.J., Velthorst E., Reichenberg A. Long-term Changes in Cognitive Functioning in Individuals With Psychotic Disorders: Findings From the Suffolk County Mental Health Project. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(4):387–396. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2019.3993.
- Trivedi M.H., Greer T.L. Cognitive dysfunction in unipolar depression: implications for treatment. *J. Affect Disord.* 2014;(1):19–27. DOI: 10.1016/j.jad.2013.09.012.
- Ferguson H.J., Brunsdon V., Bradford E. The developmental trajectories of executive function from adolescence to old age. *Sci. Rep.* 2021;11(1):1382. DOI: 10.1038/s41598-020-80866-1.
- Gunzenhauser C., Nückles M. Training executive functions to improve academic achievement: tackling avenues to far transfer. *Front Psychol.* 2021;12:624008. DOI: 10.3389/fpsyg.2021.624008.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 1960;23(1):56–62. DOI: 10.1136/jnnp.23.1.56.
- Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br. J. Med. Psychol.* 1959;32(1):50–55. DOI: 10.1111/j.2044-8341.1959.TB00467.X.
- Stoet G. PsyToolkit: A software package for programming psychological experiments using Linux. *Behavior Research Methods*. 2010;42(4):1096–1104. DOI: 10.3758/BRM.42.4.1096.
- Gomez P., Ratcliff R., Perea M. A model of the go/no-go task. *J. Exp. Psychol. Gen.* 2007;136(3):389–413. DOI: 10.1037/0096-3445.136.3.389.
- Kessels R., van Zandvoort M., Postma A., Kappelle L., de Haan E. The Corsi Block-Tapping Task: Standardization and Normative Data. *Applied Neuropsychology*. 2000;7(4):252–258. DOI: 10.1207/s15324826an0704_8.
- Stroop J.R. Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*. 1935;18:643–662.
- Roberts W., Fillmore M.T., Milich R. Linking impulsivity and inhibitory control using manual and oculomotor response inhibition tasks. *Acta Psychol. (Amst.)*. 2011;138(3):419–428. DOI: 10.1016/j.actpsy.2011.09.002.
- Monkul E.S., Malhi G.S., Soares J.C. Anatomical MRI abnormalities in bipolar disorder: do they exist and do they progress? *Aust. N. Z. J. Psychiatry*. 2005;39(4):222–226. DOI: 10.1080/j.1440-1614.2005.01571.x.
- Cousins D.A., Grunze H. Interpreting magnetic resonance imaging findings in bipolar disorder. *CNS Neurosci. Ther.* 2012;18(3):201–207. DOI: 10.1111/j.1755-5949.2011.00280.x.
- Hu Z., Barkley C.M., Marino S.E., Wang C., Rajan A., Bo K. et al. Working memory capacity is negatively associated with memory load modulation of alpha oscillations in retention of verbal working memory. *J. Cogn. Neurosci.* 2019;31(12):1933–1945. DOI: 10.1162/jocn_a_01461.
- Endres M.J., Houpt J.W., Donkin C., Finn P.R. Working memory capacity and redundant information processing efficiency. *Front Psychol.* 2015;(6):594. DOI: 10.3389/fpsyg.2015.00594.
- Glahn D.C., Curran J.E., Winkler A.M., Carless M.A., Kent J.W., Charlesworth J.C. High dimensional endophenotype ranking in the search for major depression risk genes. *Biol. Psychiatry*. 2012;71(1):6–14. DOI: 10.1016/j.biopsych.2011.08.022.
- Гвоздецкий А.Н., Петрова Н.Н., Акулин И.М. Влияние резидуальной симптоматики на когнитивные функции больных рекуррентной депрессией в ремиссии. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2020;107(2):26–33. DOI: 10.26617/1810-3111-2020-2(107)-26–33.
- Gabrys R.L., Tabri N., Anisman H., Matheson K. Cognitive control and flexibility in the context of stress and depressive symptoms: the cognitive control and flexibility questionnaire. *Front Psychol.* 2018;(9):2219. DOI: 10.3389/fpsyg.2018.02219.

Вклад авторов

Галкин С.А. – разработка концепции исследования, набор материала, анализ данных, написание статьи. Васильева С.Н. – набор материала, клинико-психопатологическое обследование пациентов. Симуткин Г.Г., Иванова С.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Галкин Станислав Алексеевич – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ; г. Томск, s01091994@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7709-3917>

Васильева Светлана Николаевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, vasilievasn@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7600-7557>

Симуткин Герман Геннадьевич – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, ggsimutkin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9813-3789>

Иванова Светлана Александровна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной генетики и биохимии, зам. директора по научной работе, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ. г. Томск, ivanovaniipz@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7078-323X>

(✉) **Галкин Станислав Алексеевич**, s01091994@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.09.2021;
одобрена после рецензирования 09.02.2022;
принята к публикации 17.03.2022

УДК 616.98:578.834.1-036.21:615.371
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-34-40>

Особенности отношения к вакцинации против COVID-19 в России

Галкин С.А.^{1,2}, Найденко Д.Г.¹, Корнетов А.Н.³, Гойко В.Л.², Мягков М.Г.^{1,4}

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, Томск, пр. Ленина, 36

² Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный
исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

³ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, Томск, Московский тракт, 2

⁴ Университет Орегона
США, Юджин, Орегон

РЕЗЮМЕ

Введение. Спустя 1,5 года с момента регистрации первой вакцины против COVID-19 в России, коллективный иммунитет населения страны достиг лишь 49,7%. Очевидно, что успешность мероприятий по вакцинации зависит от готовности населения к иммунизации и его отношения к вакцине.

Целью исследования стало изучение отношения к вакцинации против новой коронавирусной инфекции среди различных социально-демографических групп населения России.

Материалы и методы. Исследование проводилось в онлайн-формате посредством распространения в социальных сетях прямой ссылки на электронную форму с вопросами об отношении респондентов к пандемии COVID-19 и вакцинации. В заполнении формы онлайн-опроса приняли участие 2 786 человек (66,9% женщин) в возрасте 16–77 лет.

Результаты. Показано, что недоверие к вакцинации чаще проявляли женщины и лица более молодого возраста. Применение таргетированного подхода к различным группам населения может улучшить результаты информационно-профилактических мероприятий в условиях продолжающейся пандемии.

Ключевые слова: пандемия, COVID-19, коронавирусная инфекция, отношение к вакцинации, информационно-профилактические мероприятия

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ (проект № 20-04-60301).

Для цитирования: Галкин С.А., Найденко Д.Г., Корнетов А.Н., Гойко В.Л., Мягков М.Г. Особенности отношения к вакцинации против COVID-19 в России. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):34–40. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-34-40>.

Features of the attitude to vaccination against COVID-19 in Russia

Galkin S.A.^{1,2}, Naidenko D.G.¹, Kornetov A.N.³, Goiko V.L.², Myagkov M.G.^{1,4}

¹ National Research Tomsk State University (NR TSU)
36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

² Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

³ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

⁴ University of Oregon
Eugene, Oregon, USA

ABSTRACT

Background. 1.5 years after the registration of the first vaccine against COVID-19 in Russia, national herd immunity reached only 49.7%. It is obvious that the success of vaccination measures depends on the readiness of the population for immunization and their attitude to the vaccine.

The aim of the study was to research the attitude to vaccination against a new coronavirus infection among various socio-demographic population groups in Russia.

Materials and methods. The study was conducted online by distributing via social networks a direct link to an electronic form with questions about the attitude to the COVID-19 pandemic and vaccination. A total of 2,786 people (of whom 66.9% were women) aged 16 to 77 years took part in the online survey.

Results. It was shown that distrust of vaccination was more often expressed by women and younger people. A targeted approach to these population groups can improve the results of awareness-raising and preventive measures in the context of an ongoing pandemic.

Keywords: pandemic, COVID-19, coronavirus infection, attitude to vaccination, awareness-raising and preventive measures

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 RFBR grant, project No. 20-04-60301.

For citation: Galkin S.A., Naidenko D.G., Kornetov A.N., Goiko V.L., Myagkov M.G. Features of the attitude to vaccination against COVID-19 in Russia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):34–40. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-34-40>.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, на конец марта 2022 г. во всем мире было зарегистрировано в общей сложности 468 859 830 случаев заболевания и 5 792 618 смертельных случаев от новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [1], и эти цифры продолжают расти. При этом в России зарегистрировано 17 803 503 случая заражения и 368 025 смертей (по состоянию на 29 марта 2022 г.) [2]. Число новых случаев заражения коронавирусом в странах мира значительно варьирует. Одной из ведущих причин подобной дифференциацией

выступают административные распоряжения и рекомендации служб здравоохранения по замедлению распространения заболеваемости [3].

Массовая вакцинация является важнейшим направлением борьбы с COVID-19, поскольку применение вакцины позволяет создать стойкий популяционный иммунитет [4, 5]. Однако степень успешности мероприятий по вакцинации зависит от готовности населения к иммунизации и его отношения к вакцине. Сегодня в самых различных социальных группах существует некоторое недоверие к вакцинации и медицинским технологиям в целом [6, 7]. Истоки недоверия берут начало в 80–90 гг.

XX в., когда возникло целое движения «антипрививочных», которые проводят достаточно агрессивную пропаганду отказа от иммунизации. Россия в этом плане не является исключением. Во многих отчетах и сообщений средств массовой информации неоднократно упоминалось о низких темпах вакцинации среди граждан, несмотря на наличие бесплатных вакцин, а также действия ковидных ограничений [8, 9]. Спустя 1,5 года с момента регистрации первой вакцины в России (11 августа 2020 г.), коллективный иммунитет россиян достиг лишь 49,7% (данные на 25 марта 2022 г.) [10].

Таким образом, в ситуации, когда общество впервые за долгий период времени столкнулось с новой пандемией, характеризующейся относительно высокой вероятностью смертельного исхода или инвалидизации, появилась уникальная возможность проанализировать, каково отношение общества к медицинским технологиям и, в частности, к вакцинации для защиты от новой коронавирусной инфекции. К настоящему времени накоплен обширный массив эмпирических данных, посвященных психологическим, социально-демографическим и поведенческим предикторам решения о вакцинации [11–13]. Например, к распространенным факторам, связанным с отказом и сомнениями по поводу вакцинации от гриппа, относятся: представление о том, что риск невелик; неуверенность в эффекте или безопасности вакцины; общее отрицательное отношение к вакцинам; отрицание социального значения вакцинации и самого заболевания; низкий социально-экономический статус и недостаток знаний о прививке [11–13]. Не исключено, что похожие факторы являются причиной низкого темпа вакцинации от COVID-19 в России. Тем не менее исследований, посвященных изучению факторов, влияющих на отношение к вакцинации против новой коронавирусной инфекции, в доступной литературе встречается крайне мало, а их достоверность вызывает сомнения в связи с малым объемом выборки.

Цель исследования – изучить отношение к вакцинации против новой коронавирусной инфекции среди различных социально-демографических групп населения России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения отношения населения к вакцинации против COVID-19, в январе–марте 2021 г. нами был проведен опрос в формате онлайн-тестирования на платформе ivik.org. Респонденту предлагалось заполнить электронную форму анкеты, в которой опрашиваемый самостоятельно отвечал на вопросы

для уточнения его отношения к мероприятиям, направленным на профилактику распространения новой коронавирусной инфекции.

Все респонденты дали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию данных в анонимном и обобщенном виде. Выборка набиралась путем объявлений в социальных сетях в соответствии со стандартными сетевыми методами набора респондентов [14, 15]. Всего в исследовании приняли участие 2 786 человек в возрасте 16–77 лет (средний возраст – $29,57 \pm 10,86$ лет), из них 1 864 женщины (66,9%) и 922 мужчин (33,1%). Неполное среднее образование имели 42 (1,5%) лиц, среднее общее образование – 415 (14,9%), среднее специальное образование – 187 (6,7%), незаконченное высшее – 1197 (43%), высшее профессиональное образование – 945 (33,9%). В исследовании приняли участие жители следующих регионов России: Центральный округ (40,1%), Северо-Западный (10,4%), Уральский (5,1%), Приволжский (27,4%), Южный (10,5%), Сибирский (6,5%). Из 2 786 человек 734 (26,3%) сообщили о перенесенном заболевании COVID-19, из которых 93% – в легкой форме.

Обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета Statistica 12. Использовались методы описательной статистики. Данные представлены в виде абсолютных и относительных величин n (%). Для выявления значимости различий показателей между группами использовался критерий Пирсона (критерий χ^2). Для оценки корреляций между исследуемыми параметрами использовался критерий ранговой корреляции Спирмена (r_s).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенный анализ блока вопросов, отражающих отношение респондентов к вакцинации от COVID-19, показал неоднозначные результаты (рис.). На вопрос «Я соглашусь на вакцинацию против COVID-19» 1 604 (57,6%) респондента высказались «против», 551 (19,8%) – «за», остальные 631 (22,6%) затруднились с ответом. При этом 1 389 (49,9%) респондентов были не согласны с тем, что вакцинация должна быть обязательной, тогда как обязательную вакцинацию поддерживают лишь 729 (26,2%). 1 076 (38,6%) человек не считают, что «вакцина может помочь контролировать распространение COVID-19», однако 829 (29,8%) были согласны с данным утверждением (рис.).

Далее участники опроса были разделены на две группы с учетом пола. Данные, полученные в результате проведенного опроса в зависимости от гендерного признака, представлены в табл. 1.



Рисунок. Отношение респондентов к вакцинации от COVID-19

Таблица 1

Результаты опроса отношения к вакцинации против COVID-19 с учетом гендерного аспекта, n (%)				
Согласны ли Вы со следующими утверждениями?	Варианты ответа	Мужчины, n = 922	Женщины, n = 1 864	Всего, n = 2 786
Я соглашусь на вакцинацию против COVID-19	Не согласен(а)	467 (50,7%)	1 137 (61%)	1 604 (57,6%)
	Затрудняюсь с ответом	213 (23,1%)	418 (22,4%)	631 (22,6%)
	Согласен(а)	242 (26,2%)	309 (16,6%)	551 (19,8%)
Я считаю, что вакцина может помочь контролировать распространение COVID-19	Не согласен(а)	299 (32,4%)	777 (41,7%)	1 076 (38,6%)
	Затрудняюсь с ответом	282 (30,6%)	599 (32,1%)	881 (31,6%)
	Согласен(а)	341 (37%)	488 (26,2%)	829 (29,8%)
Я считаю, что вакцинация должна быть обязательна для некоторых групп населения	Не согласен(а)	405 (43,9%)	984 (52,8%)	1 389 (49,9%)
	Затрудняюсь с ответом	218 (23,6%)	450 (24,1%)	668 (23,9%)
	Согласен(а)	299 (32,4%)	430 (23,1%)	729 (26,2%)

По результатам опроса было выявлено, что женщины чаще мужчин были против вакцинации (61 против 50,7%; $\chi^2 = 40,72$; $p < 0,001$), выражали сомнение в отношении эффективности вакцинации (41,7 против 32,4%; $\chi^2 = 37,38$; $p < 0,001$), а также чаще были не согласны с утверждением о том, что вакцинация должна быть обязательной (52,8 против 43,9%; $\chi^2 = 30,29$; $p < 0,001$).

Затем участники опроса были разделены на шесть групп с учетом возраста: I группа – молодые люди в возрасте до 20 лет (927 человек), представ-

лена школьниками и студентами начальных курсов; II группа – в возрасте 20–29 лет (1219 человек), представлена студентами, магистрантами и аспирантами; III группа – 30–39 лет (279 человек), IV группа – 40–49 лет (223 человека) и V группа – 50–59 лет (86 человек) – лица трудоспособного возраста; VI группа – 60 лет и старше (52 человека), все являются пенсионерами.

Данные, полученные в результате проведенного опроса с учетом возраста респондентов, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты опроса отношения к вакцинации против COVID-19 с учетом возрастного аспекта, n (%)						
Согласны ли Вы со следующими утверждениями?	Варианты ответа	Возрастные группы				
		I <20 лет	II 20–29 лет	III 30–39 лет	IV 40–49 лет	V 50–59 лет
Я соглашусь на вакцинацию против COVID-19	Не согласен(а)	551 (59,4%)	755 (61,9%)	138 (49,5%)	113 (50,7%)	26 (30,2%)
	Затрудняюсь с ответом	221 (23,8%)	255 (20,9%)	75 (26,9%)	48 (21,5%)	22 (25,6%)
	Согласен(а)	155 (16,7%)	209 (17,1%)	66 (23,7%)	62 (27,8%)	38 (44,2%)
Я считаю, что вакцина может помочь контролировать распространение COVID-19	Не согласен(а)	387 (41,7%)	498 (40,9%)	83 (29,7%)	75 (33,6%)	18 (20,9%)
	Затрудняюсь с ответом	327 (35,3%)	376 (30,8%)	90 (32,3%)	59 (26,5%)	20 (23,3%)
	Согласен(а)	213 (23%)	345 (28,3%)	106 (38%)	89 (39,9%)	48 (55,8%)
Я считаю, что вакцинация должна быть обязательна для некоторых групп населения	Не согласен(а)	455 (49,1%)	629 (51,6%)	149 (53,4%)	107 (48%)	26 (30,2%)
	Затрудняюсь с ответом	242 (26,1%)	288 (23,6%)	57 (20,4%)	46 (20,6%)	26 (30,2%)
	Согласен(а)	230 (24,8%)	302 (24,8%)	73 (26,2%)	70 (31,4%)	34 (39,5%)

Согласно данным из табл. 2, обнаружено, что лица старшего возраста (50 лет и старше, группа V и VI) чаще других выражали согласие на вакцинацию ($\chi^2 > 34,78$; $p < 0,001$), и в целом отмечается прямая корреляция между возрастом респондентов и количеством согласных на вакцинацию ($r_s = 0,244$; $p = 0,018$). Похожая тенденция отмечается и в отношении эффективности вакцинации ($r_s = 0,322$; $p < 0,001$), лица старшего возраста (30 лет и старше, группа III, VI) чаще соглашались с тем, что вакцина может помочь контролировать распространение новой коронавирусной инфекции (более половины респондентов в каждой группе были согласны с данным утверждением; $p < 0,05$). Тем не менее почти во всех группах лиц, за исключением V группы,

большинство были категорически против обязательной вакцинации для некоторых категорий населения, хотя с возрастом количество несогласных снижалось.

Дополнительно мы проанализировали результаты опроса в зависимости от уровня образования респондентов. Были выделены пять групп: I – лица с неполным средним образованием (42 человека), II – лица со средним общим образованием (415 человек), III группа имела среднее специальное образование (187 человек), IV – незаконченное высшее (1 197 человек) и V группа – лица с высшим профессиональным образованием (945 человек). Данные, полученные в результате проведенного опроса с учетом уровня образования респондентов, представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты опроса отношения к вакцинации против COVID-19 с учетом уровня образования, <i>n</i> (%)		Группы по уровню образования				
Согласны ли Вы со следующими утверждениями?	Варианты ответа	I	II	III	IV	V
	Не согласен(а)	29 (69%)	238 (57,3%)	121 (64,7%)	731 (61,1%)	485 (51,3%)
Я соглашусь на вакцинацию против COVID-19	Затрудняюсь с ответом	9 (21,5%)	97 (23,4%)	44 (23,5%)	265 (22,1%)	216 (22,9%)
	Согласен(а)	4 (9,5%)	80 (19,3%)	22 (11,8%)	201 (16,8%)	244 (25,8%)
	Не согласен(а)	23 (54,8%)	169 (40,7%)	87 (46,5%)	495 (41,4%)	302 (32%)
Я считаю, что вакцина может помочь контролировать распространение COVID-19	Затрудняюсь с ответом	9 (21,4%)	133 (32,1%)	60 (32,1%)	414 (34,6%)	265 (28%)
	Согласен(а)	10 (23,8%)	113 (27,2%)	40 (21,4%)	288 (24,1%)	378 (40%)
	Не согласен(а)	26 (62%)	192 (46,3%)	94 (50,3%)	601 (50,2%)	476 (50,4%)
Я считаю, что вакцинация должна быть обязательна для некоторых групп населения	Затрудняюсь с ответом	8 (19%)	115 (27,7%)	50 (26,7%)	294 (24,6%)	201 (21,3%)
	Согласен(а)	8 (19%)	108 (26%)	43 (23%)	302 (25,2%)	268 (28,4%)

Согласно данным из табл. 3, уровень образования оказывал влияние на отношение к эффективности вакцинации – большинство респондентов с высшим профессиональным образованием (группа V) были согласны с тем, что вакцина может помочь контролировать распространение заболевания (40 против 32%), также в данной группе респондентов отмечалась наибольшая доля согласных на вакцинацию (25,8%) и введение обязательного вакцинирования некоторых групп населения (28,4%).

ОБСУЖДЕНИЕ

Пандемия COVID-19 стала беспрецедентным вызовом для общества [14, 16]. Существующие проблемы со здоровьем среди уязвимых групп населения могут кратко усугубиться под влиянием новых волн заражения коронавирусом [16–18]. Несмотря на это, большая часть опрошенных в нашем исследовании респондентов относятся к вакцинации от новой коронавирусной инфекции отрицательно (57,6%) либо затрудняются с ответом (22,6%), что может быть обусловлено претензиями к качеству и эффективности вакцины (38,6%), а также недоверию к вакцинации в

целом. Лишь малая часть опрошенных (19,8%) выразила готовность к использованию вакцины, при этом разброс мнения коррелировал с гендерным признаком и возрастной группой.

Сомнения по поводу вакцинации, неуверенность в ее необходимости и эффективности более характерны для женщин, чем для мужчин. Так, согласно полученным данным, женщины по сравнению с мужчинами в большей части выразили несогласие на вакцинацию (61 против 50,7%), а также сомнение в эффективности самой вакцины (41,7 против 32,4%). Для примера, большая часть мужчин была согласна с утверждением, что вакцина может помочь контролировать распространение COVID-19 (37 против 32,4%), тогда как в женской группе большинство склонно предполагать обратное (26,2 против 41,7%). Это во многом соответствует данным других исследований [19–21].

Также обнаружено, что значительная доля молодых лиц в возрасте до 49 лет (в среднем 55%), не готовых к иммунизации, была противопоставлена сравнительно большой доле согласных на вакцинацию среди лиц более старшего возраста (в среднем

42,3%). Данный факт является относительно благоприятной тенденцией, поскольку лица более старшего возраста находятся в группе риска осложненного течения коронавирусной инфекции и развития острого респираторного дистресс-синдрома [22]. Аналогичная тенденция отмечается и в отношении эффективности вакцинации в разных возрастных группах. Также стоит обратить внимание, что большинство опрошенных с высшим профессиональным образованием согласны с мнением, что вакцина может помочь контролировать распространение COVID-19, кроме того, в данной группе респондентов отмечался наибольшая доля согласных на вакцинацию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным Левада-Центра [23], даже достаточная на начало марта 2021 г. информация и опыт второй волны пандемии не дают уверенности в принятии решения населением в пользу вакцинации. Наше исследование показало, что недоверие к вакцинации чаще проявляли женщины и лица более молодого возраста. Применение таргетированного подхода к данным группам населения может улучшить результаты информационно-профилактических мероприятий в условиях продолжающейся пандемии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. COVID-19 Data Repository by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. URL: <https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19>
2. Официальная статистика коронавируса. URL: <https://gogov.ru/articles/covid-19>
3. Холиков И. Распространение эпидемий, пандемий и массовых заболеваний как глобальный вызов современности. *Пути к миру и безопасности*. 2020;59(2):27–40. DOI: 10.20542/2307-1494-2020-2-27-40.
4. Ноздрачева А.В., Готвянская Т.П., Семененко А.В., Афонин С.А. Основные направления неспецифической профилактики инфекционных заболеваний. *Санитарный врач*. 2021;11:24–37. DOI: 10.33920/med-08-2111-02.
5. Dror A.A., Eisenbach N., Taiber S., Morozov N.G., Mizrahi M., Zigran A. et al. Vaccine hesitancy: the next challenge in the fight against COVID-19. *Eur. J. Epidemiol.* 2020;35(8):775–779. DOI: 10.1007/s10654-020-00671-y.
6. Germani F., Biller-Andorno N. The anti-vaccination info-demic on social media: A behavioral analysis. *PLoS One*. 2021;16(3):e0247642. DOI: 10.1371/journal.pone.0247642.
7. Stolle L.B., Nalamasu R., Pergolizzi J.V., Varrassi G., Magnusson P., LeQuang J. et al. The anti-vaccine discussion re-loaded. *Adv. Ther.* 2020;37(11):4481–4490. DOI: 10.1007/s12325-020-01502-y.
8. Богомягкова Е.С. Отношение россиян к вакцинации от COVID-19: проблемы и противоречия. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*. 2021;29(S1):736–742. DOI: 10.32687/0869-866X-2021-29-s1-736-742.
9. Горошко Н.В., Емельянова Е.К., Пацала С.В. Проблема ковид-антивакцинации: Россия на мировом фоне. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2021;67(4). DOI: 10.21045/2071-5021-2021-67-4-3.
10. Вакцинация от COVID-19. URL: <https://xn--80aesfpebagmfb0a.xn--p1ai/information/>
11. Madison A.A., Shrout M.R., Renna M.E., Kiecolt-Glaser J.K. Psychological and Behavioral Predictors of Vaccine Efficacy: Considerations for COVID-19. *Perspect. Psychol. Sci.* 2021;16(2):191–203. DOI: 10.1177/1745691621989243.
12. Razai M.S., Oakeshott P., Esmail A., Wiysonge C.S., Viswanath K., Mills M.C. COVID-19 vaccine hesitancy: the five Cs to tackle behavioural and sociodemographic factors. *J. R. Soc. Med.* 2021;114(6):295–298. DOI: 10.1177/01410768211018951.
13. Рассказова Е.И., Тхостов А.Ш. Готовность к вакцинации против коронавируса как мера доверия официальным медицинским рекомендациям: роль тревоги и представлений. *Национальный психологический журнал*. 2021;41(1):76–90. DOI: 10.11621/npj.2021.0107.
14. Chkhartishvili A.G., Gubanov D.A., Kozitsin I.V. Face mask perception during the covid-19 pandemic: An observational study of russian online social network vkontakte. *Advances in Systems Science and Applications*. 2021;21(3):91–100. DOI: 10.25728/assa.2021.21.3.1124
15. Peshkovskaya A., Myagkov M. Eye gaze patterns of d decision process in prosocial behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2020;14:525087. DOI: 10.3389/fnbeh.2020.525087.
16. Peshkovskaya A. Letter to the editor: Other Consequences. COVID-19 and underestimated public health crisis. *Journal of Psychiatric Research*. 2021;144:320–322. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2021.10.038.
17. Боян Н.А., Мандель А.И., Пешковская А.Г., Бадыргы И.О., Асланбекова Н.В. ЭтнотERRиториальная гетерогенность формирования алкогольной зависимости у коренного населения Сибири. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуск*. 2013;113(6-2):9–13. URL: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84940309786&partnerID=40&md5=6dbbcf6b5c4f8c3a5cbe5c9e7a5d155c>
18. Воеводин И.В., Пешковская А.Г., Галкин С.А., Белокрылов И.И. Социальная адаптация и психическое здоровье студентов-мигрантов в Сибири. *Социологические исследования*. 2020;11:157–161. DOI: 10.31857/S013216250010306-9.
19. Caserotti M., Girardi P., Rubaltelli E., Tasso A., Lotto L., Gavaruzzi T. Associations of COVID-19 risk perception with vaccine hesitancy over time for Italian residents. *Soc. Sci. Med.* 2021;272:113688. DOI: 10.1016/j.soscimed.2021.113688.
20. Detoc M., Bruel S., Frappe P., Tardy B., Botelho-Nevers E., Gagneux-Brunona A. Intention to participate in a COVID-19 vaccine clinical trial and to get vaccinated against COVID-19 in France during the pandemic. *Vaccine*. 2020;38(45):7002–7006. DOI: 10.1016/j.vaccine.2020.09.041.
21. Karlsson L.C., Soveri A., Lewandowsky S., Karlsson L., Karlsson H., Nolvi S. et al. Fearing the disease or the vaccine:

- The case of COVID-19. *Pers. Individ. Dif.* 2021;172:110590.
DOI: 10.1016/j.paid.2020.110590.
22. Goh K.J., Choong M.C., Cheong E.H., Kalimuddin S., Duu Wen S., Phua G.C. et al. Rapid Progression to Acute Respiratory Distress Syndrome: Review of Current Understanding of Critical Illness from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Infection. *Ann. Acad. Med. Singap.* 2020;49(3):108–118.
23. Коронавирус: вакцина и происхождение вируса: URL: <https://www.levada.ru/2021/03/01/koronavirus-vaktsina-i-proishozhdenie-virusa/>

Вклад авторов

Гойко В.Л., Мягков М.Г. – концепция исследования. Мягков М.Г. – методология, руководство исследованием. Найденко Д.Г., Гойко В.Л. – реализация исследования. Галкин С.А. – анализ данных, подготовка оригинального текста рукописи и написание статьи. Корнетов А.Н. – редактирование текста.

Информация об авторах

Галкин Станислав Алексеевич – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ; аналитик лаборатории экспериментальных методов в общественных и когнитивных науках, НИ ТГУ, г. Томск, s01091994@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7709-3917>

Найденко Дарья Григорьевна – аналитик, лаборатория экспериментальных методов в общественных и когнитивных науках, НИ ТГУ, г. Томск, naydenkoDG@data.tsu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7709-3969>

Корнетов Александр Николаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальной психологии и поведенческой медицины, СибГМУ, г. Томск, kornetov@sstu.ru/, <https://orcid.org/0000-0002-2342-7504>

Гойко Вячеслав Леонидович – директор центра прикладного анализа больших данных, НИ ТГУ, г. Томск, goiko@data.tsu.ru, 0000-0002-5985-3724

Мягков Михаил Георгиевич – PhD, профессор Университета Орегона, США; зав. лабораторией экспериментальных методов в общественных и когнитивных науках, НИ ТГУ, г. Томск, myagkov@uoregon.edu, <https://orcid.org/0000-0002-8419-6404>

(✉) **Галкин Станислав Алексеевич**, s01091994@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.04.2022;
одобрена после рецензирования 16.05.2022;
принята к публикации 25.05.2022

УДК 616.24-006.6:616.23/.24-002.2]-036.8
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-41-49>

Рак легкого у больных ХОБЛ и факторы, ассоциированные со снижением их выживаемости

Добнер С.Ю.¹, Федосенко С.В.², Родионов Е.О.^{1,2}, Яровой Н.Д.³, Петров В.А.²,
Тузиков С.А.^{1,2}, Старовойтова Е.А.², Самыкина И.А.¹

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

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

³ Томский областной онкологический диспансер (ТООД)
Россия, 634009, Томск, пр. Ленина, 115

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Сочетание различных форм рака легкого и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) встречается очень часто. ХОБЛ, сопровождающаяся вентиляционными нарушениями и нередко дыхательной недостаточностью, является существенным дополнительным фактором риска летальности у этих больных. Выявление факторов риска смертности у пациентов с раком легкого и ХОБЛ потенциально может быть связано с лучшими отдаленными результатами.

Материалы и методы. С помощью регрессии Кокса, основанной на информации об исходе заболевания и продолжительности жизни после начала лечения, проведен анализ выживаемости с оценкой вклада различных клинико-анамнестических факторов для группы из 118 больных ХОБЛ с первично диагностированным раком легкого. Эти больные получали лечение в НИИ онкологии в Томске в период с 2013 по 2019 г.

Результаты. В исследование включены 118 пациентов (87,3% мужчин и 12,7% женщин). Среди них 77,97% пациентов были активными или бывшими курильщиками с индексом курильщика (SPI) ≥ 10 пачек/год, а 22% никогда не курили или с SPI < 10 пачек/лет, но имели другие факторы риска развития ХОБЛ. Периферический рак легкого выявлен в 45,8% случаев. Плоскоклеточный рак отмечен в 54,2% случаев, adenокарцинома – у 34,7% больных, крупноклеточный рак – у 1,7%, нейроэндокринный мелкоклеточный рак – у 5,9%, карциноидные опухоли – у 2,5% пациентов. Больные характеризовались различной степенью выраженности вентиляционных нарушений по классификации GOLD: первая стадия ХОБЛ наблюдалась у 44% больных, вторая – у 38,1%, третья – у 16,9%, четвертая стадия – у одного из пациентов. Трехлетняя выживаемость составила 28,12%.

Заключение. По результатам анализа методом регрессии Кокса в качестве факторов, значительно снижающих выживаемость больных раком легкого в сочетании с ХОБЛ, необходимо выделить более распространенные стадии по размеру первичной опухоли и ее локализации, а также выраженность метастазирования (по классификации TNM), более значительную одышку (по шкале mMRC), более низкое значение сатурации кислорода, наличие ателектаза легкого, эпизодов пневмонии, в том числе параканкрозной, в предшествующие 12 мес. В качестве негативных факторов выживания следует также отметить наличие некоторых видов метастазов, таких как метастатическое поражение плевры, надпочечников, отдаленных нерегиональных лимфатических узлов, костей скелета. Отметим, что хирургическое лечение первичной опухоли было связано с увеличением выживаемости больных раком легкого в сочетании с ХОБЛ.

Ключевые слова: рак легкого, хроническая обструктивная болезнь легких, ХОБЛ, выживаемость больных

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на проведение исследования. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 10 от 26.09.2016).

Для цитирования: Добнер С.Ю., Федосенко С.В., Родионов Е.О., Яровой Н.Д., Петров В.А., Тузиков С.А., Старовойтова Е.А., Самыкина И.А. Рак легкого у больных ХОБЛ и факторы, ассоциированные со снижением их выживаемости. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):41–49. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-41-49>.

Lung cancer in patients with COPD and factors associated with reduced survival

**Dobner S.Yu.¹, Fedosenko S.V.², Rodionov E.O.^{1,2}, Yarovoy N.D.³, Petrov V.A.²,
Tuzikov S.A.^{1,2}, Starovoitova E.A.², Samykina I.A.¹**

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

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

³ Tomsk Regional Oncology Dispensary
115, Lenina Av., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Background. A combination of different types of lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is very common. COPD, accompanied by ventilation disorders and, often, respiratory failure, is a significant additional risk factor for mortality in these patients. Identification of risk factors for mortality in patients with lung cancer and COPD can potentially be associated with better long-term outcomes.

Materials and methods. Using a Cox regression model based on information about the outcome of the disease and life expectancy after treatment initiation, a survival analysis was performed with an assessment of the contribution of various clinical and anamnestic factors for a group of 118 COPD patients with primary diagnosed lung cancer. These patients received treatment at the Cancer Research Institute in Tomsk in 2013–2019.

Results. The study included 118 patients (87.3% men and 12.7% women). Among them, 77.97% of patients were active or former smokers with smoking index (SI) ≥ 10 pack-years, and 22% of patients had never smoked or had SI < 10 pack-years but had other risk factors for COPD. Peripheral lung cancer was detected in 45.8% of cases. Squamous cell carcinoma was noted in 54.2% of cases, adenocarcinoma – in 34.7%, large cell carcinoma – in 1.7%, small cell carcinoma – in 5.9%, and carcinoid tumors – in 2.5% of cases. Patients were characterized by varying degrees of severity of ventilation disorders in accordance with the GOLD classification: stage 1 was observed in 44% of patients, stage 2 – in 38.1 % of patients, stage 3 – in 16.9 % of patients, and stage 4 – in one patient. Three-year mortality was 28.12%.

Conclusion. According to the results of the Cox regression analysis, factors that significantly reduced the survival rate of patients with lung cancer in combination with COPD were more severe stages in terms of the size of the primary tumor and its localization, the prevalence of metastasis (according to TNM classification), more severe dyspnea (mMRC scale), lower oxygen saturation values, atelectasis, and episodes of pneumonia, including paracarcinotic pneumonia, over the previous 12 months. The presence of certain types of metastases, such as metastatic lesions of the pleura, adrenal glands, distant non-regional lymph nodes, and bones should also be noted as negative factors for survival. It is worth noting that surgical treatment of the primary tumor was associated with an increase in the survival rate in patients with lung cancer in combination with COPD.

Keywords: lung cancer, chronic obstructive pulmonary disease, COPD, patient survival

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.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Cancer Research Institute of Tomsk NRMC (Protocol No. 10 of 26.09.2016).

For citation: Dobner S.Yu., Fedosenko S.V., Rodionov E.O., Yarovoy N.D., Petrov V.A., Tuzikov S.A., Starovoitova E.A., Samykina I.A. Lung cancer in patients with COPD and factors associated with reduced survival. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):41–49. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-41-49>.

ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого (РЛ) – злокачественное новообразование (ЗНО) с высоким уровнем летальности. Ежегодно в России от него умирает более 60 тыс. человек, из них 80% составляют мужчины. По статистическим данным, после установления первичного диагноза летальность в течение года достигает более 50%, а средняя пятилетняя выживаемость даже при адекватном лечении составляет в среднем около 10–16% [1].

Прогнозы выживаемости при РЛ зависят от множества причин: стадии заболевания, морфологического вида опухоли, возраста пациента, сопутствующей хронической патологии и выбора тактики лечения [2].

Почти у 2/3 мужчин и половины женщин с впервые диагностированными первичными формами РЛ определяются признаки обструкции дыхательных путей [3]. Группа исследователей под руководством J.P. De-Torres, обследовав амбулаторных пациентов США и Испании ($n = 2\,125$), разработали критерии прогнозирования развития РЛ, которые включали возраст старше 60 лет, индекс массы тела более 25 кг/м², индекс курящего человека > 60 пачка/лет, наличие эмфиземы по компьютерной томографии и признаков хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) по спирографии [3]. Таким образом, ограничение воздушного потока и эмфизему, характерные для ХОБЛ, вероятно, следует рассматривать как потенциальные факторы риска развития РЛ.

РЛ и ХОБЛ представляют собой коморбидные заболевания со сходным патогенетическим механизмом развития патологического процесса в бронхах и легочной паренхиме, обусловленного систематическим повреждающим воздействием табака, радона, асбеста, продуктов загрязнения окружающей среды в сочетании с генетической (наследственной) предрасположенностью [4–6].

В настоящее время ХОБЛ рассматривается в качестве независимого фактора риска развития РЛ [7]. По эпидемиологическим данным, заболеваемость РЛ у курильщиков с ХОБЛ в 4–5 раз выше, чем у курильщиков без ХОБЛ [7, 8]. В исследовании R.P. Young и соавт. показано, что снижение объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) при ХОБЛ увеличивало риск развития РЛ в 4 раза в сравнении с курильщиками с нормальной функцией внешнего дыхания, несмотря на их возраст и стаж курения [9]. J. Murakami и соавт. отмечают, что рак, возникающий при эмфиземе, обладает более агрессивным характером и чаще рецидивирует в послепроперационном периоде [9].

В свою очередь, понимание общих механизмов развития РЛ и ХОБЛ позволяет предполагать, что своевременная диагностика и длительное эффективное лечение хронического воспаления в дыхательных путях, ассоциированного с бронхобструкцией у больных ХОБЛ, на фоне прекращения воздействия альтерирующих факторов, вероятно, могут профилактировать и снижать риск развития РЛ [6, 10].

Именно ХОБЛ чаще всего приводит к снижению показателей функции внешнего дыхания и является фактором, определяющим частоту осложнений и риск летального исхода у онкологических больных. Так, по данным R. Kondo и соавт., пятилетняя выживаемость у больных РЛ с ХОБЛ составила 38%, а без ХОБЛ – 54%. При этом значение смертности у пациентов с ХОБЛ находилось на уровне 63%, а в группе без ХОБЛ – 45% [7].

ХОБЛ является значимым предиктором периоперационной смертности и основной причиной послепроперационных респираторных осложнений, развития дыхательной недостаточности из-за выраженных нарушений функции внешнего дыхания. Нередко эти опасения являются основной причиной отказа от радикальной операции у части больных, так как на фоне выраженной ХОБЛ и значимой сопутствующей/коморбидной патологии у возрастных пациентов

тот весьма проблематичным становится как проведение собственно искусственной вентиляции легких, так и ведение раннего послеоперационного периода, что сопряжено с повышением риска смертности в данной группе пациентов [10, 11].

Цель данной работы – ретроспективное изучение исходной клинико-анамнестической характеристики больных ХОБЛ и первичным раком легкого с оценкой исхода заболевания и продолжительности жизни на фоне проводимого лечения и установлением факторов, ассоциированных с выживаемостью и летальностью у данной группы коморбидных пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках ретроспективного исследования выполнен подробный анализ демографических, клинико-анамнестических данных из историй болезней 118 пациентов с ХОБЛ, проходивших обследование и лечение (хирургическое, химиотерапевтическое, радиологическое или комбинированное) по поводу первично-диагностированных ЗНО бронхов и легкого в НИИ онкологии Томского НИМЦ в 2013–2019 гг.

Статистическая обработка полученных данных проведена при помощи пакета программ Statistica for Windows 10.0 и программного продукта StatCalc 6.0. Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные – в виде $X \pm x$, где X – среднее арифметическое, x – ошибка среднего. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Используя регрессию Кокса, основанную на информации об исходе заболевания и продолжительности жизни после начала лечения (в рамках оценки одно- и трехлетней выживаемости), для данной группы больных проведен анализ выживаемости с оценкой вклада различных клинических и анамнестических факторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время среди больных РЛ и (или) ХОБЛ преобладающим гендером является мужской, а заболеваемость увеличивается с возрастом [2, 11]. По данным выполненного нами ретроспективного исследования, среди 118 пациентов с ХОБЛ и впервые диагностированными первичными формами ЗНО бронхов и легкого 87,3% больных были мужского пола и 12,7% женского. Возраст пациентов на начало лечения составил $63,63 \pm 7,25$ лет, возраст постановки диагноза РЛ – $61,92 \pm 7,26$ лет.

Известно, что в 90–95% случаев развития ХОБЛ причиной заболевания является табакокурение. Также курение оказывает канцерогенное действие на легочную ткань в 85–95% случаев РЛ у мужчин и в 65–80% у женщин [6–8]. Среди обследованных нами

пациентов 13 человек (11,1%) курили в прошлом и 79 больных (66,9%) курили на начало периода наблюдения в ретроспективном анализе с индексом курящего человека (ИКК) > 10 пачка/лет. Также у 26 пациентов (22%) ИКК находился на уровне < 10 пачка/лет, однако у них наблюдались другие факторы риска развития ХОБЛ (воздействие профессиональных вредностей (пыль, химические агенты, пары кислот и щелочей) и промышленных полутантов (SO_2 , NO_2 , печной дым и т.п.) и др.). В среднем стаж курения в группе составил $33,45 \pm 13,58$ лет, а ИКК – $33,35 \pm 14,53$ пачка/лет. При этом наиболее длительная продолжительность курения составила 55 лет, а максимальное значение ИКК у наиболее злостных курильщиков – 60 пачка/лет. В 45,8% случаев выявлен периферический РЛ, у 44,2% – центральная локализация опухоли.

В рамках выполненного нами ретроспективного анализа пациенты классифицированы в соответствии седьмым изданием (2011 г.) Международной классификации стадий злокачественных новообразований TNM (tumor, nodus, metastasis) [12]. По распространению первичной опухоли (TNM-T) у 19% больных диагностирована T1 стадия заболевания, 18,7% пациентов – T2, в 43,2% случаях процесс расценен как T3 и в 22% – T4. Наличие метастазов в региональных лимфатических узлах диагностировано у 67% пациентов (N1-поражение в 22,9%, N2 – в 34,7%, N3 – в 9,3%). Отдаленные метастазы (M1) выявлены у 22% пациентов, включенных в исследование.

Так, метастатический плеврит определялся у 11,9% больных, метастазы в то же или контролатеральное легкое выявлены только у 5,9% пациентов. Внелегочные метастазы обнаруживались чаще в костях – в 9,3% случаев, в печени – в 5,9%, в головном мозге – в 3,4%, в надпочечниках – в 6,8%, в нерегиональных лимфатических узлах – у 16,1% больных. Выраженный инвазивный рост опухоли с поражением соседних органов и тканей, магистральных сосудов определялся у 48% пациентов.

Полученные результаты свидетельствуют о преобладании доли пациентов с «запущенными» (местнораспространенными и метастатическими) формами РЛ, что может быть объяснено длительным малосимптомным характером заболевания, маскированием его проявлений симптомами и обострениями ХОБЛ в данной группе больных, а также их поздней обращаемостью за медицинской помощью. Так, по данным А.Д. Каприна и соавт., 68,7% больных РЛ узнают о диагнозе на III–IV стадиях заболевания, а метастазирование определяется у 40,8% из них на момент выявления РЛ [1, 10, 13].

Согласно статистическим данным, злокачественная опухоль чаще всего развивается в правом легком (56%). При этом в 60% случаев поражается верхняя доля, в 30% – нижняя и в 10% – средняя доля легкого [1, 13]. В группе проанализированных нами пациентов с сочетанием ХОБЛ и РЛ получены сходные результаты. Так, ЗНО правого легкого определено у 64,4% больных, левого легкого – у 33,9% пациентов. Только у двух человек (1,7%) выявлен метахронный РЛ с поражением обоих легких. При этом наиболее часто выявлялось поражение верхней доли (57,6% больных), изолированное поражение нижней доли отмечено у 24,6% больных, средняя доля справа была поражена в 8,5% случаев, а комбинированные варианты с поражением двух или трех долей наблюдались у 9,3% пациентов.

Анализируя зарубежные и российские данные, adenокарцинома является наиболее распространенным типом немелкоклеточного РЛ и составляет около 40% случаев. Плоскоклеточный (эпидерmoidный) рак составляет 25–30% случаев злокачественных опухолей легкого и выявляется чаще у курильщиков [6, 7]. Этим может быть объяснен тот факт, что у обследованных нами пациентов с РЛ и ХОБЛ, подавляющее большинство из которых были злостными курильщиками, доминирующей гистологической формой являлся плоскоклеточный РЛ, идентифицированный в 54,4% случаев, также часто выявлялась adenокарцинома – у 35,5% больных. Значимо реже встречались крупноклеточный РЛ (1,7%), мелкоклеточный РЛ (5,9%) и карциноидные опухоли (2,5%).

Следует отметить, что пациенты с РЛ и ХОБЛ часто характеризуются неблагоприятным для проведения радикального лечения коморбидным фоном (из-за наличия у них сопутствующих ишемической болезни сердца, гипертонической болезни, атеросклероза артерий головного мозга и сосудов нижних конечностей, язвенной болезни желудка, остеопороза) [13, 14]. Наличие сопутствующей патологии, кроме РЛ и ХОБЛ, нередко с сочетанием нескольких заболеваний, отмечалось у большинства обследованных нами пациентов. Наиболее часто встречались артериальная гипертензия (66,9%), ишемическая болезнь сердца (48,3%), язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки (активное заболевание или в анамнезе у 28% пациентов). Ожирение различной степени тяжести было выявлено у 16,9% больных, сахарный диабет зафиксирован в 6,8% случаев. Сопутствующая хроническая патология легких кроме ХОБЛ, но включая бронхиальную астму, бронхэкститическую болезнь, отмечена у 7,6% пациентов. У части пациентов в анамнезе имели место перенесенный инфаркт миокарда (13,6%) и инсульт (10,2%).

По данным историй болезни, проанализированных нами, больные демонстрировали вариабельность нарушений вентиляции легких, обусловленных ХОБЛ. При этом доминировали легкие и среднетяжелые формы бронхиальной обструкции, что, вероятно, связано с преимущественным отбором для лечения в клинике пациентов без тяжелой декомпенсированной фоновой и сопутствующей патологии. Так, легкая степень обструктивных нарушений вентиляции (ОФВ1 от данного значения после пробы с сальбутамолом (пост-ОФВ1) более 80%) выявлена у 44% пациентов, обструкция средней степени тяжести (пост-ОФВ1 50–80%) – у 38,1% больных, тяжелое течение ХОБЛ (пост-ОФВ1 30–50%) – у 16,9% и только у одного пациента выявлена ХОБЛ крайне тяжелого течения (пост-ОФВ1 менее 30%). Исходный уровень сатурации кислорода периферической кровью в данной группе больных $96,86 \pm 1,25\%$.

Фенотипически (в том числе с учетом данных компьютерной томографии) в 55,9% случаев определялся эмфизематозный, у 13,6% пациентов – бронхитический и у 30,5% больных – смешанный фенотипы ХОБЛ. Отметим, что 72,9% пациентов на протяжении предшествующего года перенесли хотя бы один эпизод обострения ХОБЛ, а в 53,4% случаев – ≥ 1 эпизод пневмонии, включая параканкрозную форму (у 29,7% больных). Курсовая антибиотикотерапия (≥ 1 раз за 12 мес) по поводу респираторных событий требовалась 65,3% пациентов.

Отсутствие регулярной поддерживающей терапии при ХОБЛ все еще остается значимым вызовом на пути борьбы с прогрессированием данного заболевания и особенно характерно для пациентов с невыраженными симптомами [6, 11]. Так, по данным выполненного исследования, ингаляционную терапию по поводу ХОБЛ на регулярной или эпизодической основе получали лишь 29,7% пациентов, при этом длительно действующие бронхолитики – золотой стандарт современного лечения ХОБЛ (в комбинации с ингаляционными глюкокортикоидами или без них) – только 6,8% пациентов.

Лечебная тактика при немелкоклеточном РЛ неоднозначна и зависит от стадии заболевания, гистологического строения опухоли, ее дифференцировки, наличия региональных и удаленных метастазов, а также соматической патологии и функциональных резервов жизненно важных органов и систем [15]. Самым эффективным является хирургический метод, применяющийся при резектируемых формах РЛ. Типичной считается пневмонэктомия или лобэктомия, которая сопровождается удалением всех групп лимфатических узлов средостения на стороне

пораженного опухолью легкого. Комбинированные операции включают в себя, кроме удаления легкого, резекцию вовлеченного в опухолевый процесс соседнего органа (перикарда, грудной стенки, диафрагмы, блуждающего или диафрагмального нерва, реже верхней полой вены, предсердия, пищевода, легочной артерии). У пациентов с низкими показателями функции внешнего дыхания (ХОБЛ III–IV стадии), выраженной сердечной патологией допустимы меньшие объемы резекции легкого – атипичная резекция, сегментэктомия, но все это в последующем приводит к трехкратному увеличению региональных рецидивов опухоли легкого [16].

В настоящее время пациенты с немелкоклеточным РЛ 0–IIIА стадии считаются операбельными, но им дополнительно (с IB, а также II, IIIА стадии и N1, N2 статусе поражения лимфоузлов) назначается адьювантная химиотерапия (ХТ) с целью подавления жизнедеятельности опухолевой клетки и воздействия на субклинические микрометастазы в лимфоузлах и отдаленных органах. При IV стадии назначается паллиативная ХТ, иммунотерапия или их сочетание с лучевой терапией [15]. В НИИ онкологии Томского НИМЦ в торакальном отделении с 2010 г. разработан способ комбинированного лечения больных немелкоклеточным РЛ III стадии, включающий два курса неoadьювантной ХТ, радикальное хирургическое вмешательство и, в последующем, назначение послеоперационной персонализированной адьювантной ХТ по схеме, основанной на анализе определения уровня экспрессии генов монорезистентности. Было выявлено снижение количества местных рецидивов, отдаленного метастазирования, улучшение безрецидивной выживаемости на 29,1% по сравнению с группой контроля, что показывает эффективность данного лечения [17].

По данным проведенного анализа, хирургическому вмешательству подвергнуты 76 (64,4%) больных, из которых лобэктомия выполнена 42 (55,26%), билобэктомия – 9 (11,84%), пневмонэктомия – 21 (27,63%), атипичная резекция – 2 (2,63%) пациентам; одному пациенту проведена диагностическая торакотомия и еще одному – эндоскопическая трансбронхиальная резекция опухоли. Выполнение радикального хирургического вмешательства сопровождалось инсплатеральной медиастинальной лимфодиссекцией – в 72 (94,74%) случаях. Органосохраняющие реконструктивно-пластические операции выполнены 23 (30,26%) пациентам. Химиотерапевтическое лечение в соответствии с современными рекомендациями [15] получили 95 (80,5%) пациентов, дистанционную лучевую терапию – 28 человек (23,7%).

По данным литературы, в большинстве ведущих торакальных клиник, оперирующих по поводу рака легкого, частота послеоперационных осложнений остается на уровне 15–25% [13, 18]. Осложнения могут быть хирургическими (несостоятельность межбронхиального анастомоза, бронхиальный свищ, обтурационный ателектаз, эмпиема плевры, кровотечение) и нехирургическими (пневмония, острая сердечно-сосудистая недостаточность, нарушение ритма сердца, инфаркт миокарда, тромбоэмболия легочной артерии, ишемический инсульт). Пневмонии чаще наблюдаются после резекции легкого, чем после пневмонэктомии (в среднем у 11,7 и 3% больных соответственно), они возникают вследствие нарушения дренажной функции бронхов, формирования ателектаза в результате неполного расправления оставшейся доли или сегмента легкого, нарушения кровообращения, а также феномена хронического воспаления бронхов, особенно при ХОБЛ. Самым частым сердечно-сосудистым осложнением являются нарушения ритма сердца, а именно фибрилляция предсердий, желудочковая экстрасистолия [13, 18].

В нашем исследовании у 44 (57,9%) из 76 прооперированных пациентов развились хирургические осложнения или их комбинация в послеоперационном периоде. В частности, речь идет о пневмониях (17,1%), плеврите (17,1%), обтурационном ателектазе (3,9%), нарушениях ритма сердца (38,16%), острым инфаркте миокарда (2,63%), обострении ХОБЛ (34,21%), несостоятельности анастомоза (10,53%), образовании бронхоплеврального свища (9,2%), эмпиемы плевры (13,16%), легочном кровотечении (2,27%), которое развилось у одного пациента.

По статистическим данным, после установления первичного диагноза летальность в течение года достигает более 50%, а средняя пятилетняя выживаемость даже при адекватном лечении составляет в среднем около 10–16% [1]. В рамках проведенного нами исследования оценивалась летальность пациентов на протяжении одного года и трех лет наблюдения. На протяжении первого года наблюдения с момента начала лечения умерли 29 человек (24,58%) из 118. Трехлетняя летальность в группе из 96 пациентов составила 71,88% – умерли 69 больных. Еще для 22 пациентов из 118 наблюдавшихся на момент анализа данных длительность наблюдения составила менее 36 мес. По данным литературы (анализ 348 прооперированных пациентов), лучший прогноз выживаемости у больных РЛ демонстрируется при отсутствии метастазов региональных лимфоузлов, радикальном

объеме хирургического вмешательства и плоскоклеточном варианте рака легкого [18].

В данной работе по результатам анализа методом регрессии Кокса в качестве факторов, значимо снижающих выживаемость больных РЛ в сочетании с ХОБЛ, необходимо выделить более распространенные стадии по размеру первичной опухоли и ее локализации, инвазивный рост в соседние органы и ткани, выраженность регионального и отдаленного метастазирования (по классификации TNM), а также вентиляционные нарушения, проявляющиеся более выраженной одышкой (по шкале mMRC), исходно

сниженными значениями сатурации кислорода периферической крови, наличием легочных ателектазов, эпизодов пневмонии (в том числе параканкрозных) в предшествующие 12 мес. В качестве негативных факторов выживания следует также отметить наличие некоторых видов метастазирования, таких как метастатическое поражение плевры (плеврит), надпочечников, отдаленных нерегиональных лимфатических узлов. Отметим, что хирургическое лечение первичной опухоли было связано с увеличением выживаемости больных РЛ в сочетании с ХОБЛ (таблица).

Таблица

Факторы, ассоциированные с выживаемостью коморбидных больных РЛ и ХОБЛ						
Фактор	Beta*	OR	l_CI95	u_CI95	R ²	p
Распространение опухоли (TNM-T)	0,4047	1,4988	1,1445	1,9628	0,078	0,0033
Отдаленные метастазы (TNM-M)	0,866	2,3775	1,4185	3,9847	0,081	0,001
mMRC	0,596	1,8149	1,279	2,5753	0,09	0,0008
Выраженная инвазия в соседние органы и ткани по данным СКТ (T3–T4 по классификации TNM)	0,429	1,5363	1,1132	2,1202	0,058	0,0089
Сатурация кислорода периферической крови	-0,2867	0,7507	0,6417	0,8783	0,088	0,00034
Плевральные метастазы	1,4122	4,1049	2,1791	7,7324	0,13	0,00012
Метастазы в надпочечники	1,7178	5,5721	2,5707	12,0774	0,11	0,00013
Метастазы в нерегиональные лимфатические узлы	0,9620	2,6169	1,5176	4,5127	0,087	0,00054
Пневмонии в анамнезе 12 мес	0,8141	2,2571	1,3811	3,6888	0,094	0,0012
Ателектазы легких	0,8648	2,3744	1,4746	3,8233	0,11	0,00037
Параканкрозные пневмонии в анамнезе 12 мес	0,8396	2,3156	1,4211	3,7732	0,089	0,00075
Хирургическое лечение первичной опухоли	-1,3606	0,2565	0,1594	0,4127	0,25	<0,00001

Примечание. Beta – коэффициент, отражающий насколько сильно изменились единицы стандартного отклонения в зависимой переменной для изменения единицы стандартного отклонения в независимой переменной, представляющей интерес, со всеми другими контролируемыми переменными; OR – отношение шансов; l(u)_CI95 – нижний (верхний) доверительный интервал; R² – степень точности описания моделью процесса; p – коэффициент достоверности; СКТ – спиральная компьютерная томография.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сочетание ХОБЛ и РЛ по-прежнему представляет собой актуальную медицинскую проблему. С одной стороны, ХОБЛ может быть рассмотрена в качестве независимого фактора риска развития РЛ, а с другой – выраженные бронхиальная обструкция и эмфизема нередко становятся препятствием для радикального лечения в отношении РЛ.

Выполненное исследование установило преимущественную распространенность сочетанной патологии ХОБЛ и РЛ среди мужчин (примерно в 6,8 раз выше, чем среди женщин) с длительным стажем и высокой интенсивностью курения, что соотносится с преобладанием плоскоклеточной гистологической формы РЛ (54,4%) в анализируемой популяции.

Исследование подчеркнуло проблему поздней диагностики, в первую очередь, РЛ (на III–IV стадиях) распространенности процесса с выраженным инвазивным опухолевым ростом в соседние органы

и ткани, а также отсутствие адекватной поддерживающей терапии ХОБЛ у большинства пациентов, несмотря на наличие выраженных респираторных симптомов, значимые обструктивные нарушения вентиляции легких и эмфизему.

Среди факторов, ассоциированных с более низкой выживаемостью больных РЛ в сочетании с ХОБЛ, помимо распространенного опухолевого роста, инвазии в соседние органы и ткани, а также выраженности регионального и отдаленного метастазирования, выявлены следующие: выраженная вентиляционные нарушений и одышки (по шкале mMRC), исходно сниженные показатели сатурации кислорода периферической крови, наличие легочных ателектазов и эпизодов пневмонии (в том числе параканкрозных) в предшествующие 12 мес. Более высокая смертность была также ассоциирована с метастатическим поражением плевры, надпочечников и отдаленных нерегиональных лимфатических узлов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020:239.
2. Паршин В.Д., Григорьева С.П., Мирзоян О.С., Ибрагимова Д.Ф., Никода В.В., Вижигина М.А. и др. Хирургия злокачественных опухолей легкого у больных старше 70 лет. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2010;(10):11–16.
3. De-Torres J.P., Wilson D.O., Sanchez-Salcedo P., Weissfeld J.L., Berto J. et al. Lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Development and validation of the COPD Lung Cancer Screening Score. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2015;191(3):285–291. DOI: 10.1164/rccm.201407-1210OC.
4. Лещенко И.В., Баранова И.И. Хроническая обструктивная болезнь легких: проблемные вопросы клинической эпидемиологии, факторов риска и базисной терапии (обзор литературы). *Consilium Medicum*. 2016;18(11):8–18.
5. Tockman M.S., Anthonisen N.R., Wright N.C. et al. Airways obstruction and the risk of lung cancer. *Annals of Internal Medicine*. 1987;106(4):512–518. DOI: 10.7326/0003-4819-106-4-512.
6. Adcock I.M., Caramori G., Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: new molecular insights. *Respiration*. 2011;81(4):265–284. DOI: 10.1159/000324601.
7. Kondo R., Yoshida K., Eguchi T., Kobayashi N., Saito G., Hamanaka K. et al. Clinical features of lung cancer smokers with light and mild chronic obstructive pulmonary disease: a retrospective analysis of Japanese surgical cases. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2011;40(6):1439–1443. DOI: 10.1016/j.ejcts.2011.03.017.
8. Young R.P., Hopkins R.J., Christmas T., Black P.N., Metcalf P., Gamble G.D. COPD prevalence is increased in lung cancer, independent of age, sex and smoking history. *Eur. Respir. Journal*. 2009;34(2):380–386. DOI: 10.1183/09031936.00144208.
9. Murakami J., Ueda K., Sano F., Hayashi M., Nishimoto A., Hamano K. Pulmonary emphysema and tumor microenvironment in primary lung cancer. *Journal of Surgical Research*. 2016;200(2):690–697. DOI: 10.1016/j.jss.2015.09.004.
10. Чиссов В.И., Давыдов М.И. Онкология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008:1072.
11. McIntyre A., Ganti A.K. Lung cancer – a global perspective. *Journal of Surgical Oncology*. 2017;115(5):550–554. DOI: 10.1002/jso.24532.
12. Собин Л.Х., Господарович М.К., Виттекинд К.; пер. с англ. А.И. Щеголова, Е.А. Дубовой, К.А. Павлова. TNM. Классификация злокачественных опухолей. М.: Логосфера, 2011:304.
13. Трахтенберг А.Х., Колбанов К.И. Рак легкого; под ред. В.И. Чиссова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014:160.
14. ХОБЛ. Клинические рекомендации Минздрава РФ 2021. М., 2021:94.
15. Лактионов К.К., Артамонова Е.В., Борисова Т.Н., Брэддер В.В., Бычков Ю.М. и др. Злокачественное новообразование бронхов и легкого. *Современная онкология*. 2021;23(3):369–402. DOI: 10.26442/18151434.2021.3.201048.
16. Zhang L., Li M., Yin R., Zhang Q., Xu L. Comparison of the oncologic outcomes of anatomic segmentectomy and lobectomy for early-stage non-small cell lung cancer. *Ann. Thorac. Surg.* 2015;99(2):728–737. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2014.08080.
17. Родионов Е.О., Миллер С.В., Ефтеев Л.А., Тузиков С.А., Цыганов М.М., Дерюшева И.В. и др. Комбинированное лечение больных немелкоклеточным раком легкого с персонализированным назначением адьювантной химиотерапии. *Вестник Авиценны*. 2019;21(3):420–425. DOI: 10.25005/2074-0581-2019-21-3-420–425.
18. Трахтенберг А.Х., Колбанов К.И., Седых С.А. Особенности диагностики и лечения рака легкого. *Пульмонология*. 2008;4:5–17. DOI: 10.18093/0869-0189-2008-0-4-5-17.

Вклад авторов

Добнер С.Ю., Федосенко С.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проведение исследования, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста. Тузиков С.А. – анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение для публикации рукописи. Яровой Н.Д., Петров В. А. – анализ и интерпретация данных, редактирование. Родионов Е.О., Самыкина И.А. – анализ и интерпретация данных, редактирование, проверка критически важного интеллектуального содержания. Старовойтова Е.А. – анализ и интерпретация данных.

Информация об авторах

Добнер Светлана Юрьевна – врач-терапевт, врач функциональной диагностики, кардиолог, зав. общеклиническим отделением, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, dobnersv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0338-3786>

Федосенко Сергей Вячеславович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, s-fedosenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6655-3300>

Родионов Евгений Олегович – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение торакальной онкологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; ассистент, кафедра онкологии, СибГМУ, г. Томск, rodionoveo@oncology.tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4980-8986>

Яровой Николай Дмитриевич – врач-статистик, ТООД, г. Томск, koly-yarovoy@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3619-6095>

Петров Вячеслав Алексеевич – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, Центр биологических исследований и биоинженерии, СибГМУ, г. Томск, vyacheslav.a.petrov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5205-9739>

Тузиков Сергей Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. отделением торакальной онкологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра онкологии, СибГМУ, г. Томск, Tuzikovsa@oncology.tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0884-1838>

Старовойтова Елена Александровна – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, elena-starovoytova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4281-1157>

Самыкина Ирина Александровна – врач-терапевт, клинический фармаколог, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, irina.samykina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2681-7310>

(✉) **Добнер Светлана Юрьевна**, dobnersv@gmail.com

Поступила в редакцию 07.02.2022;
одобрена после рецензирования 05.03.2022;
принята к публикации 17.03.2022

УДК 616.348-006.6

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-50-58>

Варианты создания гетеротопических и ортотопических PDX-моделей колоректального рака человека

Киблицкая А.А., Максимов А.Ю., Гончарова А.С., Непомнящая Е.М., Златник Е.Ю., Егоров Г.Ю., Лукбанова Е.А., Заикина Е.В., Волкова А.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Создание гетеротопических и ортотопических моделей ксеногraftов колоректального рака (КРР), полученных от пациентов (Patient-derived xenograft, PDX-модель), путем трансплантации образцов опухоли пациента иммунодефицитным мышам линии Balb/c nude.

Материалы и методы. Проведено исследование на 15 самках мышей линии Balb/c nude, возраст 6–8 нед, масса тела 21–25 г. Всем животным проведена трансплантация опухолевого материала, взятого от пациентов с КРР, в следующие сайты: гетеротопические (под кожу бедра, в сальник); ортотопические (в нисходящий и восходящий отделы толстой кишки, в слепую кишку). В течение 80 сут у животных контролировали следующие параметры: массу тела, общее состояние, объем опухолевого узла. Успешность каждой из моделей оценивали по степени приживления, динамике опухолевого роста и воспроизводимости гистопатологических характеристик. По завершению эксперимента животным выполнена эвтаназия методом первикальной дислокации.

Результаты. На протяжении всего эксперимента наблюдалась 100%-я выживаемость животных и схожая динамика роста ксеногraftов. Анализ гистологических препаратов ксеногraftов и опухоли пациентов показал их соответствие умеренно дифференцированной аденокарциноме кишки. Описаны основные преимущества и недостатки создания различных вариантов PDX-моделей.

Заключение. Гетеротопические и ортотопические PDX-модели воспроизводят морфогистологические признаки человеческой опухоли и обладают устойчивой динамикой роста, следовательно, являются подходящим инструментом для разработки, тестирования и валидации потенциальных лекарственных препаратов против рака.

Ключевые слова: PDX-модель, ксенографт, колоректальный рак, аденокарцинома, ортотопическая трансплантация, гетеротопическая трансплантация, Balb/c nude

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. Пациенты подписали информированное согласие на передачу биологического материала. Исследование одобрено комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол № 6/84 от 30.06.2020).

Для цитирования: Киблицкая А.А., Максимов А.Ю., Гончарова А.С., Непомнящая Е.М., Златник Е.Ю., Егоров Г.Ю., Лукбанова Е.А., Заикина Е.В., Волкова А.В. Варианты создания гетеротопических и ортотопических PDX-моделей колоректального рака человека. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):50–58.
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-50-58>.

✉ Гончарова Анна Сергеевна, fateyeva_a_s@list.ru

Variants of creating heterotopic and orthotopic PDX models of human colorectal cancer

Kiblitskaya A.A., Maksimov A.Y., Goncharova A.S., Nepomnyashchaya Ye.M., Zlatnik Ye.Y., Yegorov G.Y., Lukbanova Ye.A., Zaikina Ye.V., Volkova A.V.

National Medical Research Center of Oncology
6, 14 Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To create heterotopic and orthotopic patient-derived xenograft (PDX) models of colorectal cancer (CRC) by transplantation of patient's tumor samples into immunodeficient BALB / c Nude mice.

Materials and methods. The study was performed on 15 female BALB / c Nude mice aged 6–8 weeks weighing 21–25 g. All animals underwent transplantation of the tumor material obtained from CRC patients into the following sites: heterotopic transplantation (under the skin of the thigh and into the omentum), orthotopic transplantation (into the descending and ascending colon and into the cecum). Weight and general condition of the animals and the size of the tumor nodule had been monitored for 80 days. The success of each model was assessed by the degree of engraftment, the dynamics of tumor growth, and the reproducibility of histopathologic characteristics. At the end of the experiment, the animals were euthanized by cervical dislocation.

Results. 100% survival of the animals and similar tumor growth dynamics in the xenograft models were observed throughout the experiment. The analysis of histologic specimens obtained from the xenografts and patient's tumor showed their correspondence to moderately differentiated intestinal adenocarcinoma. The main advantages and disadvantages of different variants of PDX models were described.

Conclusion. Heterotopic and orthotopic PDX models reproduce the morpho-histologic characteristics of human tumors and demonstrate stable growth dynamics. Therefore, they are a suitable tool for the development, testing, and validation of potential anticancer drugs.

Keywords: PDX model, xenograft, colorectal cancer, adenocarcinoma, orthotopic transplantation, heterotopic transplantation, BALB / c Nude

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.

Conformity with the principles of ethics. The patients signed an informed consent to transfer of the biological material. The study was approved by the Bioethics Committee at the National Medical Research Center of Oncology (Protocol No. 6/84 of 30.06.2020).

For citation: Kiblitskaya A.A., Maksimov A.Y., Goncharova A.S., Nepomnyashchaya Ye.M., Zlatnik Ye.Y., Yegorov G.Y., Lukbanova Ye.A., Zaikina Ye.V., Volkova A.V. Variants of creating heterotopic and orthotopic PDX models of human colorectal cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):50–58. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-50-58>.

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) занимает четвертое место по частоте диагностирования в мире и сопровождается высоким уровнем смертности на поздних стадиях [1, 2]. Установлено, что в 85% случаев опухоли толстой кишки возникают спорадически, а в 15% обусловлены наследственной предрасположенностью [3, 4].

Выбор правильной стратегии лечения рака толстой кишки во многом зависит от анатомического расположения опухоли [5]. Опухоли проксимально-

го отдела толстой кишки (правая сторона) и дистального отдела толстой кишки (левая сторона) обладают различными молекулярными и гистологическими характеристиками и, соответственно, имеют разные терапевтические ответы. Следовательно, разработка эффективной лекарственной терапии должна осуществляться с учетом всех различий между этими опухолями [6].

Гистологические и морфологические особенности опухолей, формирующихся в правой или левой части толстой кишки, объясняются их различным эмбриональным происхождением. Слепая кишка,

аппендицес, восходящая ободочная кишечка, печеночный изгиб и проксимальные две трети поперечной ободочной кишки развиваются из средней кишки, в то время как дистальная треть поперечной ободочной кишки, селезеночный изгиб, нисходящая ободочная кишечка, сигмовидная ободочная кишечка и прямая кишечка – из задней кишки. Правосторонние опухоли обычно представлены сидячими зубчатыми аденомами или муцинозными аденокарциномами и имеют морфологию полипа. Левосторонние опухоли представлены тубулярно-ворсинчатыми и типичными аденокарциномами [7].

Геномная неоднородность данных опухолей связана с тем, что правосторонний КРР характеризуется высокой микросателлитной нестабильностью (MSI-high), а левосторонний связан с высокой хромосомной нестабильностью (CIN-high) [8]. В отношении пациентов с левосторонним раком кишки более эффективной оказывается адьювантная химиотерапия (ХТ) (5-фторурацил (5-FU)) и таргетная анти-EGFR терапия (против рецептора эпидермального фактора роста), которые обеспечивают лучший исход. Пациенты с правосторонним КРР гораздо лучше реагируют на иммунотерапию вследствие присущей этим опухолям высокой антигенной нагрузке [9].

Исследование эффективности противоопухолевых препаратов целесообразно проводить на доклинических моделях, которые в полной мере отражают все клинически значимые характеристики исходной опухоли человека. Раковые клеточные линии и полученные из них ксенографты применяются для скринингового тестирования препаратов *in vitro* и *in vivo*. Однако выращивание неопластических клеток в искусственных условиях культивирования приводит к изменению генетических, транскриптомных и гистологических параметров опухолевого материала вследствие его адаптации к измененным условиям существования [10]. Недостатками раковых клеточных линий являются сниженная опухолевая гетерогенность, принадлежность линий в основном к высокоагgressивным злокачественным опухолям и низкая предиктивная значимость в клинике [10, 11].

Для более точного воспроизведения биологических характеристик донорской опухоли человека были созданы модели ксенографтов, полученные от пациентов (Patient-derived xenograft, PDX). Модели PDX создаются путем трансплантирования злокачественных опухолей пациентов иммунодефицитным мышам [12]. Благодаря тому, что фрагменты операционного материала пациента сохраняют межклеточные взаимодействия, данные модели содержат не только злокачественные клетки, но и факторы микроокружения опухолей [13–16]. Во многих иссле-

дований последних лет описано успешное создание PDX-моделей для различных видов рака, таких как колоректальный рак [17], рак молочной железы [18], рак почек [19], рак желудка [20], немелкоклеточный рак легких [21].

В PDX-моделях фрагменты опухоли трансплантируются в реципиентную мышь либо гетеротопически, либо ортотопически. Гетеротопические ксенографты создаются путем имплантации фрагмента опухоли в сайт, не связанный с исходным местом расположения опухоли, как правило, подкожно [14, 22]. При ортотопической трансплантировании опухолевая ткань пациента пересаживается в соответствующий анатомический орган. При подкожной трансплантировании PDX-моделей редко возникает метастазирование у мышей и не воспроизводится органоспецифическое микроокружение опухоли [14]. За счет того, что ортотопическое расположение ксенографта предполагает естественную среду, в которой развивалась опухоль у человека, оно считается наиболее приоритетным для тестирования высокоспецифичных таргетных препаратов [22]. При этом в зависимости от задач эксперимента различаются сайты ортотопической трансплантирования операционного материала. В последнее время при использовании данной модельной системы учитывается не только орган, специфичный для опухоли, но и, в случае КРР, также лево- и правосторонняя внутриорганная локализация.

Целью данного исследования явилось создание пяти вариантов PDX-моделей рака толстой кишки путем трансплантирования образцов опухоли пациента иммунодефицитным мышам линии Balb/c nude и анализ преимуществ и недостатков каждой из моделей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для трансплантирования опухолевого материала человека использованы 15 самок мышей линии Balb/c nude 6–8 нед и массой тела 21–25 г. Мышей содержали в SPF-виварии при температуре 22–24 °C и относительной влажности воздуха 60%, при световом режиме день–ночь, в искусственно вентилируемых клетках на стерильном корме, воде и подстиле. Все хирургические манипуляции в эксперименте выполнены с соблюдением «Правил проведения работ с использованием лабораторных животных». Наблюдение за мышами осуществляли в течение 80 сут, после чего животных подвергали эвтаназии.

Образцы опухолей были взяты от пациентов с КРР, обратившихся в НМИЦ онкологии в период с октября 2020 по январь 2021 г. От пациентов получено письменное информированное согласие на

передачу биологического материала. При ортоптической трансплантации в восходящий отдел толстой кишки и слепую кишку опухолевый материал донора соответствовал муцинозной adenокарциноме кишечника, в то время как для трансплантации в нисходящий отдел кишки фрагмент опухоли был взят от пациента с типичной adenокарциномой кишечника. При гетеротопической трансплантации также был использован материал, представленный типичной adenокарциномой кишечника.

Объем подкожных опухолевых узлов измерялся по формуле Шрека для эллипсоида:

$$V = a \times b \times c / 6,$$

где V – объем опухоли (мм^3), a , b , c – максимальные диаметры эллипсоида в трех плоскостях (мм).

В качестве средства премедикации мышам вводили препарат «Ксила» концентрацией 20 мг/мл, как основной анестезирующий препарат использовали золетил концентрацией 22,57 мг/мл. Сразу после иссечения опухолевую ткань человека помещали в 5%-й раствор гентамицина в среде Хенкса. Непосредственно перед трансплантацией ножницами вырезали кусочки объемом примерно $3 \times 3 \times 3$ мм, удалив все некротические ткани. Время от момента резекции опухолевого материала у пациента до трансплантации в толстую кишку мыши не превышало 40 мин. Непосредственно перед операцией кожу мыши в области рассечения обрабатывали 10%-м раствором повидон-йода. Ушивание кожи и брюшины выполняли с помощью лигатуры Prolene 4.0, фрагменты опухолей пациентов подшивали к стенке кишечника и сальнику, используя лигатуру Prolene 5.0.

Гетеротопическая трансплантация образцов опухоли под кожу бедра. Фрагменты опухоли подсаживали подкожно, дорсально, в заднюю поверхность бедра, так как это место облегчает мониторинг опухоли. Для этого при помощи ножниц делали разрез в области бедра. В созданный тупым методом препарирования карман закладывали фрагмент донорской опухоли. Завершали операцию наложением шва на кожу в месте разреза.

Гетеротопическая трансплантация образцов опухоли в сальник. Для обеспечения трансректального доступа к сальнику выполняли послойное рассечение кожи и брюшины вдоль прямой мышцы живота на расстоянии 2,5 см от мечевидного отростка. В операционную рану выводили участок толстой кишки, подвешенный на сальнике. К сальнику подшивали фрагмент опухоли. Возвращали кишку в брюшную полость и послойно ушивали брюшину и кожу скорняжным швом.

Ортоптическая трансплантация образцов опухоли в слепую кишку. Вдоль средней линии тела выполняли послойное рассечение кожи и брюшины. Разрез начинали на расстоянии 20 мм от конца мечевидного отростка и заканчивали в 5 мм от уретры. Слепую кишку визуализировали путем выведения в операционную рану. На концевой части слепой кишки, на расстоянии 5 мм от края, накладывали кисетный серозно-мышечный шов, не затягивая лигатуру. Затем рассекали серозно-мышечный слой слепой кишки и производили инвагинацию концевой части, создавая карман, в который затем вкладывали фрагмент опухоли человека. Последовательно затягивали лигатуру, помещали слепую кишку в брюшную полость и послойно ушивали брюшину и кожу мыши.

Ортоптическая трансплантация образцов опухоли в восходящий отдел толстой кишки. Аналогично способу, описанному в методе ортоптической трансплантации в слепую кишку, в операционную рану выводили слепую кишку и тянувшиеся за ней восходящий отдел ободочной кишки, затем продольно рассекали серозный и мышечный слои стенки кишечника. Далее подшивали фрагмент опухоли над выполненным ранее рассечением. Возвращали кишку в брюшную полость и послойно ушивали брюшину и кожу скорняжным швом.

Ортоптическая трансплантация образцов опухоли в нисходящий отдел толстой кишки. На расстоянии 7 мм от основания хвоста, отступая 3 мм вправо от позвоночника, выполняли ножницами разрез кожи и брюшины длиной 10 мм. Далее с помощью анатомических пинцетов визуализировали прямую кишку. На расстоянии 5 мм от зоны перехода нисходящего отдела толстой кишки в прямую кишку производили продольное рассечение стенки кишки. Ткань опухоли толстой кишки человека лигатурой подшивали к толстой кишке мыши. Ушивали послойно брюшину и кожу мыши.

После проведения операции в течение 80 сут у животных 1-го пассажа контролировали следующие параметры: массу тела, общее состояние, объем опухолевого узла. Для оценки приживления и роста ортоптических ксеногraftов и гетеротопических ксеногraftов в сальник животные подвергались контрольной лапаротомии через 40, 60 и 80 сут после трансплантации. Свидетельством успешной ксенотрансплантации служил рост опухоли до объемов 1–1,5 cm^3 . Измерение размеров опухолевых узлов проводили с помощью штангенциркуля.

После некропсии фрагменты опухолевого материала фиксировали в 10%-м формалине 24 ч и затем на этапе процессинга подвергали их обезвоживанию и пропитке парафином. Далее изготавливали парафино-

вые блоки и срезы препаратов, которые монтировали на стекла и окрашивали гематоксилином и эозином. С помощью светового микроскопа проводили гистологическое исследование донорской опухоли человека, гетеротопических и ортотопических ксеногraftов. Для получения изображений целых участков при увеличении 200 использовали сканер Aperio Scan Scope XT.

Статистический анализ данных выполнен с помощью программного пакета Statistica 10. Для исследования достоверности различия средних величин использовали *U*-критерий Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе эксперимента проведена трансплантация опухолевого материала в следующие сайты иммунодефицитной мыши: под кожу и в сальник (гетеротопически), в нисходящий, восходящий отделы толстой кишки, слепую кишку (ортотопически) (рис. 1). В зависимости от варианта сайта трансплантации мыши были разделены на пять групп (по три самки в каждой группе). В процессе всей длительности эксперимента наблюдалась 100%-я выживаемость животных, их состояние было удовлетворительным. Рост приживленных опухолей в различных моделях PDX наблюдался на протяжении всего эксперимента.

Из 15 процедур гетеротопической и ортотопической трансплантаций 12 привели к созданию моде-

лей PDX, т.е. общая частота приживления составила 80%. На рис. 2 отображена динамика роста объемов опухолевых узлов гетеротопических и ортотопических PDX-моделей колоректального рака человека. По результатам статистического анализа с использованием критерия Манна – Уитни объемы опухолевых узлов всех пяти экспериментальных групп животных на 40, 60 и 80-е сут после оперативного вмешательства статистически значимо отличались от начального объема трансплантируемого фрагмента опухоли донора. Таким образом, на протяжении всего эксперимента наблюдался статистически значимый рост гетеротопических и ортотопических ксеногraftов.

В процессе гистологического исследования было подтверждено, что различные модели PDX КРР имеют схожие признаки с первичными донорскими опухолями. Для каждого ксеногraftа и опухоли пациента в 3–5 различных образцах оценивали дифференцировку опухоли, наличие некроза и выраженность стромы. Микрофотографии гистологических препаратов разработанных PDX-моделей представлены на рис. 3.

При контрольной лапаротомии ортотопического ксеногraftа (трансплантация в восходящий отдел толстой кишки) на 80-е сут были обнаружены метастазы в печень (рис. 4).

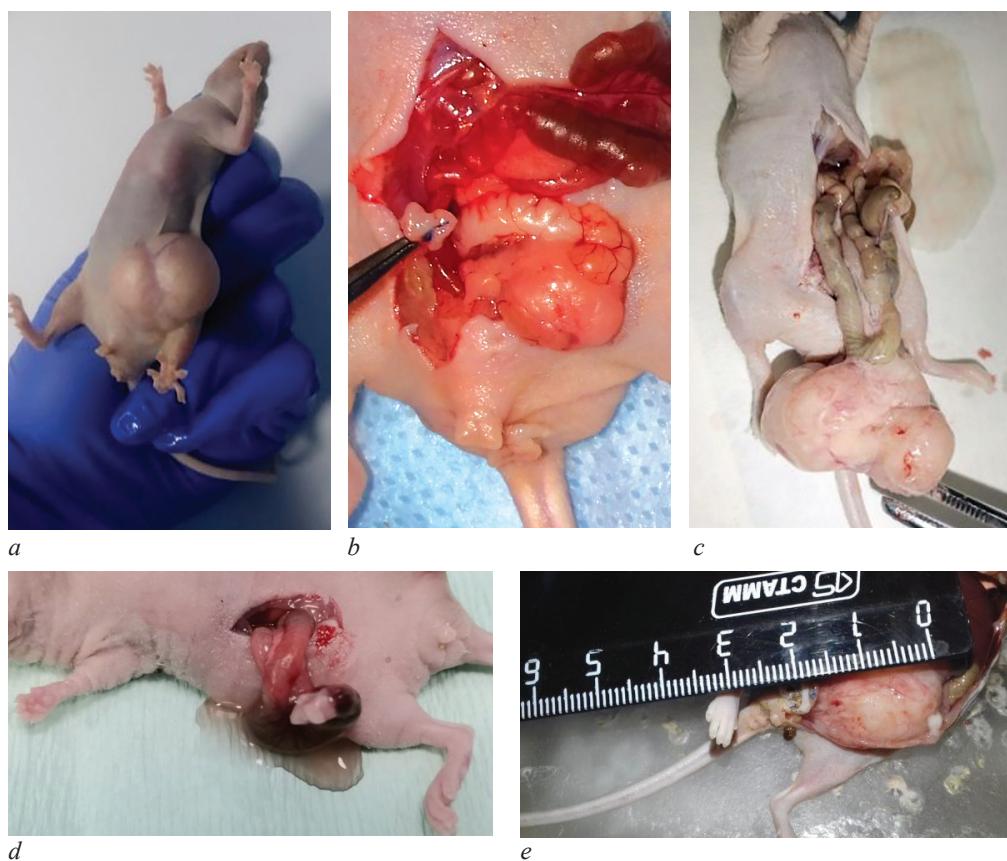


Рис. 1. Ксенотрансплантация опухолевого материала пациента иммунодефицитным мышам с использованием различных сайтов: гетеротопическая трансплантация (80-е сут после операции): *a* – под кожу бедра, *e* – в сальник; ортотопическая трансплантация (20-е сут после операции): *b* – в нисходящий отдел толстой кишки; *d* – в слепую кишку; *c* – ортотопическая трансплантация (80-е сут после операции) в восходящий отдел толстой кишки

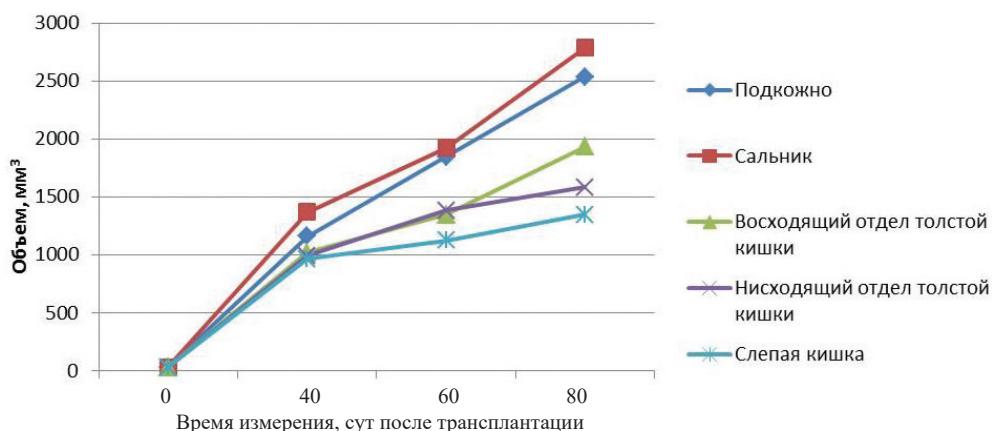


Рис. 2. Динамика роста объемов опухолевых узлов PDX-моделей колоректального рака человека, мм^3

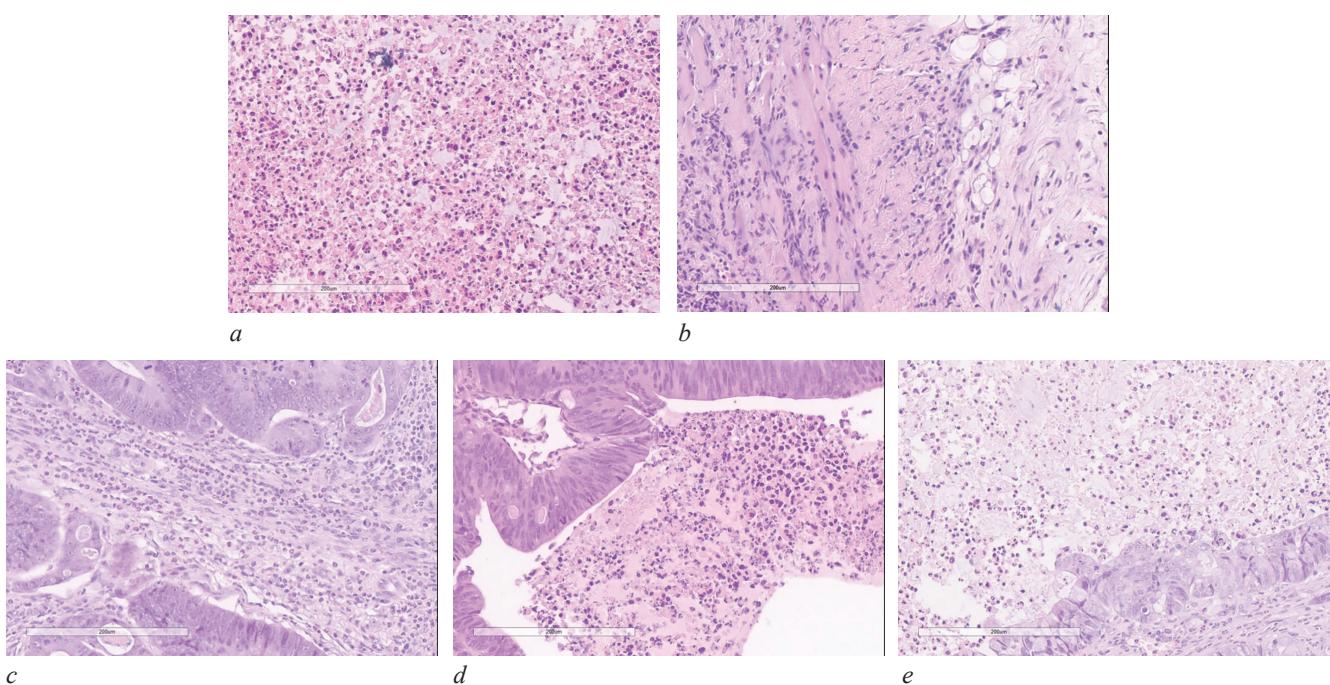


Рис. 3. Гистологические препараты опухолевого материала. Опухоль гетеротопического ксенографта: *a* – под кожу, *b* – в сальник, *c* – в нисходящий отдел толстой кишки, *d* – в восходящий отдел толстой кишки, *e* – в слепую кишку. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$



Рис. 4. Метастаз (показан стрелкой) в печень при контрольной лапаротомии ортотопического ксенографта на 80-е сут после трансплантации

Таблица

Преимущества и недостатки создания различных вариантов PDX-моделей колоректального рака			
Способ трансплантации PDX-модели	Характеристика сайта трансплантации	Преимущества модели	Недостатки модели
Гетеротипический	Создается путем трансплантации фрагмента опухоли толстой кишки человека под кожу бедра иммунодефицитной мыши	Легкость и скорость проведения хирургической операции. Легкость визуальной оценки динамики опухолевого роста. Большое разнообразие типов воспроизведимых человеческих опухолей. Малотравматичность для животного	Замещение тканеспецифичной стромы опухоли. Микроокружение не специфично для опухоли. Отсутствие метастазов
	Создается путем трансплантации фрагмента опухоли толстой кишки человека в сальник иммунодефицитной мыши	Богатое кровоснабжение, что обеспечивает хорошую трофику и приживление	Микроокружение не специфично для опухоли. Сложность проведения хирургической операции. Сложность оценки динамики роста опухоли
Ортотипический	Создается путем трансплантации фрагмента опухоли толстой кишки человека (мукинозной аденокарциномы) в восходящий отдел толстой кишки и слепую кишку иммунодефицитной мыши. Создается путем трансплантации фрагмента опухоли толстой кишки человека (типичной аденокарциномы) в нисходящий отдел толстой кишки иммунодефицитной мыши	Внутриорганская специфичность микроокружения. Пригодность для изучения метастазирования	Сложность проведения хирургической операции. Сложность оценки динамики роста опухоли

В таблице обобщены основные преимущества и недостатки, которые наблюдаются при создании и применении различных вариантов PDX-моделей в доклинических исследованиях.

Гетеротипический способ трансплантации является наименее времязатратным и трудоемким. Данный вид хирургического вмешательства является малотравматичным для экспериментального животного. В нашем эксперименте была продемонстрирована 100%-я приживляемость при этом варианте трансплантации. При подкожной трансплантации очень легко наблюдать за динамикой опухолевого роста путем измерения размеров опухоли штангенциркулем. Из недостатков самым значимым можно назвать не органоспецифичное микроокружение, которое создается вследствие трансплантации опухоли в нетипичное для опухоли пациента расположение.

Ортотипическая трансплантация в стенку кишки требует значительных технических навыков и достаточно сильно травмирует животное, ввиду этого данная модель обладает ограниченной емкостью и воспроизводимостью. Следует также отметить, что при создании ксенографта нисходящего отдела кишки на 40–80-е сут эксперимента все еще было невозможно пальпировать опухоль и визуально оценить результат. Вследствие расположения нисходящего отдела

кишки вблизи пояснично-крестцовой области спины при контрольной лапаротомии данной модели был затруднен доступ к ксенографту.

Основным преимуществом ортотопического способа трансплантации фрагментов опухоли человека при КРР является специфический сайт имплантации внутри органа, который способен воспроизводить особенности микроокружения, тем самым сохраняя основные молекулярно-генетические сигнальные пути.

Применение ортотипических и внутрибрюшинных ксенографтов в исследованиях эффективности лекарственных препаратов также требует определенной технической базы, так как для оценки динамики опухолевого процесса необходимо применять такие методы визуализации, как магнитно-резонансную томографию и компьютерную томографию.

Ортотипические PDX-модели, несмотря на требование высокого уровня технических средств, также могут быть использованы как модели спонтанного метастазирования для оценки метастатического потенциала опухоли и эффективности антиметастатических веществ, что является важным аспектом в фундаментальных исследованиях биологии онкогенеза. При ортотипической имплантации в кишку иммунодефицитной мыши необходимо учитывать,

что агрессивный рост прививаемой опухоли может привести к непроходимости кишечника и гибели животного и, следовательно, к вынужденному прекращению эксперимента.

В результате проведенного эксперимента можно заключить, что выбор того или иного способа трансплантации при создании PDX-моделей зависит от многих факторов: задач и целей эксперимента, качества и биологических характеристик донорского опухолевого материала и модельного организма, инструментального оснащения лаборатории, степени подготовки научного персонала, материального финансирования, отводимых временных рамок и т.д.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выполненное исследование позволяет прийти к выводу, что вне зависимости от сайта имплантации опухолевого материала донора иммунодефицитной мыши, полученные ксенографы показывают высокую частоту приживления и в значительной степени воспроизводят морфогистологические характеристики человеческой опухоли. Благодаря этому PDX-модели могут быть использованы в поиске биомаркеров и оценке эффективности новых противоопухолевых лекарств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Федоров В.Э., Поделякин К.А. Эпидемиологические аспекты колоректального рака (обзор). *Медицинский альманах*. 2017;4(49):145–148.
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018;68(6):394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- Stastna M., Janeckova L., Hrckulak D., Kriz V., Korinek V. Human colorectal cancer from the perspective of mouse models. *Genes*. 2019;10(788):33. DOI: 10.3390/genes10100788.
- Геворкян Ю.А., Колесников В.Е., Солдаткина Н.В., Харагезов Д.А., Дашков А.В., Каймакчи Д.О. и др. Малоинвазивные хирургические вмешательства в лечении больных метастатическим колоректальным раком. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020;1(2):22–27. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-2-3.
- Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В., Колесников В.Е., Харагезов Д.А. Лапароскопические комбинированные оперативные вмешательства при метастатическом колоректальном раке. *Колопроктология*. 2015;4(54):19–23.
- Имятинов Е.Н. Клинико-молекулярные аспекты колоректального рака: этиопатогенез, профилактика, индивидуализация лечения. *Практическая онкология*. 2005;6(22):65–70.
- Baran B., Ozupek N.M., Tetika N.Y., Acarb E., Bekcioglu O., Baskina Y. Difference between left-sided and right-sided colorectal cancer: a focused review of literature. *Gastroenterology Res.* 2018;11(4):264–273. DOI: 10.14740/gr1062w.
- Luisetto M., Ahmadabadi B.N., Nili-Ahmabadi H., Rafa A.Y., Hamid G.A., Mashori G.R. et al. Comparison of risk factors and molecular analysis of right-sided colon and left sided colon cancer. *Adv. Can. Res. & Clinical Imag.* 2019;2(2):27. DOI: 10.33552/ACRCI.2019.02.000533.
- Kwak H.D., Ju J.K. Immunological differences between right-sided and left-sided colorectal cancers: a comparison of embryologic midgut and hindgut. *Ann. Coloproctol.* 2019;35(6):342–346. DOI: 10.3393/ac.2019.03.17.1.
- Wilding J.L., Bodmer W.F. Cancer cell lines for drug discovery and development. *Cancer Res.* 2014;74(9):2377–2384. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2971.
- Srivastava P., Kumar M., Nayak P.K. Role of patient derived cell lines and xenograft in cancer research. *The Pharmstudent*. 2016;27:40–48.
- Cho S.-Y. Patient-derived xenografts as compatible models for precision oncology. *Laboratory Animal Research*. 2020;36:14. DOI: 10.1186/s42826-020-00045-1.
- Williams S.A., Anderson W.C., Santaguida M.T., Dylla S.J. Patient-derived xenografts, the cancer stem cell paradigm, and cancer pathobiology in the 21st century. *Laboratory Investigation*. 2013;93(9):970–982. DOI: 10.1038/labinvest.2013.92.
- Hidalgo M., Amant F., Biankin A.V., Budinská E., Byrne A.T., Caldas C. et al. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discov.* 2014;4(9):998–1013. DOI: 10.1158/2159-8290.
- DeRose Yo.S., Wang G., Lin Y.-C., Bernard P.S., Buys S.S., Ebbert M.T.W. et al. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes. *Nature Medicine*. 2011;17(11):1514–1520. DOI: 10.1038/nm.2454.
- Inoue A., Deem A.K., Kopetz S., Heffernan T.P., Draetta G.F., Carugo A. Current and Future Horizons of Patient-Derived Xenograft Models in Colorectal Cancer Translational Research. *Cancers*. 2019;11(9):1321. DOI: 10.3390/cancers11091321.
- Linnebacher M., Maletzki C., Ostwald C., Klier U., Krohn M., Klar E., Prall F. Cryopreservation of human colorectal carcinomas prior to xenografting. *BMC Cancer*. 2010;10:362. DOI: 10.1186/1471-2407-10-362.
- Marangoni E., Vincent-Salomon A., Auger N., Degeorges A., Assayag F., de Cremoux P. et al. A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for preclinical assays. *Clinical Cancer Research*. 2007;13(13):3989–3998. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0078.
- Sivanand S., Peña-Llopis S., Zhao H., Kucejova B., Spence P., Pavia-Jimenez A. et al. A validated tumorgraft model reveals activity of dovitinib against renal cell carcinoma. *Science Translational Medicine*. 2012;4(137):137ra75. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003643.
- Zhu Y., Tian T., Li Z., Tang Z., Wang L., Wu J. et al. Establishment and characterization of patient-derived tumor xenograft using gastroscopic biopsies in gastric cancer. *Scientific Reports*. 2015;5:8542. DOI: 10.1038/srep08542.
- Xu Y., Zhang F., Pan X., Wang G., Zhu L., Zhang J. et al. Xenograft tumors derived from malignant pleural effusion of

the patients with non-small-cell lung cancer as models to explore drug resistance. *Cancer Commun.* 2018;38(1):19. DOI: 10.1186/s40880-018-0284-1.

22. Jung J., Sook H., Chang S.S. The generation and application of patient-derived xenograft model for cancer research. *Cancer Res. Treat.* 2018;50(1):1–10. DOI: 10.4143/crt.2017.307.

Вклад авторов

Киблицкая А.А., Егоров Г.Ю., Заикина Е.В., Лукбанова Е.А., Волкова А.В. – анализ и интерпретация данных. Максимов А.Ю. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи. Гончарова А.С. – разработка концепции и дизайна. Непомнящая Е.М., Златник Е.Ю. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Киблицкая Александра Андреевна – науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, kibaleand@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9337-5535>

Максимов Алексей Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, зам. генерального директора по перспективным научным разработкам, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, gpioi@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>

Гончарова Анна Сергеевна – канд. биол. наук, зав. испытательным лабораторным центром, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, fateyeva_a_s@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>

Непомнящая Евгения Марковна – д-р мед. наук, профессор, врач-патологонатом, патологонатомическое отделение, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, gpioi@list.ru

Златник Елена Юрьевна – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, elena-zlatnik@mail.ru

Егоров Георгий Юрьевич – аспирант, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, egorovgu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1413-6506>

Лукбанова Екатерина Алексеевна – науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, katya.samarskaja@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>

Заикина Екатерина Владиславовна – мл. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, katherine_bio@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>

Волкова Анастасия Владимировна – мл. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, volkovaav58@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>

(✉) **Гончарова Анна Сергеевна**, fateyeva_a_s@list.ru

Поступила в редакцию 15.04.2021;
одобрена после рецензирования 09.08.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.72-002.77:616.15-018.5-07
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-59-66>

Кальпротектин в плазме крови как новый биомаркер в оценке активности ревматоидного артрита

Королькова А.А.¹, Хижка В.В.², Козлова Д.И.², Маслянский А.Л.¹, Вавилова Т.В.¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. В.А. Алмазова
Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

² Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН)
Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Тореза, 44

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить возможность применения и информативность кальпротектина плазмы крови в качестве нового биомаркера для оценки активности ревматоидного артрита (РА).

Материалы и методы. В исследование включены 113 человек, 79 пациентов с диагнозом РА (основная группа); средний возраст 58 (\pm 11,66) лет, медиана длительности заболевания 10 [6; 15] лет. Группу контроля составили 34 здоровых добровольца; средний возраст 40 (\pm 11,14) лет. У пациентов с РА активность заболевания определялась по индексу DAS28 (Disease Activity Score), а также по клиническому индексу CDAI (Clinical Disease Activity Index). Концентрация кальпротектина в плазме крови определялась методом твердофазного иммуноферментного анализа. Полученные данные сопоставлялись с лабораторными и клиническими параметрами, а также композитными индексами (DAS28, CDAI) активности РА. Для математической обработки данных использовались ранговая корреляция по Спирмену, дискриминантный и ROC-анализы.

Результаты. В группе больных РА содержание кальпротектина в крови было более высоким по сравнению с контрольной группой. Выявлена значимая связь уровня кальпротектина крови со всеми параметрами активности РА. При проведении ROC-анализа диагностическая точность, чувствительность и специфичность уровня кальпротектина в плазме крови были выше для оценки суставного синдрома, а также композитных индексов CDAI и DAS28 в сравнении с содержанием скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и С-реактивного белка (СРБ). По данным дискриминантного анализа, наиболее информативным оказалось сочетание уровней СОЭ и кальпротектина, для которых вероятность правильной классификации активности РА, согласно индексу DAS28, составила 71%. Для индекса CDAI статистически значимую классификацию давал только кальпротектин с вероятностью 70,5%.

Заключение. Кальпротектин плазмы крови – перспективный лабораторный биомаркер в оценке активности синовита при РА, демонстрирующий более высокую информативность, чем традиционные острофазовые показатели.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, активность, кальпротектин

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

Источник финансирования. Часть лабораторных исследований выполнена за счет гранта РФФИ (проект № 18-515-57001). Авторы не получали гонорар за статью.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено независимым этическим комитетом НМИЦ им. В.А. Алмазова (протокол № 06-19 от 13.05.2019).

✉ Королькова Анастасия Александровна, ana9099588@yandex.ru

Для цитирования: Королькова А.А., Хижя В.В., Козлова Д.И., Маслянский А.Л., Вавилова Т.В. Кальпротектин в плазме крови как новый биомаркер в оценке активности ревматоидного артрита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):59–66. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-59-66>.

Calprotectin in the blood plasma as a new biomarker for assessing the activity of rheumatoid arthritis

Korolkova A.A.¹, Khizha V.V.², Kozlova D.I.², Maslyanskiy A.L.¹, Vavilova T.V.¹

¹ Almazov National Medical Research Center

², Akkuratova Str., St. Petersburg, 197341, Russian Federation

² I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences
44, Toreza Str., St. Petersburg, 197341, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the potential use and information value of calprotectin in the blood plasma as a new biomarker for determining the activity of rheumatoid arthritis (RA).

Materials and methods. The study included 113 people. The treatment group consisted of 79 patients diagnosed with RA; the average age was 58 (\pm 11.66) years, the median duration of the disease was 10 [6; 15] years. The control group encompassed 34 healthy volunteers; the average age was 40 (\pm 11.14) years. RA activity was determined according to the Disease Activity Score (DAS) 28 and the Clinical Disease Activity Index (CDAI). The concentration of calprotectin in the blood plasma was determined by the solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. The obtained results were compared with laboratory and clinical parameters, as well as with composite indices (DAS28, CDAI) of RA activity. For mathematical data processing, Spearman's rank correlation coefficient, linear discriminant analysis, and ROC analysis were used.

Results. In the group of patients with RA, the level of calprotectin in the blood was higher than in the control group. A statistically significant relationship was revealed between the level of calprotectin in the blood and all standard parameters of RA activity. The ROC analysis showed that the sensitivity, specificity, and diagnostic accuracy in assessing articular syndrome, as well as moderate and high RA activity according to the composite indices DAS28 and CDAI were higher for calprotectin than for erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP). The linear discriminant analysis showed that a combination of ESR and calprotectin levels was the most informative; following it, the probability of correct classification of RA activity, according to the DAS28 index, was 71%. For the CDAI index, only one marker, calprotectin, resulted in a statistically significant classification with a probability of 70.5 %.

Conclusion. Calprotectin in the blood plasma is a promising laboratory biomarker for assessing synovitis activity in RA demonstrating higher accuracy, sensitivity, and specificity than traditional acute-phase reactants.

Keywords: rheumatoid arthritis, activity, calprotectin

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 grant of the Russian Foundation for Basic Research (Project No. 18-515-57001).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Almazov National Medical Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 06-19 of 13.05.2019).

For citation: Korolkova A.A., Khizha V.V., Kozlova D., Maslyanskiy A.L., Vavilova T.V. Calprotectin in blood plasma as a new biomarker in assessing the activity of rheumatoid arthritis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):59–66. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-59-66>.

ВВЕДЕНИЕ

Ревматоидный артрит (РА) является наиболее распространенным аутоиммунным системным заболеванием человека, при котором основной мишенью воспалительного процесса являются периферические суставы с развитием в них эрозивно-деструктивных изменений. В настоящее время определение активности РА остается важной клинической задачей и представляет собой трудоемкий и длительный процесс [1]. Для определения активности РА используется оценка ряда клинических и лабораторных параметров, включающих в себя число болезненных (ЧБС) и припухших суставов (ЧПС), острофазовые показатели, такие как скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и С-реактивный белок (СРБ), а также субъективные оценки пациента (общая оценка заболевания пациентом (ООЗП), визуальная аналоговая шкала (ВАШ) боли) и врача (общая оценка заболевания врачом (ООЗВ)) [2, 3].

Поскольку по отдельности эти параметры в полной мере не отражают активность РА, в настоящее время широко применяются композитные индексы оценки активности заболевания, такие как DAS28 (Disease Activity Score) и CDAI (Clinical Disease Activity Index). Однако проведенные исследования показывают, что использование индексов не всегда позволяет достоверно определить активность болезни. У части пациентов с РА, которые находятся в ремиссии, согласно исследуемым композитным индексам, тем не менее, отмечается рентгенологическое прогрессирование заболевания [4, 5]. Информативность традиционных острофазовых маркеров активности заболевания недостаточна, а все комбинированные индексы трудоемки и имеют определенную долю субъективизма, что делает актуальным поиск и внедрение в клиническую практику новых биомаркеров, точно отражающих иммуновоспалительный процесс в суставах.

Кальпротектин – это гетеродимерный белковый комплекс, состоящий из двух субъединиц (S100A8/S100A9), связанных с кальцием/цинком 36 кДа. В настоящее время этот маркер используется в гастроэнтерологии для оценки воспалительной инфильтрации в кишечнике при воспалительных заболеваниях [6]. Известно, что данный биомаркер является алармином, обладающим провоспалительными свойствами [7]. Данные проводимых ранее исследований относительно нового биомаркера предполагают, что он может быть достаточно эффективен в оценке активности РА [8–15].

Цель настоящего исследования – изучение возможности применения и информативности

кальпротектина плазмы крови в качестве нового биомаркера в оценке активности ревматоидного артрита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами были обследованы 113 человек, 79 пациентов с диагнозом РА (основная группа) и 34 здоровых добровольца (группа контроля). Критерием включения в исследование было соответствие критериям Американской коллегии ревматологов/Европейской антиревматической лиги (ACR/EULAR) 2010 г. для пациентов с РА любой степени активности заболевания вне зависимости от выбранного режима терапии [16]. Критериями исключения во всех группах являлись: отказ пациента от участия в исследовании; наличие активной инфекции; наличие онкологических заболеваний в период включения в исследование; наличие других аутоиммунных заболеваний, кроме вторичного синдрома Шегрена; наличие хронических неинфекционных заболеваний в стадии декомпенсации; беременность и период лактации.

При поступлении всем пациентам была проведена оценка суставного синдрома: подсчет ЧБС и ЧПС, оценка активности своего заболевания пациентом и врачом (ВАШ, ООЗП, ООЗВ). Оценка активности РА рассчитывалась по композитным индексам DAS28-СОЭ и CDAI. Лабораторная оценка включала в себя исследование показателей острофазовых показателей СОЭ и СРБ, а также ревматоидного фактора (РФ) и антител к циклическому цитрулинированному пептиду (АЦЦП). Содержание кальпротектина в плазме крови определялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Набор реагентов для проведения анализа был разработан сотрудниками ИЭФБ РАН. В состав набора входили антитела к исследуемому белку, наработанные в организме крыс и коньюгированные с биотином. Исследование ELISA проводилось в соответствии со стандартными протоколами на мультиmodalном ридере CLARIOstar Plus (BMG LABTECH, Германия).

Патология органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) выявляется у 13–62% больных, страдающих РА, и занимает важное место среди внесуставных проявлений этого заболевания. Сочетанное поражение ЖКТ у больных РА может существенно влиять на концентрации не только фекального, но и кальпротектина плазмы крови. Ввиду чего у всех пациентов, принимающих участие в данном исследовании, проводился подробный сбор жалоб и анамнеза со стороны патологии органов ЖКТ, оценивалось наличие симптомов кишечных и внекишечных проявлений возможных воспалительных заболеваний

кишечника. Всем пациентам с РА, принимающим участие в данном исследовании за период госпитализации, проводилась фиброгастродуоденоскопия (ФГДС) в рамках стационарного обследования. Проведение фиброколоноскопии (ФКС) не являлось обязательным условием для участия пациентов в данном исследовании при отсутствии показаний к проведению процедуры.

Полученные результаты анализировались с помощью программного обеспечения Prism 8.0 и Statistica 12.0. Проводилась оценка распределения на нормальность. При отсутствии нормального распределения применялся *U*-критерий Манна – Уитни, ранговая корреляция по Спирмену. Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$. Проводился ROC-анализ: рассчитывались площадь под кривой, чувствительность, специфичность и диагностическая точность маркера. Для определения различий между новым биомаркером и острофазовыми показателями применялся дискриминантный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст у пациентов с РА составил $58 \pm 11,66$ лет, 11 мужчин и 68 женщин; группа контроля включала 15 мужчин и 19 женщин в возрасте $40 \pm 11,14$ лет. Демографические характеристики групп статистически не различались. В группе пациентов с РА медиана длительности заболевания составила 10 [6; 15] лет. Из них 68 человек (86%) имели положительные АЦЦП, а 66 пациентов (83,5%) – положительный РФ. Также пациенты основной группы были распределены по степени активности РА согласно исследуемым индексам (DAS28, CDAI). Клиническая характеристика пациентов с РА и лабораторные данные обследованных групп представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Клинико-лабораторные и демографические данные пациентов основной группы	
Показатель	Значение
Возраст, годы, $M \pm SD$	58 ($\pm 11,66$)
Длительность заболевания, годы, $Me [Q_1; Q_3]$	10 [6; 15]
Соотношение мужчины/женщины, n	11/68
ЧБС, $Me [Q_1; Q_3]$	10 [6; 18]
ЧПС, $Me [Q_1; Q_3]$	4 [2; 6]
ВАШ, баллы, $Me [Q_1; Q_3]$	5 [4; 6,5]
Индекс DAS28, баллы, $Me [Q_1; Q_3]$	5,1 [4,38; 6,11]
<i>Активность по DAS28 COЭ, n (%):</i>	
ремиссия	5 (6,3)
низкая	4 (5)
умеренная	29 (36,8)
высокая	41 (51,9)
Активность по CDAI, $Me [Q_1; Q_3]$:	23,5 [16; 30]
ремиссия	4 (5,06)

Окончание табл. 1

Показатель	Значение
низкая	4 (5,06)
умеренная	30 (37,97)
высокая	41 (51,89)
<i>Рентгенологическая стадия заболевания по Steinbrocker, n:</i>	
I	2
II	33
III	25
IV	19

Таблица 2

Сравнение уровня острофазовых показателей у пациентов исследуемых групп, $Me [Q_1; Q_3]$			
Показатель	Группа контроля	Пациенты с РА	p
СОЭ, мм/ч	9 [5,5; 12,5]	29 [18; 51]	<0,05
СРБ, мг/л	2 [1,2; 2,1]	7,9 [2,5; 17,5]	<0,005

У больных РА содержание кальпротектина было значимо повышенено по сравнению с группой контроля (рис. 1). Различия концентраций биомаркера в обоих группах были высоко статистически значимы по данным теста Манна – Уитни ($p < 0,0001$). Представляет интерес, что в диапазон значений уровня кальпротектина в основной группе показатели не укладываются у четырех пациентов. При детальном анализе этих выбросов выявлено, что данные пациенты имели ремиссию РА. Это характеризовалось более низким содержанием кальпротектина в плазме крови.

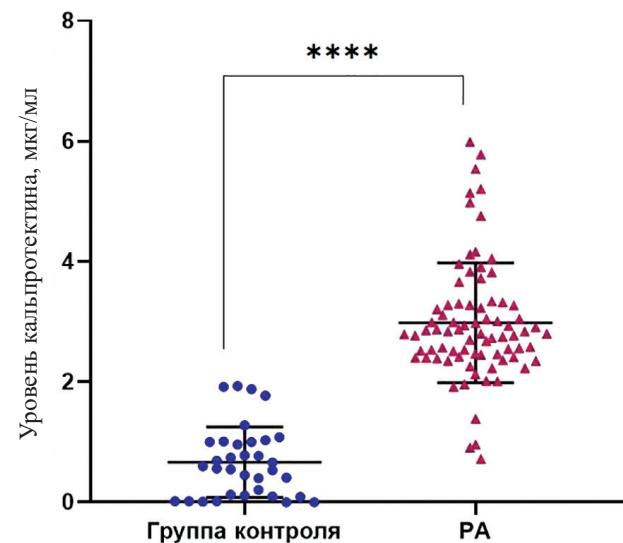


Рис. 1. Сравнение концентрации кальпротектина в крови между пациентами с ревматоидным артритом и контрольной группой. Данные представлены в виде $Me [Q_1; Q_3]$, $p < 0,0001$ (****)

При проведении ранговой корреляции по Спирмену выявлено, что содержание кальпротектина в плазме крови статистически значимо коррелировало со всеми доменами активности РА. Однако сильнее

зависимость нового биомаркера была с суставным элементом, а также композитными индексами по сравнению с традиционными острофазовыми маркёрами.

для которых корреляция с указанными параметрами была слабее либо менее значимой. Коэффициенты ранговой корреляции представлены в табл. 3.

Таблица 3

Коэффициенты ранговой корреляции по Спирмену для кальпротектина и острофазовых показателей с клиническими данными, ВАШ, а также индексом DAS28 и CDAI								
Показатель	Кальпротектин	СОЭ	СРБ	ЧБС	ЧПС	ВАШ	CDAI	DAS28
Кальпротектин	—	0,316*	0,198	0,441*	0,227*	0,310*	0,419*	0,494*
СОЭ	0,316*	—	0,651*	0,143	0,124	0,282*	0,236*	0,597*
СРБ	0,198	0,651*	—	0,078	0,113	0,191	0,158	0,443*
ЧБС	0,441*	0,143	0,072	—	0,559*	0,414*	0,838*	0,702*
ЧПС	0,227*	0,125	0,113	0,559*	—	0,324*	0,715*	0,639*
ВАШ	0,310*	0,282*	0,191	0,414*	0,324*	—	0,582*	0,597*
CDAI	0,419*	0,236*	0,158	0,838*	0,715*	0,582*	—	0,875*
DAS28	0,494*	0,597*	0,443*	0,702*	0,637*	0,597*	0,875*	—

* значения с $p < 0,05$.

Так как индекс DAS28 состоит из трех основных доменов, включая один из острофазовых маркеров (СОЭ/СРБ), при проведении последующих статистических тестов мы использовали индекс активности CDAI, который включает только два домена, исключая лабораторные показатели, которые могли бы повлиять на результаты тестов. Для выполнения ROC-анализа пациенты с РА были разделены на две группы в зависимости от суставного синдрома. Первую группу составили пациенты, которые имели ЧБС ≤ 8 , ЧПС ≤ 1 . Во вторую группу вошли пациенты, которые имели ЧБС > 8 , ЧПС > 1 . Графики ROC-кривых приведены на рис. 2, 3. По результатам теста в оценке числа болезненных суставов наибольшей чувствительностью и специфичностью, а также диагностической точностью обладал кальпротектин, при этом СОЭ и СРБ характеризовались худшими параметрами (рис. 2, a). Уровень кальпротектина с более высокой диагностической точностью, чувствительностью и специфичностью отражал взаимосвязь с ЧПС в сравнении с СОЭ и СРБ (рис. 2, b). Информационные характеристики теста приведены в табл. 4.

Таблица 4

Показатели ROC-анализа для кальпротектина в сравнении с острофазовыми показателями в оценке суставного синдрома						
Показатель	Кальпротектин		СОЭ		СРБ	
	ЧБС	ЧПС	ЧБС	ЧПС	ЧБС	ЧПС
Пороговое значение	2,78	2,55	19,5	21	9,8	6
Чувствительность	71,11	72,13	75,56	67,21	48,89	59,02
Специфичность	70,59	61,11	41,18	50,00	70,59	61,11
Диагностическая точность	70,85	66,62	58,37	58,6	59,74	60,06
Площадь под ROC-кривой	0,73	0,63	0,57	0,51	0,52	0,51
LB	0,61	0,47	0,44	0,34	0,39	0,35
UB	0,84	0,79	0,70	0,68	0,65	0,68
p	0,0005	0,0868	0,2894	0,9162	0,8083	0,8562

Примечание. ЧБС – число болезненных суставов; ЧПС – число припухших суставов. LB – нижняя и UB – верхняя границы 95%-го доверительного интервала

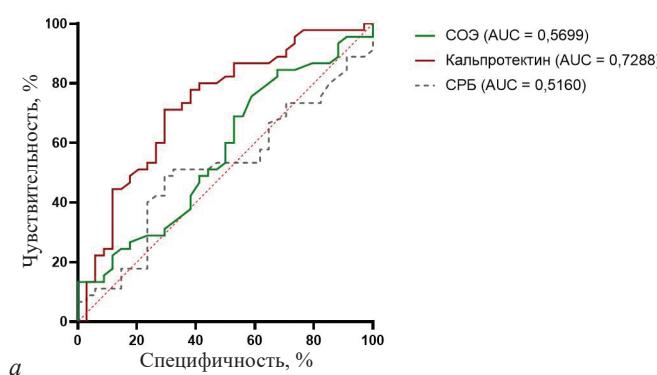
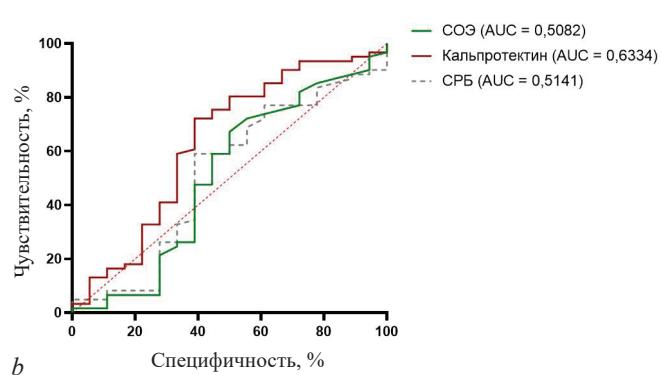


Рис. 2. ROC-кривые взаимосвязи лабораторных маркеров активности ревматоидного артрита: a – с числом болезненных суставов; b – с числом припухших суставов



При определении взаимосвязи между исследуемыми маркерами и ВАШ, различий между показателями для кальпротектина ($AUC = 0,63, p = 0,16$), СОЭ ($AUC = 0,64, p = 0,14$) и СРБ ($AUC = 0,56, p = 0,57$) не было, но полученные значения оказались статистически незначимыми ($p > 0,05$).

Проведен ROC-анализ для оценки взаимосвязи всех маркеров со степенью активности РА, определенной по клиническому индексу CDAI. Учитывая преобладание пациентов с умеренной и высокой степенями активности РА, мы объединили ремиссию, низкую активность и умеренную в одну группу ($CDAI < 22$) против пациентов с высокой активностью РА ($CDAI > 22$). По результатам анализа выявлено, что уровни кальпротектина имели более высокие значения диагностической точности, чувствительности и специфичности ($ACC = 73,04$) в сравнении с СОЭ ($ACC = 65,82$) и СРБ ($ACC = 61,32$) (рис. 3).

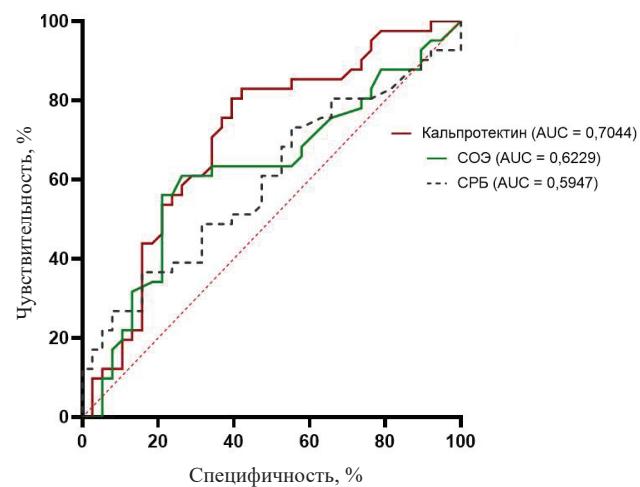


Рис. 3. ROC-кривые для всех маркеров в зависимости от степени активности заболевания согласно индексу CDAI (> 22)

Таким образом, по данным ROC-анализа, чувствительность, специфичность, а также диагностическая точность для кальпротектина были выше в оценке суставного синдрома, а также активности РА по клиническому индексу CDAI, чем для традиционных острофазовых маркеров.

При проведении дискриминантного анализа пациенты в ремиссии и с низкой активностью РА, согласно индексам DAS28 и CDAI, были объединены в одну группу. По результатам теста выявлено, что из всех показателей содержание только СОЭ и кальпротектина образовывали информативное сочетание, но хорошая классификация была получена для их логарифмов. Сочетание дискриминантных функций по двум самым информативным вариантам с их

логарифмами давали вероятность правильной классификации активности РА, согласно индексу DAS28, 71%. Для индекса CDAI статистически значимую классификацию давал только кальпротектин с вероятностью 70,5% соответственно.

Таким образом, при многомерном статистическом анализе данных относительно содержания нового биомаркера для оценки активности РА, диагностическая информативность кальпротектина не только не уступала традиционно применяемым острофазовым показателям, но и демонстрировала лучшие результаты.

По результатам ФГДС, 38% пациентов с РА имели эндоскопические признаки хронического гастрита без признаков активного воспаления. У 21% пациентов визуализировалась язвенная болезнь желудка, а у 8% – язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ДПК). У 1% основной группы, по данным ФГДС, были выявлены эпителиальные полипы желудка, не имеющие признаков атипии по результатам последующего гистологического исследования. Остальные 32% пациентов не имели признаков поражения желудка и начальных отделов ДПК по данным ФГДС. Ни у одного пациента из исследуемых за период госпитализации в ревматологическое отделение не были определены показания к проведению ФКС.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нами были выявлены статистически значимые различия содержания кальпротектина у пациентов с РА и здоровых лиц, так как кальпротектин является провоспалительным цитокином, участвующим в развитии иммунновоспалительного процесса при РА. Кальпротектин играет важную роль в воспалении, так как взаимодействует с рецепторами врожденного иммунитета, ввиду чего он был идентифицирован как маркер, связанный с РА [8, 9].

В нашем исследовании уровень кальпротектина коррелировал со степенью активности РА, но особенно тесные взаимосвязи прослеживались с суставным доменом композитных индексов в сравнении с СОЭ и СРБ. Наши данные соотносятся с данными литературы, где при изучении локальной и системной продукции кальпротектина отмечалась статистически значимая корреляция содержания маркера с интенсивностью локального воспалительного процесса, а также клиническими параметрами активности РА [10–15]. Метаанализ, проведенный S.-C. Вае и соавт., также показал, что содержание кальпротектина в сыворотке крови и синовиальной жидкости коррелировало с активностью РА [11]. В исследованиях Н.В. Hammer и соавт. и J. Hurnakova и соавт.

указывается, что концентрация кальпротектина в сыворотке, по данным ультразвукового исследования, коррелировала с синовитом, которые не коррелировали с уровнями СОЭ и СРБ у пациентов с РА [12, 13]. Действительно, в отличие от СРБ, кальпротектин продуцируется локально и не вырабатывается гепатоцитами в ответ на стимуляцию воспалительными цитокинами, что делает его более информативным и надежным [7–9, 15].

Согласно проводимым клинико-лабораторным сопоставлениям данных при выполнении ROC-анализа, уровень нового биомаркера демонстрировал лучшие показатели в оценке суставного синдрома, а также умеренной и высокой степени активности заболевания согласно индексу CDAI. По результатам крупного исследования SONAR отмечено, что концентрация кальпротектина в сыворотке крови была связана с ЧПС, а также с индексом CDAI. Содержание биомаркера статистически различалось у пациентов с разной степенью активности, согласно индексу DAS28, что слабо коррелировало с СРБ. Многомерный анализ показал, что кальпротектин был независимо связан с ультразвуковыми параметрами синовита, в отличие от СРБ.

По данным ROC-анализа, кальпротектин оказался более точным маркером в оценке активности РА, согласно индексу DAS28, в отличие от СРБ, с площадью под кривой 0,8 и 0,71 [14]. Таким образом, авторы исследования предполагают, что уровни кальпротектина в сыворотке крови точно отражают степень локального воспаления. Данные наблюдения подтверждены проспективным исследованием, по результатам которого была выявлена связь между содержанием кальпротектина в сыворотке крови и активностью РА, согласно индексу DAS28, у пациентов с нормальным уровнем СРБ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кальпротектин плазмы крови – новый лабораторный биомаркер в оценке активности синовита при РА, так как является более информативным, чувствительным и специфичным показателем активности заболевания.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Smolen J.S., Aletaha D., Bijlsma J.W., Breedveld F.C., Boumpas D., Burmester G. et al. T2T Expert committee. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann. Rheum. Dis.* 2010;69(4):631–637. DOI: 10.1136/ard.2009.123919.
- Fransen J., Stucki G., van Riel P.L.C.M. Rheumatoid arthritis measures: Disease Activity Score (DAS), Disease Activity Score-28 (DAS28), Rapid Assessment of Disease Activity in Rheumatology (RADAR) and Rheumatoid Arthritis Disease Activity Index (RADAI). *Arthritis & Rheumatism*. 2003;49:214–224. DOI: 10.1002/art.11407.
- Prevo M.L., van 't Hof M.A., Kuper H.H., van Leeuwen M.A., van de Putte L.B., van Riel P.L. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995;38(1):44–48. DOI: 10.1002/art.1780380107. PMID: 7818570.
- De Jong P.H., Hazes J.M., van Zeben D., van der Lubbe P.A., de Jager M.H., de Sonnaville P.B. et al. Treatment decisions and related costs differ significantly depending on the choice of a disease activity index in RA, according to 1987 and 2010 classification criteria. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51(7):1269–1277. DOI: 10.1093/rheumatology/kes008.
- Marks J.L., Holroyd C.R., Dimitrov B.D., Armstrong R.D., Calogeras A., Cooper C. et al. Does combined clinical and ultrasound assessment allow selection of individuals with rheumatoid arthritis for sustained reduction of anti-tumor necrosis factor therapy? *Arthritis Care Res. (Hoboken)*. 2015;67(6):746–753. DOI: 10.1002/acr.22552.
- Miranda-García P., Chaparro M., Gisbert J.P. Correlation between serological biomarkers and endoscopic activity in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Hepatol.* 2016;39(8):508–515. DOI: 10.1016/j.gastrohep.2016.01.015.
- Korndörfer I.P., Brueckner F., Skerra A. The crystal structure of the human (S100A8/S100A9)2 heterotetramer, calprotectin, illustrates how conformational changes of interacting alpha-helices can determine specific association of two EF-hand proteins. *J. Mol. Biol.* 2007;370(5):887–898. DOI: 10.1016/j.jmb.2007.04.065.
- Romand X., Bernardy C., Nguyen M.V.C., Courtier A., Trocmé C., Clapasson M. et al. Systemic calprotectin and chronic inflammatory rheumatic diseases. *Joint Bone Spine*. 2019;86(6):691–698. DOI: 10.1016/j.jbspin.2019.01.003.
- Lee D.G., Woo J.W., Kwok S.K., Cho M.L., Park S.H. MRP8 promotes Th17 differentiation via upregulation of IL-6 production by fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Exp. Mol. Med.* 2013;45(4):20. DOI: 10.1038/emm.2013.39.
- Abildtrup M., Kingsley G.H., Scott D.L. Calprotectin as a biomarker for rheumatoid arthritis: a systematic review. *J. Rheumatol.* 2015;42(5):760–770. DOI: 10.3899/jrheum.140628.
- Bae S.C., Lee Y.H. Calprotectin levels in rheumatoid arthritis and their correlation with disease activity: a meta-analysis. *Postgrad. Med.* 2017;129(5):531–537. DOI: 10.1080/00325481.2017.131972.
- Hurnakova J., Zavada J., Hanova P., Hulejova H., Klein M., Mann H. et al. Serum calprotectin (S100A8/9): an independent predictor of ultrasound synovitis in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2015;17(1):252. DOI: 10.1186/s13075-015-0764-5.
- Jarlborg M., Courvoisier D.S., Lamacchia C., Martinez Prat L., Mahler M., Bentow C. et al. Physicians of the Swiss Clinical Quality Management (SCQM) registry. Serum calprotectin: a promising biomarker in rheumatoid arthritis and axial spondyloarthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2020;22(1):105. DOI: 10.1186/s13075-020-02190-3.

14. Hammer H.B., Ødegård S., Syversen S.W., Landewé R., van der Heijde D., Uhlig T. et al. Calprotectin (a major S100 leucocyte protein) predicts 10-year radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2010;69(1):150–154. DOI: 10.1136/ard.2008.103739.
15. Bach M., Moon J., Moore R., Pan T., Nelson J.L., Lood C. A neutrophil activation biomarker panel in prognosis and monitoring of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2020;72(1):47–56. DOI: 10.1002/art.41062.
16. Altman R., Asch E., Bloch D., Borenstein D., Brandt K. et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum.* 1986;29(8):1039–1049. DOI: 10.1002/art.1780290816.

Вклад авторов

Королькова А.А. – формирование базы данных, анализ и интерпретация полученных результатов, написание и подготовка текста статьи. Хижя В.В. – проведение лабораторных исследований, формирование базы данных. Козлова Д.И. – организация проведения лабораторных исследований, формирование базы данных, их анализ и интерпретация. Маслянский А.Л. – разработка концепции и дизайна исследования, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Вавилова Т.В. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Королькова Анастасия Александровна – врач-ревматолог, аспирант, кафедра внутренних болезней, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, ana9099588@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2159-1685>

Хижя Виталий Валентинович – аспирант, ИЭФБ РАН, г. Санкт-Петербург, khizhaspb@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4967-472X>

Козлова Дарья Игоревна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, ИЭФБ РАН, г. Санкт-Петербург, di.kozlova.official@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1767-2754>

Маслянский Алексей Леонидович – д-р мед. наук, доцент, врач-ревматолог, зав. НИЛ ревматологии, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, esc_4@mail.ru

Вавилова Татьяна Владимировна – д-р мед. наук, профессор, за. лабораторией медицины и генетики, НМИЦ им. В.А. Алмазова, гл. внештатный специалист по клинической лабораторной диагностике Северо-Западного федерального округа, г. Санкт-Петербург, vtv.lab.spb@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8537-3639>

(✉) **Королькова Анастасия Александровна**, ana9099588@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.04.2021;
одобрена после рецензирования 09.08.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 612.017.11:616.514-036.12-053.2
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-67-72>

Особенности функционирования врожденного иммунитета у детей с хронической крапивницей

Мальцев С.В., Сизякина Л.П., Лебеденко А.А.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить особенности функционирования врожденного иммунитета у детей с хронической крапивницей (ХК).

Материалы и методы. В исследование включены 28 детей обоих полов в возрасте от 6 до 16 лет с хронической идиопатической (спонтанной) крапивницей. Медиана возраста – 8 лет ($p = 0,045$). Клинические методы исследования: анализ жалоб, анамнестических данных, объективный осмотр ребенка (динамика уртикариев, выраженности кожного зуда, наличие ангмоотеков). Иммунологические методы исследования: определение количества моноцитов, экспрессирующих CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺CD289⁺, количества лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих CD3⁺CD16⁺, содержания иммуноглобулина Е, уровня лактоферрина, интерферона (IFN) γ , интерлейкина (IL) 4 и 6, проведение теста с нитросиним тетразолием.

Результаты. В ходе исследования у детей с ХК выявлено повышение экспрессии моноцитами Toll-рецепторов TLR2 и TLR4, подавление экспрессии моноцитами TLR9, значительное увеличение уровня лактоферрина, незначительное сокращение количества NK-клеток, снижение микробицидной активности и адаптационных резервов, повышение уровня IgE, IFN γ и IL-6, уменьшение уровня IL-4.

Заключение. Выявленные в ходе исследования иммунологические изменения свидетельствуют о разнонаправленной экспрессии Toll-рецепторов, нарушениях в работе клеточного звена врожденного иммунитета, запуске цитокинового каскада воспаления у детей с хронической идиопатической крапивницей, что может послужить основой для разработки новых схем персонифицированной терапии ХК у детей.

Ключевые слова: хроническая крапивница, дети, врожденный иммунитет

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

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

Соответствие принципам этики. Все участники исследования или их родители подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено локальным независимым этическим комитетом РостГМУ (протокол № 10/21 от 27.05.2021).

Для цитирования: Мальцев С.В., Сизякина Л.П., Лебеденко А.А. Особенности функционирования врожденного иммунитета у детей с хронической крапивницей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):67–72. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-67-72>.

Features of the functioning of innate immunity in children with chronic idiopathic urticaria

Maltsev S.V., Sizyakina L.P., Lebedenko A.A.

Rostov State Medical University (RostSMU)

29, Nakhichevansky Lane, Rostov-on-Don, 344022, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the features of the functioning of innate immunity in children with chronic idiopathic urticaria.

Materials and methods. The study included 28 children of both sexes aged 6–16 years with chronic idiopathic urticaria (CIU). The median age of the patients was 8 years ($p = 0.045$). Clinical research methods included an analysis of complaints and anamnestic data, as well as an objective examination of the child (dynamics of urticaria, severity of itching, the presence of angioedema). Immunological techniques included determination of the number of monocytes expressing CD14⁺CD282⁺, CD14⁺CD284⁺, CD14⁺CD289⁺, the number of peripheral blood lymphocytes expressing CD3⁺CD16⁺, the levels of immunoglobulin (Ig) E, lactoferrin, interferon (IFN) γ , interleukin (IL)-4, and IL-6, and a nitroblue tetrazolium test.

Results. In the course of the study, an increase in the expression of Toll-like receptors TLR2 and TLR4 by monocytes, a decrease in the expression of TLR9 by monocytes, a significant rise in lactoferrin levels, a slight decrease in the number of natural killer (NK) cells, a decrease in microbial activity and adaptive reserves, a rise in IgE levels, a decrease in IL-4 levels, and an increase in IFN γ and IL-6 were revealed in children with CIU.

Conclusion. The immunological changes revealed during the study indicate multidirectional expression of Toll-like receptors, disturbances in the work of the cellular components of innate immunity, and a launch of a proinflammatory cytokine cascade in children with CIU, which can serve as a mainstay for the development of new schemes for personalized therapy of CIU in children.

Keywords: chronic idiopathic urticaria, children, innate immunity

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. All study participants or their parents signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at RostSMU (Protocol No. 10/21 of 27.05.2021).

For citation: Maltsev S.V., Sizyakina L.P., Lebedenko A.A. Features of the functioning of innate immunity in children with chronic idiopathic urticaria. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):67–72. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-67-72>.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая крапивница (ХК) является актуальной проблемой педиатрии в связи с ростом заболеваемости, часто встречающейся резистентностью к проводимым методам лечения, отрицательным влиянием на качество жизни детей и подростков (ухудшение сна, снижение школьной успеваемости) [1, 2]. Распространенность ХК в общей популяции варьирует от 0,1 до 1,5% [3, 4], среди детей и подростков, по данным разных исследователей, может увеличиваться до 3% [5–8].

Известно, что ХК характеризуется спонтанным возникновением волдырей и (или) ангиоотеков на протяжении временного периода более 6 нед [9]. Клинические проявления ХК одинаковы у всех пациентов,

тогда как патогенез заболевания многообразен. Однако в половине случаев ведущий патогенетический фактор установить не удается, и такую ХК принято считать идиопатической или спонтанной [10, 11].

Учитывая неоднозначность представлений о роли структур врожденного иммунитета в патогенезе крапивницы, представляется перспективным изучение особенностей его функционирования у детей с хронической крапивницей [12]. При этом эффективность лечения в значительной степени определяется возможностью проведения патогенетически обоснованной, таргетной терапии, которая становится по-настоящему действенной только при установлении механизмов ХК [13, 14].

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей функционирования врожденного

иммунитета у детей с хронической идиопатической крапивницей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 28 детей обоих полов в возрасте 6–16 лет с хроническим вариантом течения идиопатической (спонтанной) крапивницы. Медиана возраста – 8 лет ($p = 0,045$). Критерии включения пациентов в исследование: наличие клинической картины крапивницы (уртикарии, зуд, англоневротический отек) длительностью более 6 нед. Критерии исключения пациентов из исследования: наличие признаков острого инфекционного заболевания, наличие признаков обострения хронического заболевания, положительный тест с аутологичной сывороткой, повышенные показатели уровня антител к тиреопероксидазе в сыворотке крови, применение системных глюкокортикоидов в течение 1 мес до обследования. В контрольную группу включены 30 мальчиков и девочек в возрасте 6–16 лет (медиана возраста – 9 лет), практически здоровых, не имеющих хронической патологии. Обследование пациентов проводилось в 1-е сут поступления ребенка, до начала терапии в стационаре.

Исследования проведены в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» в редакции 52-й сессии Генеральной Ассамблеи ВМА (2000) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 г. № 266.

Клинические методы исследования включали анализ жалоб и анамнестических данных, объективный осмотр ребенка (выявление и учет динамики уртикарных элементов сыпи, выраженности кожного зуда, наличие ангиоотеков). Иммунологические методы исследования включали определение количества мо-

ноцитов, экспрессирующих поверхностные маркеры $CD14^+CD282^+$, $CD14^+CD284^+$, $CD14^+CD289^+$, методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител (Caltag Laboratories, США), количества лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих маркеры $CD3^+CD16^+$, на проточном лазерном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США), определение содержания иммуноглобулина (Ig) Е методом Манчини (АО «НПО «Микроген», Россия), определение уровня лактоферрина, интерферона (IFN) γ , интерлейкина (IL) 4 и 6 (ООО «Цитокин», Россия) методом иммуноферментного анализа сыворотки крови, проведение теста с нитросиним тетразолием (компания «ДИА-М», Россия). Все лабораторные исследования были проведены однократно. На проведение клинического исследования и взятие крови из вены получены добровольные информированные согласия от родителей детей до 15 лет и от подростков 15 лет и старше.

В качестве описательных статистик для количественных показателей данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me ($Q_1; Q_3$), максимального и минимального значений $Min; Max$. Сравнение медиан в группах проводилось с помощью теста Манна – Уитни. Различия признавались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Расчеты выполнялись в R Foundation for Statistical Computing, версия 3.2 (Австрия).

Установлено, что у всех детей из группы исследования регистрировалась классическая картина обострения ХК (уртикарии и кожный зуд), у 12 детей (42,9%) крапивница протекала с проявлениями ангиоотека.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследований показателей врожденного иммунитета у детей с ХК и в контрольной группе представлены в таблице.

Таблица

Сравнение количественных показателей врожденного иммунитета у детей с хронической крапивницей и в контрольной группе					
Показатель	Хроническая крапивница, $n = 28$		Контрольная группа, $n = 30$		p (тест Манна–Уитни)
	Me ($Q_1; Q_3$)	$Min; Max$	Me ($Q_1; Q_3$)	$Min; Max$	
$CD14^+CD282^+$, %	38 (26; 45,5)	18; 88	28,5 (27; 32)	22; 34	0,003
$CD14^+CD284^+$, %	45,5 (39; 52,5)	24; 60	7 (5; 8)	5; 9	<0,001
$CD14^+CD289^+$, %	1,7 (1,5; 1,9)	1,2; 2,6	30,3 (26,8; 33,2)	22,3; 36,5	<0,001
Лактоферрин, нг/мл	4 378 (2 189; 5 004)	1 087; 6 581	985 (750; 1 084)	582; 1 158	<0,001
$CD3^+CD16^+$, %	8 (5; 11)	4; 7	10 (7; 13)	5; 16	0,062
IgE, г/л	173 (104; 197)	10,9; 477	45 (38; 75)	34; 88	<0,001
HCT-тест спонтанный, у.е.	96 (84; 112)	67; 167	102 (98; 105)	89; 112	0,077
HCT-тест стимулированный, у.е.	143 (114; 162)	87; 200	180 (174; 192)	172; 203	<0,001
Коэффициент стимуляции, ед.	1,3 (1,2; 1,7)	1,2; 2,4	1,8 (1,75; 1,9)	1,7; 1,96	<0,001
IFN γ , пг/мл	16 (11,1; 18)	8,9; 23,3	5,8 (5,29; 7,5)	4,25; 8,7	<0,001
IL-4, пг/мл	2,08 (1,9; 2,48)	1,1; 2,8	5,3 (4,2; 11,3)	3,8; 13,7	<0,001
IL-6, пг/мл	9,89 (2,83; 48,7)	1,71; 67,5	4,98 (4,12; 5,35)	3,5; 5,72	0,154

При анализе показателей иммунного статуса детей с хронической крапивницей зафиксировано достоверно значимое повышение более чем в 6 раз по сравнению с контрольной группой экспрессии моноцитами TLR4 и крайне низкие значения экспрессии моноцитами TLR9 – снижение почти в 18 раз. При этом уровень экспрессии моноцитами TLR2 был незначительно (в 1,3 раза) увеличен по сравнению с показателями контрольной группы. В группе детей с ХК зафиксировано значительное повышение уровня лактоферрина – в 4,5 раза по сравнению с контрольной группой детей. Количество NK-клеток в крови у детей с ХК незначительное снижено – всего в 1,3 раза по сравнению с контрольной группой. Медиана уровня общего IgE в сыворотке крови детей с ХК была увеличена в 3,8 раза от уровня контрольной группы. В фагоцитарном звене у детей с ХК отмечено уменьшение значения спонтанного НСТ-теста при сокращении адаптационных резервов фагоцитов в виде снижения стимулированного НСТ-теста, что проявляется достоверно низким значением коэффициента стимуляции. Уровень IFN γ достоверно выходит за рамки контрольных значений – в 2,8 раза в сторону повышения. При этом содержание IL-4 по сравнению с показателями контрольной группы понижено более чем в 2 раза. Содержание IL-6 хотя и недостоверно, но больше контрольных значений в 2 раза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Зарубежными исследователями опубликовано небольшое количество работ о роли TLRs в патогенезе крапивницы [15]. В нашем исследовании мы отмечали повышение уровня экспрессии моноцитами TLR2 и TLR4 у детей с ХК, что соотносится с данными отечественных исследователей. Так, Е.В. Сорокина с соавт. (2020) выявили, что у больных с ХК длительностью от 6 мес показатели TLR2 и TLR4 были выше показателей в группе здоровых лиц в 6 и 4 раза соответственно, при этом длительность заболевания не влияла на экспрессию TLR9 [16]. Проведенное нами исследование показало снижение уровня внутриклеточной экспрессии моноцитами TLR9 у детей с ХК по сравнению с контрольной группой детей. Аналогичные результаты были получены зарубежными авторами, которыми в сравнительном исследовании была выявлена функциональная несостоительность TLR9, экспрессируемая дендритными клетками у больных с ХК по сравнению с контрольной группой [17].

В литературных источниках в полной мере описаны свойства сывороточного лактоферрина как одного из белков семейства трансферринов, принимающего участие в транспорте и метаболизме железа

[18]. Именно из-за этой уникальной способности лактоферрин проявляет свои антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства [19]. Доступных литературных данных об участии лактоферрина в патогенезе ХК мы не обнаружили. В нашем исследовании значительное повышение уровня лактоферрина у детей с ХК можно объяснить его противовоспалительным эффектом: связыванием железа в очаге воспаления, что в итоге приводит к уменьшению поражения клеток свободными радикалами кислорода и снижению активности воспалительного процесса.

На данный момент известно, что натуральные киллеры помимо непосредственного цитолитического действия оказывают регулирующее влияние на иммунные реакции посредством секреции цитокинов, хемокинов, ростовых факторов [20]. Сведений об участии NK-клеток в механизме возникновения ХК в доступной литературе мы не обнаружили. Патоморфологическая картина уртикария характеризуется периваскулярным инфильтратом, состоящим из лимфоцитов, моноцитов, тучных клеток, эозинофилов и нейтрофилов [21]. Незначительное снижение количества NK-клеток в крови детей с ХК в нашем исследовании может быть связано с их миграцией в очаг воспаления.

Данных о роли фагоцитоза в генезе ХК в литературных источниках мы не обнаружили. Имеются единичные работы, посвященные изучению процессов фагоцитоза при аллергических заболеваниях. Так, в работе Е.Г. Моисеевой с соавт. (2005) было показано снижение интенсивности фагоцитоза в динамике аллергического воспаления, что расценено как стадия его истощения [22]. В нашем исследовании мы выявили низкую микробицидную активность со снижением адаптационных резервов у детей с ХК, что также характеризует истощение механизмов фагоцитоза.

Повышенный интерес у исследователей всегда вызывало определение уровня IgE при различных вариантах течения крапивницы. Так, в исследовании A. Kessel и соавт. (2010) было показано повышение уровня IgE у пациентов с ХК по сравнению с контрольной группой [23]. В сравнительных исследованиях крапивницы K.L. Chang и соавт. (2011) выявили, что у детей с хроническим течением крапивницы повышение уровня IgE не такое интенсивное, как у пациентов с острой крапивницей [24]. Также повышенные значения IgE выявлены у больных хронической спонтанной крапивницей при наличии у них сопутствующих атопических заболеваний [16]. Результаты нашего исследования по определению уровня IgE у детей с ХК соотносятся с результатами приведенных выше работ.

Изменения в системе цитокинов играют важную роль в патогенезе соматических заболеваний, в том числе и в патогенезе ХК. IL-4 часто называют противовоспалительным цитокином, так как он способен снижать иммуностимулирующее действие Th1, синтез TNF и IFN γ . Однако, по данным А.С. Симбирцева (2021), IL-4 является типичным провоспалительным и проаллергическим цитокином с широким спектром биологической активности, участником врожденного и приобретенного иммунитета [25]. Выявленное в формате нашего исследования снижение уровня IL-4 в сыворотке крови детей с ХК свидетельствует о возможном истощении или подавлении процесса синтеза данного цитокина.

В работе A. Kasperska-Zajac (2011) показана роль IL-6 при тяжелом течении ХК, выявлена прямая связь с острофазными белками плазмы крови и системой фибринолиза [26]. Другие зарубежные исследователи также считают, что IL-6 играет одну из ключевых ролей в иммунных воспалительных реакциях и может служить биомаркером активности ХК [27–29]. Роль IFN γ в патогенезе ХК также поддерживается зарубежными учеными. Так, была выявлена положительная связь между активацией базофилов, повышением экспрессии TLR4 на мастоцитах с возрастанием уровня IFN γ в сыворотке крови при хронической идиопатической крапивнице [30]. Результаты нашего исследования также констатируют гиперпродукцию провоспалительных цитокинов IFN γ и IL-6 у детей с хронической идиопатической крапивницей, что можно рассматривать не только как индикатор активности воспалительной реакции, но и как предиктор хронизации крапивницы у детей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные в ходе исследования изменения свидетельствуют о разнонаправленной экспрессии Toll-рецепторов, нарушениях в работе клеточного звена врожденного иммунитета, запуске цитокинового каскада воспаления у детей с хронической идиопатической крапивницей. Это в свою очередь вызывает активацию регуляторных компонентов воспалительного процесса и адаптивных механизмов защиты организма, что в совокупности приводит к хронизации идиопатической крапивницы. Комплексный подход к изучению врожденного иммунитета позволит получить более полное представление об иммунопатогенезе ХК и может послужить основой для разработки в дальнейшем новых схем таргетной терапии данного заболевания у детей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Pite H., Wedi B., Borrego L.M. et al. Management of childhood urticaria: current knowledge and practical recommendations. *Acta Derm. Venereol.* 2013;93(5):500–508. DOI: 10.2340/00015555-1573.
- Ulrich W. Anti-IgE for chronic urticaria – are children little adults after all? *Pediatr. Allergy Immunol.* 2015;26(6):488–489. DOI: 10.1111/pai.12424.
- Fricke J., Avila G., Keller T. et al. Prevalence of chronic urticaria in children and adults across the globe: Systematic review with meta-analysis. *Allergy*. 2020;75(2):423–432. DOI: 10.1111/all.14037.
- Goncalo M., Gimenez-Arnau A., Al-Ahmad M. et al. The global burden of chronic urticaria for the patient and society. *Br. J. Dermatol.* 2021;184(2):226–236. DOI: 10.1111/bjd.19561.
- Sanchez-Borges M., Asero R., Ansotegui I.J. et al. Diagnosis and treatment of urticaria and angioedema: a worldwide perspective. *World Allergy Organ J.* 2012;5(11):125–147. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182758d6c.
- Yilmaz E.A., Karaatmaca B., Cetinkaya P.G. et al. The persistence of chronic spontaneous urticaria in childhood is associated with the urticaria activity score. *Allergy Asthma Proc.* 2017;38(2):136–142. DOI: 10.2500/aap.2017.38.4029.
- Greenberger P.A. Chronic urticaria: new management options. *World Allergy Organ J.* 2014;7(1):31. DOI: 10.1186/1939-4551-7-31.
- Zuberbier T., Aberer W., Asero R. et al. The EAACI/GA(2) LEN/EDF/WAO Guideline for the Definition, Classification, Diagnosis and Management of Urticaria. The 2017 Revision and Update. *Allergy*. 2018. DOI: 10.1111/all.13397.
- Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с крапивницей. М.: Союз педиатров России, 2016:51.
- Poddighe D., De Amici M., Marseglia G.L. Spontaneous (autoimmune) chronic urticaria in children: current evidences, diagnostic pitfalls and therapeutic management. *Recent. Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.* 2016;10(1):34–39. DOI: 10.214/1872213X10666160219163502.
- Намазова-Баранова Л.С., Вишнёва Е.А., Калугина В.Г., Алексеева А.А., Левина Ю.Г., Добрынина Е.А. и др. Современные возможности терапии хронической крапивницы у детей. *Педиатрическая фармакология*. 2018;15(3):233–237. DOI: 10.15690/pf.v15i3.1903.
- Мальцев С.В., Сизякина Л.П., Лебеденко А.А. и др. Нарушения цитокинового статуса у детей с крапивницей. *Медицинский вестник Юга России*. 2020;11(4):51–57. DOI: 10.21886/2219-8075-2020-11-4-51-57.
- Maurer M., Rosen K., Hsieh H.J. et al. Omalizumab for the treatment of chronic idiopathic or spontaneous urticaria. *N. Engl. J. Med.* 2013;368(10):924–935. DOI: 10.1056/NEJMoa1215372.
- Casale T.B., Bernstein J.A., Maurer M. et al. Similar efficacy with Omalizumab in chronic idiopathic/spontaneous urticaria despite different background therapy. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2015;3(5):743–750. DOI: 10.1016/j.jaip.2015.04.015.
- Kasperska-Zajac A., Damasiewicz-Bodzek A., Tyrpień-Goldner K. et al. Circulating soluble receptor for advanced glyca-

- tion end products is decreased and inversely associated with acute phase response in chronic spontaneous urticaria. Innate immunity. *Inflamm. Res.* 2016;65(5):343–346. DOI: 10.1007/S00011-016-0914-5.
16. Сорокина Е.В., Сивакова Н.Г., Ахматова Н.К. и др. Эффекторы врожденного иммунитета при хронической спонтанной крапивнице. *Клиническая дерматология и венерология*. 2020;19(3):337–342. DOI: 10.17116/KLINDERMA202019031337.
17. Futata E., Azor M., Dos Santos J.C. et al. Impaired IFN- α secretion by plasmacytoid dendritic cells induced by TLR9 activation in chronic idiopathic urticaria. *British Journal of Dermatology*. 2011;164(6):1271–1279. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.10198.x.
18. Бойко О.В., Ахминеева А.Х., Гудинская Н.И. и др. Биохимические и иммунологические маркеры в диагностике патологических состояний. *Фундаментальные исследования*. 2013;9(3):327–329.
19. Кузнецов И.А., Потиевская В.И., Качанов И.В. и др. Роль лактоферрина в биологических средах человека. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;3. URL: <http://www.science-education.ru/tu/article/view?id=26522>
20. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленок Е.И. Основные свойства и функции NK-клеток человека. *Иммунология*. 2012;4:220–224.
21. Данилычева Е.В. Крапивница: есть ли проблемы? *Аллергология и иммунология*. 2012;2:42–47.
22. Моисеева Е.Г., Пасечник А.В., Михеева М.С., Дроздова Г.А. Характеристика фагоцитоза и апоптоз нейтрофилов при аллергическом воспалении. *Успехи современного естествознания*. 2005;7:38–39.
23. Kessel A., Helou W., Bamberger E. et al. Elevated serum total IgE-apotential marker for severe chronic urticaria. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2010;153(3):288–293. DOI: 10.1159/000314370.
24. Chang K.L., Yang Y.H., Yu H.H. et al. Analysis of serum total IgE, specific IgE and eosinophils in children with acute and chronic urticaria. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2013;46(1):53–58. DOI: 10.1016/j.jmii.2011.12.030.
25. Симбирцев А.С. Цитокины в иммунопатогенезе аллергии. *РМЖ*. 2021;1:32–37. DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-1-32-37.
26. Kasperska-Zajac A. Acute-phase response in chronic urticaria. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2011;10:370–376. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2011.04366.x.
27. Krause K. Complete remission in 3 of 3 anti-IL-6-treated patients with Schnitzler syndrome. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012;129(3):848–850. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.10.031.
28. Makol A., Gibson L.E., Michet C.J. Successful use of interleukin 6 antagonist tocilizumab in a patient with refractory cutaneous lupus and urticarial vasculitis. *J. Clin. Rheumatol.* 2012;18(2):92–95. DOI: 10.1097/RHU.0b013e31823ecd73.
29. Deza G. Emerging biomarkers and therapeutic pipelines for chronic spontaneous urticaria. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2018;6(4):1108–1117. DOI: 10.1016/j.jaip.2018.02.024.
30. Dos Santos J.C., de Brito C.A., Futata E.A. Up-regulation of chemokine C–C ligand 2 (CCL2) and C-X-C chemokine 8 (CXCL8) expression by monocytes in chronic idiopathic urticaria. *Clinical & Experimental Immunology*. 2012;167(1):129–137. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04485.x.

Вклад авторов

Мальцев С.В. – сбор данных для анализа, написание текста статьи. Сизякина Л.П. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Лебеденко А.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных.

Информация об авторах

Мальцев Станислав Викторович – канд. мед. наук, доцент, кафедра детских болезней № 2, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону, steve30@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7614-9053>

Сизякина Людмила Петровна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону, msiziakina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5716-4397>

Лебеденко Александр Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских болезней № 2, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону, leb.rost@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4525-1500>

(✉) **Мальцев Станислав Викторович**, steve30@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.04.2022;
одобрена после рецензирования 16.05.2022;
принята к публикации 25.05.2022

УДК 613.2.038-02:[616.12-008.331.1:616.61]
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-73-80>

Влияние возраста, высокоуглеводной и высокожировой диеты на развитие артериальной гипертензии и поражения почек в эксперименте

Мустафина Л.Р.¹, Логвинов С.В.¹, Нарыжная Н.В.², Курбатов Б.К.², Маслов Л.Н.²

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель: выявить структурные основы патогенеза артериальной гипертензии и поражения почек, связанных с высокоуглеводной высокожировой диетой (ВУЖД) и возрастом у крыс линии Wistar.

Материал и методы. Исследование проводили на самцах крыс линии Wistar в возрасте 60 и 450 сут. Животных распределяли на четыре группы: 1-я ($n = 14$) – интактные крысы (возраст 60 сут), содержащиеся на стандартном рационе в течение 90 сут; 2-я ($n = 14$) – крысы (возраст 60 сут), содержащиеся на ВУЖД в течение 90 сут; 3-я ($n = 14$) – интактные крысы (возраст 450 сут), содержащиеся на стандартном рационе в течение 90 сут; 4-я ($n = 14$) – крысы (возраст 450 сут), содержащиеся на ВУЖД в течение 90 сут. Использовались клинико-инструментальный, иммуноферментный, иммуногистохимический и гистологический методы исследования.

Результаты. Высокоуглеводная высокожировая диета приводила у 60-дневных животных к увеличению массы тела и абдоминального жира, нарастанию систолического артериального давления, появлению умеренно выраженных гистологических изменений почек. У интактных 450-дневных крыс преобладали изменения, связанные с возрастом: увеличение массы миокарда, увеличение TGF- β 1 в сыворотке крови, морфологические изменения почечных каналцев и клубочков. У 450-дневных крыс, содержащихся на ВУЖД, отмечалось наиболее выраженное нарастание как систолического, так и диастолического артериального давления, значительное увеличение концентрации фибронектина в сыворотке крови, выраженные деструктивные изменения в почечной паренхиме.

Заключение. Функциональные и биохимические признаки артериальной гипертензии и морфологические изменения в почках были наиболее выражены у 450-дневных крыс, содержавшихся на ВУЖД.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, возрастные изменения почек, высокоуглеводная высокожировая диета

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

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

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 201 от 30.07.2020).

Для цитирования: Мустафина Л.Р., Логвинов С.В., Нарыжная Н.В., Курбатов Б.К., Маслов Л.Н. Влияние возраста, высокоуглеводной и высокожировой диеты на развитие артериальной гипертензии и поражения

✉ Мустафина Лилия Рамильевна, lrmustafina@yandex.ru

почек в эксперименте. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):73–80. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-73-80>.

The effect of age and a high-fat, high-carbohydrate diet on the development of arterial hypertension and kidney disease in the experiment

Mustafina L.R.¹, Logvinov S.V.¹, Naryzhnaya N.V.², Kurbatov B.K.², Maslov L.N.²

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, 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 identify the structural foundations of the pathogenesis of arterial hypertension and kidney disease associated with a high-fat, high-carbohydrate diet and age.

Materials and methods. The study was carried out on male Wistar rats aged 60 and 450 days. The animals were divided into 4 groups: group 1 ($n = 14$) – intact rats (60 days old) fed with a standard diet for 90 days; group 2 ($n = 14$) – rats (aged 60 days) receiving a high-fat, high-carbohydrate diet for 90 days; group 3 ($n = 14$) – intact rats (aged 450 days) receiving a standard diet for 90 days; group 4 ($n = 14$) – rats (aged 450 days) fed with a high-fat, high-carbohydrate diet for 90 days. Clinical and instrumental research methods, enzyme-linked immunosorbent assay, and immunohistochemistry and histology techniques were used in the study.

Results. Feeding 60-day-old animals with a high-fat, high-carbohydrate diet resulted in an increase in body weight and abdominal fat, a rise in systolic blood pressure, and moderately pronounced histologic changes in the kidneys. In intact 450-day-old rats, age-related changes prevailed: changes in the myocardial mass, an increase in TGF- β 1, morphological changes in the renal tubules and glomeruli. In 450-day-old rats receiving a high-fat, high-carbohydrate diet, the most pronounced increase in both systolic and diastolic blood pressure, a significant rise in serum fibronectin, and destructive changes in the renal tissue were noted.

Conclusion. Functional and biochemical signs of arterial hypertension and morphological changes in the kidneys were the most pronounced in 450-day-old rats fed with a high-fat, high-carbohydrate diet.

Keywords: arterial hypertension, age-related changes in the kidneys, high-fat, high-carbohydrate diet

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.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee at the Cardiology Research Institute of Tomsk NRMC (Protocol No. 201 of 30.07.2020).

For citation: Mustafina L.R., Logvinov S.V., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Maslov L.N. The effect of age and a high-fat, high-carbohydrate diet on the development of arterial hypertension and kidney disease in the experiment. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):73–80. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-73-80>.

ВВЕДЕНИЕ

Факторами риска артериальной гипертензии являются возраст, ожирение и связанные патологии: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, атерогенная дислипидемия. Избыточная масса тела и ожирение в настоящее время приравниваются к мировой эпидемии и являются основными факторами целого ряда метаболических нарушений в органах и тканях,

способствующих прогрессированию инсулинерезистентности и развитию метаболического синдрома, увеличивая риск развития сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний, гиперлипидемии, неалкогольной жировой болезни печени и поражения почек [1, 2].

Весьма тревожно, что распространенность метаболического синдрома и его компонентов значительно возросла за последнее десятилетие, став про-

блемой общественного здравоохранения. Согласно многочисленным исследованиям, частота встречаемости метаболического синдрома колеблется от 7,5 до 42,2% в разных странах [3, 4], что связывают с возросшей распространностью вредных привычек (курением, перееданием и пр.) и малоподвижным образом жизни.

Мощным фактором риска развития заболеваний почек при метаболическом синдроме является не только диабетическая нефропатия и артериальная гипертензия, но и ожирение, которое, как предполагается, за счет прямого влияния окислительного стресса на почечную паренхиму приводит к хроническим заболеваниям почек и терминальной стадии почечной недостаточности [5]. Последняя представляет собой серьезную проблему, основные последствия которой включают такие сердечно-сосудистые осложнения, как артериальная гипертензия, сердечная недостаточность, инфаркт миокарда и внезапная сердечная смерть [6]. Однако механизмы повреждения почек при ожирении до сих пор остаются неясными.

Целью исследования являлось выявление структурных основ патогенеза артериальной гипертензии и поражения почек, связанных с высокоуглеводной и высокожировой диетой (ВУВЖД) и возрастом в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на самцах крыс линии Wistar массой 350–400 г в возрасте 60 сут и массой 400–600 г в возрасте 450 сут. Все процедуры соответствовали Директиве Европейского парламента 2010/63/EU и заявлению FASEB о принципах использования животных в исследованиях и образовании. Экспериментальные группы формировали следующим образом: 1-я ($n = 14$) – интактные крысы (возраст 60 сут), содержащиеся на стандартном рационе в течение 90 сут; 2-я ($n = 14$) – крысы (возраст 60 сут), содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут; 3-я ($n = 14$) – интактные крысы (возраст 450 сут), содержащиеся на стандартном рационе в течение 90 сут; 4-я ($n = 14$) – крысы (возраст 450 сут), содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут.

ВУВЖД включала 16% белков, 21% жиров, 46% углеводов, в том числе 17% фруктозы, 0,125% холестерина [7]. Вода была заменена 20%-м раствором фруктозы. Крысам 1-й и 3-й групп (интактным животным) давали стандартный корм для грызунов (белки 24%, жиры 6%, углеводы 44%) и чистую воду *ad libitum*. После окончания кормления ВУВЖД животных содержали в течение 1 нед на стандартной диете и обычной питьевой воде, чтобы исключить

осмотический компонент повышения артериального давления (АД) из-за потребления фруктозы.

Массу тела, систолическое и диастолическое АД оценивали еженедельно с помощью хвостовой плетизографии с использованием аппарата для электрофизиологических исследований MP35 (Biopac System Inc., США). Животных выводили из эксперимента путем декапитации с предварительной анестезией хлоралозой (100 мг/кг внутрибрюшно). Перед декапитацией забирали образцы крови из общей сонной артерии, непосредственно после забоя извлекали и взвешивали сердце, обе почки и висцеральный жир. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 201 от 30.07.2020).

Образцы крови центрифугировали (15 мин 3 000 об/мин), образцы сыворотки хранили в морозильной камере при -70°C . Фибронектин и TGF β -1 в сыворотке крови определяли методом ELISA наборами ab108850 и ab119558 (Abcam, США) соответственно. Образцы измеряли с помощью микропланшетного ридера Infinite 200 PRO (Tecan GmbH, Австрия).

Для гистологического исследования забирали образцы почек, которые фиксировали в 10%-м растворе нейтрального забуференного формалина и заливали в парафин по стандартной методике. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, гематоксилином и пикрофуксином по методу Ван-Гизона, реактивом Шиффа с докраской ядер гематоксилином. Иммуногистохимическую (ИГХ) реакцию проводили с использованием моноклональных антител к Ki-67 (Abcam, США). Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на световом микроскопе AxioStar plus (Carl Zeiss, Германия) при увеличении в 400 и 1 000 раз. Процент Ki-67 $^{+}$ окрашенных клеток подсчитывали в каждом сосудистом клубочке. Морфометрический анализ проводили с использованием программы для анализа и обработки изображений ImageJ (National Institutes of Health, США), подсчитывали площадь сосудистых клубочков почек и ширину полости капсулы клубочка.

Статистический анализ осуществляли с использованием пакета программ Statistica 13,0 (StatSoft Inc., США). Анализ полученных данных проводили методами описательной статистики с вычислением медианы и интерквартильного размаха Me (Q_1, Q_3) для признаков, распределение которых отличалось от нормально-го; и в виде среднего и ошибки среднего ($M \pm m$) – для нормально распределенных величин. Различия между группами определяли с помощью теста для множественных сравнений Краскела – Уоллиса. Статистически значимыми принимали различия при $p < 0,05$, при $0,05 \geq p \leq 0,06$ высказывались о тенденции.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Масса тела нарастала у экспериментальных животных 2–4-й групп по сравнению с таковой в 1-й группе (табл. 1).

Таблица 1

Масса животных, масса органов и висцерального жира крыс различного возраста при содержании на ВУВЖД, г, $M \pm m$				
Масса	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Тела	430,3 ± 5,3	481,2 ± 12,4 ¹	517,3 ± 13,0 ¹	520,0 ± 35,0 ¹
Сердца	1,39 ± 0,1	1,31 ± 0,053	1,54 ± 0,04 ^{1,2}	1,44 ± 0,1 ³
Почки	2,8 ± 0,1	2,8 ± 0,1	3,51 ± 0,2 ¹	3,05 ± 0,2 ³
Висцерального жира	8,32 ± 1,1	16,46 ± 1,6 ¹	9,91 ± 0,9	17,47 ± 3,8 ³

^{1, 2, 3} значимость различий по сравнению с 1, 2, 3, 4-й группой (здесь и в табл. 2, 3).

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: группа 1 – интактные крысы 60-дневного возраста; группа 2 – крысы 60-дневного возраста с ВУВЖД; группа 3 – интактные крысы 450-дневного возраста; группа 4 – крысы 450-дневного возраста с ВУВЖД.

При этом наблюдалось выраженное увеличение массы брюшного жира в группах с ВУВЖД по сравнению с аналогичными показателями у интактных животных разного возраста. При взвешивании сердца максимальная его масса была отмечена у 450-дневных интактных крыс, что незначительно отличалось от значений в группе 450-дневных крыс с ВУВЖД. Масса почек была значимо увеличена у животных 3-й группы по сравнению с таковой в 1-й группе.

Систолическое АД у крыс увеличивалось во 2-й группе и проявляло тенденцию к увеличению в 4-й группе животных после назначения ВУВЖД, при этом диастолическое АД нарастало только в 4-й группе (табл. 2).

Исследование сыворотки крови показало двукратное возрастание концентрации фибронектина у крыс 4-й группы (табл. 3) по сравнению с животными 1–3-й групп. Рост концентрации TGFβ-1 в сыворотке крови крыс наблюдался в 3-й и 4-й группах (см. табл. 3).

Таблица 2

Артериальное давление у крыс различного возраста при содержании на ВУВЖД, мм рт. ст., $Me (Q_1-Q_3)$				
АД	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Систолическое	129 (124–136)	141 (137–143) ¹	133 (129–136) ²	140 (135–144) ^{1,3}
Диастолическое	87 (83–89)	85 (77–89)	86 (80–88)	97 (95–101) ^{1,2,3}

Таблица 3

Концентрация фибронектина и TGFβ-1 в сыворотке крови крыс различного возраста при содержании на ВУВЖД, $M \pm m$				
Параметр	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Фибронектин, мг/дл	21,23 ± 1,55	27,58 ± 1,78	29,89 ± 2,38	43,00 ± 3,12 ^{1,2,3}
TGFβ-1, нг/мл	14,0 ± 3,0	19,1 ± 2,6	35,3 ± 5,2 ¹	31,9 ± 4,1

Гистологическое исследование почек выявило очаги выраженной периваскулярной и пери-дуктулярной лимфомоноцитарной инфильтрации стромы в 3-й группе, в просвете некоторых дистальных канальцев нефрона и собираательных трубочек наблюдались ШИК-позитивные цилиндры, при этом эпителий канальцев нефрона был уплощен или слущен в просвет. В единичных эпителиальных клетках проксимальных канальцев наблюдались гранулы липофусцина и разрушение ядра.

Морфологические изменения почек во 2-й и 4-й группах включали выраженное полнокровие как сосудистых клубочков, так и сосудов стромы с признаками застойных явлений. Во 2-й группе отмечался умеренный периваскулярный фиброз, тогда

как в 4-й группе – как периваскулярный, так и очаговый перитубулярный фиброз стромы с окружающей лимфоидной инфильтрацией, а также утолщение наружного листка капсулы почечных телец. В обеих группах с ВУВЖД наблюдалось повреждение щеточной каемки эпителиоцитов проксимальных канальцев нефрона, которое наиболее обширно было представлено в 4-й группе (рис. 1). Дистальные канальцы 4-й группы содержали ШИК-позитивные цилиндры, что сопровождалось уплощением или гибелью эпителия (рис. 2).

Количественная оценка изменений почечных клубочков показала увеличение их размеров как с возрастом, так и при назначении ВУВЖД (табл. 4). Однако площадь клубочков при назначении животным ВУВЖД была значимо ниже таковой у живот-

ных без ВУВЖД. Ширина полости капсулы клубочка, расположенного между внутренним и наружным листками капсулы почечного клубочка, также увеличивалась с возрастом животных во всех группах, при этом мочевое пространство во 2-й и 4-й группах было значимо шире такового в 1-й и 3-й группах соответственно (табл. 4).

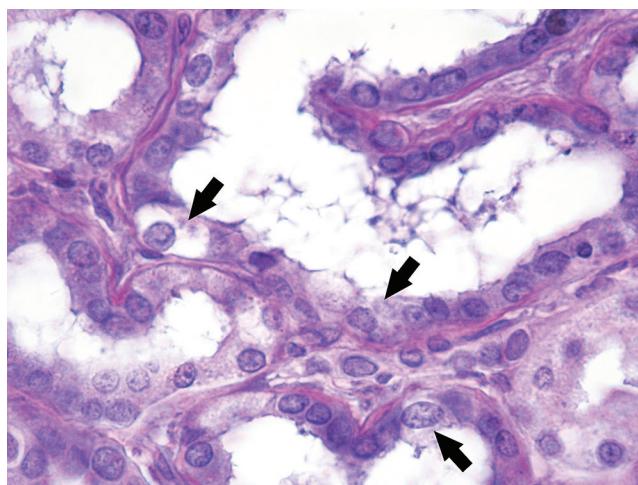


Рис. 1. Повреждение щеточной каемки эпителиоцитов проксимальных канальцев нефронов (стрелки) в почках 450-дневных крыс после назначения ВУВЖД: окраска реагентом Шиффа и гематоксилином, $\times 400$

При иммуногистохимическом окрашивании экспрессия к Ki-67 выявлялась в клетках почечных клубочек (отростчатых мезангиальных и уплощенных эндотелиальных) (рис. 3, 4). При этом было выявлено увеличение количества Ki-67⁺ окрашенных клеток, совпадавшее с увеличением возраста животных, находившихся на ВУВЖД (рис. 5).

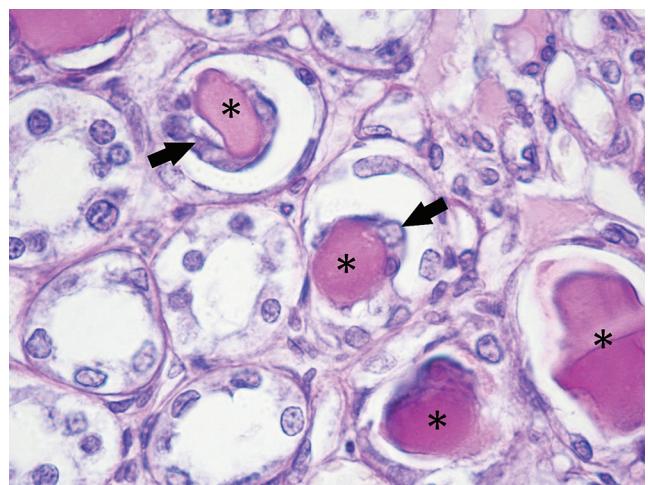


Рис. 2. SHIK-позитивные цилиндры (звездочки) и слущенные эпителиоциты (стрелки) в просвете дистальных канальцев почек 450-дневных крыс после назначения ВУВЖД: окраска реагентом Шиффа и гематоксилином, $\times 400$

Таблица 4

Площадь сосудистых клубочек и ширина в почках крыс, $\mu\text{м}^2/\text{мкм}$, $Me (Q_1-Q_3)$				
Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Площадь сосудистых клубочек, $\times 10^3$	23,54 ^{2,3} (19,94–27,21)	20,41 ^{1,4} (16,98–22,52)	27,04 ¹ (23,32–32,03)	24,71 ³ (21,67–29,32)
Ширина полости капсулы клубочка	9,36 ^{2,3} (7,59–11,77)	12,54 ^{1,4} (10,45–15,10)	12,21 ^{1,4} (9,88–15,37)	15,42 ^{2,3} (12,98–17,16)

^{1,2,3,4} значимость различий по сравнению с 1, 2, 3, 4-й группой.

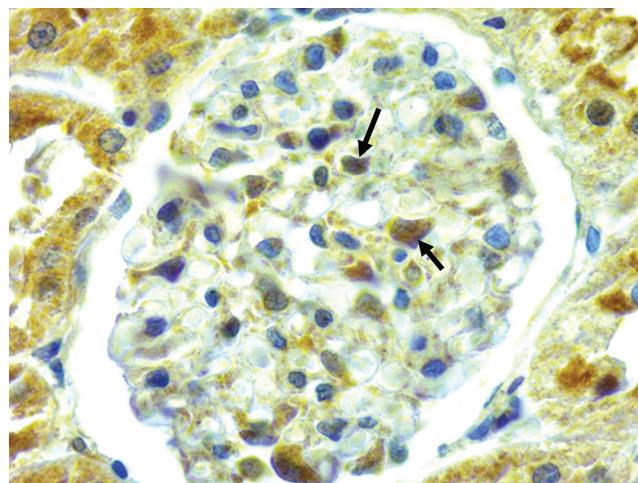


Рис. 3. Ki-67⁺ клетки (стрелки) в почечных клубочках 60-дневных интактных крыс: ИГХ окрашивание моноклональными антителами к Ki67 и гематоксилином, $\times 1000$

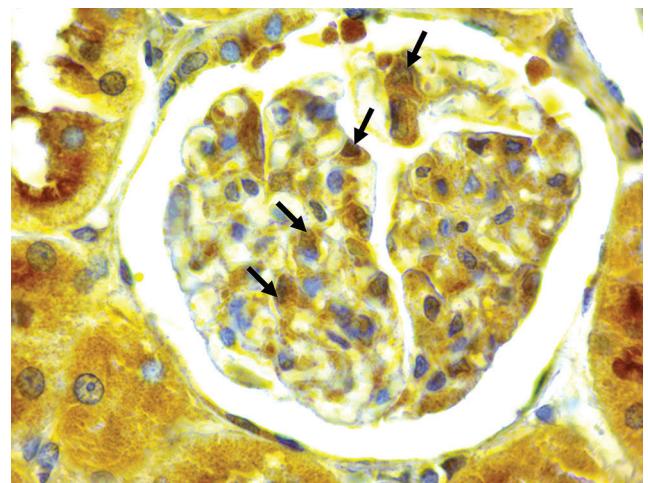


Рис. 4. Ki-67⁺ клетки (стрелки) в почечных клубочках 450-дневных крыс после назначения ВУВЖД: ИГХ окрашивание моноклональными антителами к Ki67 и гематоксилином, $\times 1000$

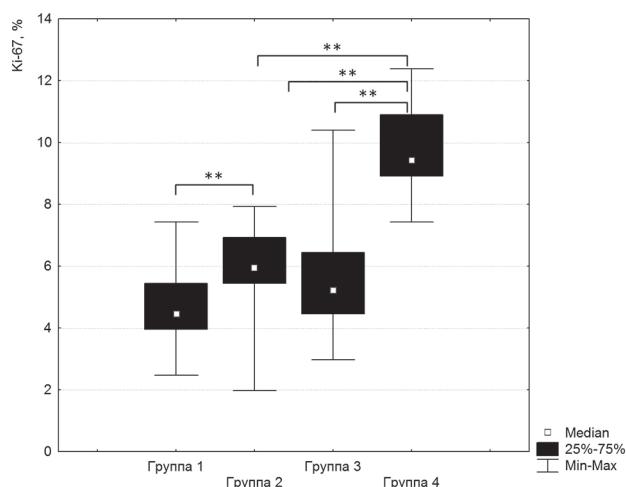


Рис. 5. Процентное содержание Ki-67+ клеток в почечных клубочках: ** отличия между группами

ОБСУЖДЕНИЕ

ВУВЖД, использованная в настоящем исследовании, соответствует так называемой диете кафетерия, которая наряду с ожирением вызывает снижение толерантности к глюкозе и инсулину, дислипидемию, увеличение перекисного окисления липидов, снижение антиоксидантной активности печени, почек и головного мозга, а также интерстициальный нефрит [8]. Увеличение массы тела, сердца и почек у 450-дневных крыс с ВУВЖД и без нее могло быть следствием не только диеты, но и возрастного увеличения массы органов, тогда как значительное нарастание массы висцерального жира у крыс, получавших ВУВЖД, очевидно, явилось лишь результатом ВУВЖД.

Изменения показателей систолического и диастолического АД у животных, находящихся на ВУВЖД, вероятно, были вызваны увеличением нагрузки на миокард, связанной с ожирением, тогда как нарастание диастолического АД является вероятным следствием нарушения в работе почек, что, возможно, привело к уменьшению массы почек у животных с ВУВЖД. Установленные нами гистологические признаки поражения почек у возрастных животных усугублялись при назначении им ВУВЖД: уменьшение площади почечных клубочков в сочетании с увеличением и утолщением капсулы клубочка, вероятно, свидетельствовало о гиперфильтрации.

Подобное негативное воздействие на структуру почки было также продемонстрировано при исследовании влияния длительного приема фруктозы с глюкозой или сахарозой [9]. Основной патофизиологический механизм негативного воздействия фруктозы связывают с побочным продуктом ее метабо-

лизма – мочевой кислотой, оказывающей прямое воздействие на эндотелиальные клетки и гладкие миоциты сосудов. При этом происходит ингибирование биодоступности эндотелиального оксида азота, активация ренин-ангиотензиновой системы, следствием чего является клубочковая гипертензия и тубулоинтерстициальное повреждение [10]. В последующем развивается сужение почечных сосудов и системная гипертензия. Последняя развивается за счет увеличения реабсорбции солей и воды, может сопровождаться также воспалением и тубулоинтерстициальными повреждениями [11].

Экспрессия маркера клеточной пролиферации Ki-67 наблюдалась нами в мезангимальных и, вероятно, эндотелиальных клетках капилляров почечных клубочков, поскольку для подоцитов не характерна пролиферация [12]. Увеличение Ki-67+ клеток в группе возрастных животных, находившихся на ВУВЖД, также может быть связано как с возрастным накоплением конечных продуктов опережающего гликирования, так и с повреждающим воздействием мочевой кислоты, которая вызывает гиперфильтрацию в почечных клубочках и гиперплазию мезангимальных клеток уже через 2 нед кормления фруктозой, как было показано в экспериментах [13, 14]. Процесс сопровождался накоплением белков внеклеточного матрикса, утолщением базальной мембранны клубочек и развитием гломеруллярной гипертензии.

Пролиферацию мезангимальных клеток и увеличение синтеза внеклеточного матрикса стимулируют α -SMA и TGF- β 1, в результате чего оба фактора были идентифицированы как ключевые медиаторы клубочковой и тубулоинтерстициальной патологии при хронических заболеваниях почек [15]. Возрастание концентрации TGF- β 1 наблюдали при нефропатии, обусловленной индуцированным сахарным диабетом у крыс [16]. Однако в нашем исследовании возрастание концентрации TGF- β 1 в сыворотке крови крыс происходило у всех 450-дневных крыс независимо от диеты.

Таким образом, этот показатель скорее ассоциирован с возрастными изменениями. Сами мезангимальные клетки могут производить белки внеклеточного матрикса, включая фибронектин, который при патологических состояниях приводит к фиброзу почек [17]. В нашем исследовании у возрастных животных, получавших ВУВЖД, увеличение экспрессии Ki-67 в мезангимальных клетках сочеталось с повышенной концентрацией TGF- β 1 и фибронектина в сыворотке крови, что также поддерживает гипотезу о развитии гломеруллярной гипертензии.

Полученные результаты сопоставимы с исследованиями, в которых была установлена взаимосвязь

между увеличением концентрации фибронектина и диабетической нефропатией [18], повышением концентрации фибронектина в плазме крови и сахарным диабетом 1-го типа [19], а также гипертензией, нефропатией [20], ожирением и триглицеридемией у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные гистологические изменения почек могут свидетельствовать об усугубляющем влиянии ВУВЖД на процессы старения и в последующем являться причиной развития артериальной гипертензии почечного генеза, связанной с нарушением нормальной структуры и функционирования почек. Полученные результаты позволяют предполагать, что сывороточная концентрация фибронектина может быть использована в качестве маркера повреждения почек при сахарном диабете у пожилых пациентов, однако это предположение нуждается в клиническом подтверждении.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Beslay M., Srour B., Méjean C., Allès B., Fiolet T., Debras C. et al. Ultra-processed food intake in association with BMI change and risk of overweight and obesity: A prospective analysis of the French NutriNet-Santé cohort. *PLoS Med.* 2020;17(8):e1003256. DOI: 10.1371/journal.pmed.1003256.
- Katsimardou A., Imprailos K., Stavropoulos K., Sachinidis A., Doumas M., Athyros V. Hypertension in metabolic syndrome: novel insights. *Curr. Hypertens. Rev.* 2020;16(1):12–18. DOI: 10.2174/1573402115666190415161813.
- Wang H.H., Lee D.K., Liu M., Portincasa P., Wang D.Q. Novel insights into the pathogenesis and management of the metabolic syndrome. *Pediatr. Gastroenterol. Hepatol. Nutr.* 2020;23(3):189–230. DOI: 10.5223/pgahn.2020.23.3.189.
- Gouveia É.R., Gouveia B.R., Marques A., Peralta M., França C., Lima A. et al. Predictors of metabolic syndrome in adults and older adults from Amazonas, Brazil. *Int. J. Environ. Res. Public. Health.* 2021;18(3):1303. DOI: 10.3390/ijerph18031303.
- La Russa D., Giordano F., Marrone A., Parafati M., Janda E., Pellegrino D. Oxidative imbalance and kidney damage in cafeteria diet-induced rat model of metabolic syndrome: effect of bergamot polyphenolic fraction. *Antioxidants (Basel).* 2019;8(3):66. DOI: 10.3390/antiox8030066.
- Kiuchi M.G., Mion D.Jr. Chronic kidney disease and risk factors responsible for sudden cardiac death: a whiff of hope? *Kidney Res. Clin. Pract.* 2016;35(1):3–9. DOI: 10.1016/j.krcp.2015.11.003.
- Бибулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Быков В.В., Смаглий Л.В., Носарев А.В. и др. Экспериментальная модель метаболического синдрома у крыс на основе высокожировой и высокоуглеводной диеты. *Бюллетень сибирской медицины.* 2020;19(4):14–20. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-14-20.
- Bonfim T.H.F.D., Tavares R.L., de Vasconcelos M.H.A., Gouveia M., Nunes P.C., Soares N.L. et al. Potentially obe-
- sogenic diets alter metabolic and neurobehavioural parameters in Wistar rats: a comparison between two dietary models. *J. Affect. Disord.* 2021;279:451–461. DOI: 10.1016/j.jad.2020.10.034.
- Kizhner T., Werman M.J. Long-term fructose intake: biochemical consequences and altered renal histology in the male rat. *Metabolism.* 2002;51(12):1538–1547. DOI: 10.1053/meta.2002.36306.
- Komnenov D., Levanovich P.E., Rossi N.F. Hypertension associated with fructose and high salt: renal and sympathetic mechanisms. *Nutrients.* 2019;11(3):569. DOI: 10.3390/nu11030569.
- Madero M., Perez-Pozo S.E., Jalal D., Johnson R.J., Sanchez-Lozada L.G. Dietary fructose and hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 2011;13(1):29–35. DOI: 10.1007/s11906-010-0163-x.
- Hurcombe J.A., Hartley P., Lay A.C., Ni L., Bedford J.J., Leader J.P. et al. Podocyte GSK3 is an evolutionarily conserved critical regulator of kidney function. *Nat. Commun.* 2019;10(1):403. DOI: 10.1038/s41467-018-08235-1.
- Kolset S.O., Reinholt F.P., Jenssen T. Diabetic nephropathy and extracellular matrix. *J. Histochem. Cytochem.* 2012;60:976–986. DOI: 10.1369/0022155412465073.
- Kim D., Li H.Y., Lee J.H., Oh Y.S., Jun H.S. Lysophosphatidic acid increases mesangial cell proliferation in models of diabetic nephropathy via Rac1/MAPK/KLF5 signaling. *Exp. Mol. Med.* 2019;51(2):1–10. DOI: 10.1038/s12276-019-0217-3.
- Hou S., Zhang T., Li Y., Guo F., Jin X. Glycyrrhizic acid prevents diabetic nephropathy by activating AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling in db/db mice. *J. Diabetes. Res.* 2017;2017:2865912. DOI: 10.1155/2017/2865912.
- Rao R.P., Jain A., Srinivasan B. Dual therapy versus monotherapy of trandolapril and telmisartan on diabetic nephropathy in experimentally induced type 2 diabetes mellitus rats. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2011;12(3):169–175. DOI: 10.1177/1470320310392097.
- Huang F., Guo Y., Wang L., Jing L., Chen Z., Lu S. et al. High glucose and TGF- β 1 reduce expression of endoplasmic reticulum-resident selenoprotein S and selenoprotein N in human mesangial cells. *Ren. Fail.* 2019;41(1):762–769. DOI: 10.1080/0886022X.2019.1641413.
- Hara M., Kusaba T., Ono K., Masuzawa N., Nakamura I., Urata N. et al. Extraglomerular vascular involvement of glomerulopathy with fibronectin deposits. *Intern. Med.* 2021;60(13):2103–2107. DOI: 10.2169/internalmedicine.6558-20.
- Klemis V., Ghura H., Federico G., Würfel C., Bentmann A., Gretz N. et al. Circulating fibronectin contributes to mesangial expansion in a murine model of type 1 diabetes. *Kidney Int.* 2017;91(6):1374–1385. DOI: 10.1016/j.kint.2016.12.006.
- Molvarec A., Szarka A., Walentin S., Szucs E., Nagy B., Rigó J.Jr. Circulating angiogenic factors determined by electrochemiluminescence immunoassay in relation to the clinical features and laboratory parameters in women with pre-eclampsia. *Hypertens. Res.* 2010;33(9):892–898. DOI: 10.1038/hr.2010.92.
- Song K.S., Kim H.K., Shim W., Jee S.H. Plasma fibronectin levels in ischemic heart disease. *Atherosclerosis.* 2001;154(2):449–453. DOI: 10.1016/s0021-9150(00)00490-1.

Благодарности

Авторы выражают благодарность А.В. Мухомедзянову, А.С. Горбунову, Н.С. Воронкову за помощь в проведении эксперимента, В.В. Иванову, Ю.Г. Бибулиной – за методическую помощь при разработке диеты.

Вклад авторов

Мустафина Л.Р. – проведение морфологического и иммуногистохимического исследования, морфометрия, статистическая обработка и интерпретация морфологических данных. Логвинов С.В. – разработка концепции, подготовка морфологической части текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации. Нарыжная Н.В. – разработка концепции и дизайна исследования, проведение исследования, подготовка текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Курбатов Б.К. – разработка дизайна исследования, проведение исследования, статистический анализ и интерпретация данных. Маслов Л.Н. – разработка концепции, подготовка текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Мустафина Лилия Рамильевна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, lrmustafina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3526-7875>

Логвинов Сергей Валентинович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, s_logvinov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9876-6957>

Нарыжная Наталья Владимировна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, natalynar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2264-1928>

Курбатов Борис Константинович – мл. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, bobersanker@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9603-822X>

Маслов Леонид Николаевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, maslov@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6020-1598>

(✉) **Мустафина Лилия Рамильевна**, lrmustafina@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.08.2021;
одобрена после рецензирования 29.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.8-008.64-02:616.132.2-008.64:616.127-005.8-036.8

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-81-86>

Влияние депрессивного расстройства на клиническую картину коронарной болезни и пятилетнюю выживаемость больных после перенесенного инфаркта миокарда

Нонка Т.Г.¹, Лебедева Е.В.^{1, 2}, Репин А.Н.¹

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, ул. Киевская, 111а

² Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить влияние депрессивных расстройств (ДР) на клиническую картину коронарной болезни и пятилетнюю выживаемость больных с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы. В исследование включены 79 больных со стенокардией напряжения II–III функциональных классов, перенесшие инфаркт миокарда давностью более 6 мес. Сформированы две группы: 1-я – 45 больных ИБС с депрессией и 2-я – 34 больных ИБС без депрессии. Клиническая картина ИБС оценивалась по результатам заполнения дневника самоконтроля стенокардии, по пробам с физической нагрузкой. Наличие и выраженность ДР определялись с помощью психометрических шкал (Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) и Шкала депрессии Бека (BDI)) и верифицировался психиатром. Информация о пятилетней выживаемости была получена методом телефонного интервью с пациентами и их родственниками.

Результаты. Больных ИБС с ДР в сравнении с пациентами без ДР чаще беспокоили ангинозные приступы в течение недели (10 [8; 14] vs 6 [4; 7], $p = 0,000004$), отмечалась большая потребность в приеме нитроглицерина (4 [0; 10] vs 0 [0; 4] таблеток, $p = 0,001$), более низкая толерантность к физической нагрузке (50 [25; 75] Вт vs 75 [50; 75] Вт ($p = 0,06$), 350 [250; 400] м vs 435 [350; 500] м ($p = 0,01$)). В первой группе пятилетняя выживаемость была значительно ниже, чем во второй (69 [62; 72] vs 71 [68; 72] мес ($p = 0,04$)), выжило (35 (77,8%) vs 32 (94,1%), отмечалось большее число летальных исходов от сердечно-сосудистых катастроф (10 (22,2%) vs 2 (5,9%)) (лог-ранг тест $p = 0,03$).

Заключение. У больных ИБС присоединение депрессии приводит к ухудшению клинического течения коронарной болезни и прогноза, что требует своевременной диагностики и коррекции ДР.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, депрессивные расстройства, инфаркт миокарда, выживаемость, летальность

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 177 от 30.10.2018).

Для цитирования: Нонка Т.Г., Лебедева Е.В., Репин А.Н. Влияние депрессивного расстройства на клиническую картину коронарной болезни и пятилетнюю выживаемость больных после перенесенного инфар-

✉ Нонка Татьяна Геннадьевна, tafiananonka@gmail.com

The effect of depressive disorder on the clinical presentation of coronary artery disease and five-year survival of patients after myocardial infarction

Nonka T.G.¹, Lebedeva E.V.^{1,2}, Repin A.N.¹

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634009, 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 assess the effect of depressive disorder (DD) on the clinical presentation of coronary artery disease (CAD) and five-year survival rate of patients with chronic CAD.

Materials and methods. The study included 79 patients with functional class II–III exertional angina who experienced myocardial infarction more than 6 months before. The patients were divided into two groups: group 1 ($n = 45$) consisted of patients with CAD and depression and group 2 ($n = 34$) encompassed patients with CAD without depression. The clinical presentation of CAD was assessed by the results of filling out the angina pectoris self-control diary and exertion tests. The presence and severity of DD were determined using psychometric scales, such as Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) and Beck Depression Inventory (BDI), and verified by the psychiatrist. Information about five-year survival was obtained via telephone interviews with the patients and their relatives.

Results. Patients with CAD and DD were characterized by more frequent episodes of angina pectoris during a week (10 [8; 14] vs 6 [4; 7], $p = 0.000004$), an increased demand for nitroglycerin (4 [0; 10] tablets vs 0 [0; 4] tablets, $p = 0.001$), and lower exercise tolerance (50 [25; 75] W vs 75 [50; 75] W ($p = 0.06$), 350 [250; 400] meters vs 435 [350; 500] meters ($p = 0.01$) than CAD patients without DD. The five-year survival rate was significantly lower in group 1 than in group 2 (69 [62; 72] vs 71 [68; 72] months ($p = 0.04$)), 35 (77.8%) vs 32 (94.1%) patients survived. In group 1, a greater number of deaths from cardiovascular accidents (10 (22.2%) vs 2 (5.9%)) was noted (log-rank test, $p = 0.03$).

Conclusion. In patients with CAD, associated depression results in aggravation of the clinical course of CAD and poor disease prognosis, which requires timely diagnosis and treatment of DD.

Keywords: coronary artery disease, depressive disorders, myocardial infarction, survival, mortality

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at the Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 177 of 30.10.2018).

For citation: Nonka T.G., Lebedeva E.V., Repin A.N. The effect of depressive disorder on the clinical presentation of coronary artery disease and five-year survival of patients after myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):81–86. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-81-86>.

ВВЕДЕНИЕ

Большой интерес в науке принадлежит двум взаимосвязанным и распространенным патологиям – ишемической болезни сердца (ИБС) и депрессивным

расстройствам (ДР). Согласно прогнозам Всемирной организации здравоохранения, коронарная болезнь и депрессия к 2030 г. станут ведущими причинами нетрудоспособности и инвалидизации в финансово развитых странах во всем мире [1, 2]. Сама по себе

депрессия способствует возникновению ИБС, одновременно с этим она чаще наблюдается и у больных с подтвержденным сердечно-сосудистым заболеванием [3] и является мощным предиктором плохого прогноза [4]. Риск смерти у больных с сердечно-сосудистой патологией прямо зависит от степени выраженности аффективного расстройства [5–7]. При коморбидности ИБС и ДР отмечается более тяжелая стенокардия и соответственно значительно снижается социальное функционирование больных [5]. ДР верифицируются у 40% пациентов после острого инфаркта миокарда, что повышает риск смерти в 3–6 раз [6].

В исследованиях доказано, что менее 30% пациентов предъявляют психологические жалобы, ведущие в дальнейшем к развитию депрессивных расстройств, в связи с чем наблюдается гиподиагностика ДР и несвоевременное назначение соответствующей терапии [8–10]. Кроме того, больные с коронарной болезнью в сочетании с аффективными расстройствами хуже выполняют рекомендации врача по здоровому образу жизни [11] и регулярному приему базовой терапии ИБС, что приводит к частым обращениям за врачебной помощью в поликлинику и госпитализациям [12]. Не вызывает сомнений актуальность изучения коморбидности ИБС и ДР, поэтому цель нашего исследования – оценить влияние ДР на клиническую картину и выживаемость больных коронарной болезнью через 5 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 79 пациентов с перенесенным инфарктом миокарда (более 6 мес назад) и стабильной стенокардией. Обследованы 45 больных со стенокардией напряжения и ДР (первая группа) и 34 больных со стенокардией напряжения без депрессии (вторая группа). Диагноз ДР выставлялся на основании анализа шкал для выявления наличия ДР (Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) и степени ее тяжести (Шкала депрессии Бека (BDI)). Повышенный уровень депрессии считался при 8 балах и более по HADS и (или) более 19 по BDI, окончательный диагноз устанавливал врач-психиатр.

Особенности клинической картины ИБС у больных с депрессиями в сравнении с больными без ДР оценивались по дневнику самоконтроля стенокардии (количество приступов стенокардии в неделю, потребность в нитроглицерине в неделю) и по пробам с физической нагрузкой (VELOЭргометрия, тест шестиминутной ходьбы). Мы использовали классификацию Канадской ассоциации кардиологов (L. Campeau, 1976) для определения функционального класса стенокардии напряжения и дополнительно

сопоставляли с результатами велоэргометрии (Вт). Продолжительность жизни больных оценивалась с момента поступления в клинику в течение 5 лет. Информация о пятилетней выживаемости была получена методом телефонного интервью с пациентами и их родственниками, анализа медицинской документации. Цензурированными пациентами считались больные, которые наблюдались до определенной точки времени (5 лет), а также пациенты, выбывшие из-под наблюдения по неизвестным причинам (контакт с ними был потерян).

За уровень статистической значимости различий принимался $p < 0,05$. Представление результатов в виде $M \pm SD$, где M – средняя, SD – ошибка средней, использовалось при подчинении количественных данных закону нормального распределения. В этом случае проверка достоверности осуществлялась с помощью t -критерия, сравнение двух зависимых выборок по какому-либо признаку – t -критерий Стьюдента. При неподчинении количественных данных закону нормального распределения для описания данных были использованы непараметрические аналоги – медиана и интерквартильный размах (Me [Q_1 ; Q_3]), критерий Манна – Уитни. Для анализа качественных переменных применялись таблицы сопряженности и критерий χ^2 . Выживаемость больных была оценена с помощью метода Каплана – Мейера и представлена графически, для оценки различий использовался лог-ранговый критерий.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Группы были сопоставимы по возрасту и полу. В 1-й группе средний возраст – $57,3 \pm 7,1$ лет; 41 мужчина и 4 женщины; во 2-й группе – $57,5 \pm 7,3$; 31 мужчина и 3 женщины ($p > 0,5$). По анамнезу, клиническим и лабораторно-инструментальным параметрам пациенты 1-й и 2-й групп не различались: давность инфаркта миокарда – 30 [6; 96] vs 24 [7; 72] мес ($p = 0,4$); стаж гипертонической болезни – 108 [24; 180] vs 90 [36; 132] мес ($p = 0,6$); количество курящих – 21 vs 15 ($p = 0,8$); перенесенное чрескожное коронарное вмешательство – 28 vs 27 ($p = 0,1$); индекс массы тела – 28,8 [25,5; 31] vs 28,9 [26; 31] кг/м² ($p = 0,8$); фракция выброса – $60,6 \pm 10,1$ vs $61,2 \pm 7,7\%$ ($p = 0,1$); уровень общего холестерина – $5,6 \pm 1,2$ vs $5,5 \pm 1,6$ ммоль/л ($p = 0,08$). Больные с депрессией и без нее также не отличались по функциональному классу стенокардии напряжения: II класс – 29 vs 26 ($p = 0,2$), III класс – 16 vs 8 ($p = 0,2$). Пациенты получали основные группы препаратов терапии стабильной стенокардии, выполняли рекомендации врача, что позволило удерживать целевые значения пульса и артериального давления: средняя частота

сердечных сокращений в сутки – 64 [61; 67] vs 65 [62; 71] в мин ($p = 0,3$); среднее суточное систолическое артериальное давление – 120 [110; 130] vs 121 [112; 124] мм рт. ст. ($p = 0,9$); среднее суточное диастолическое артериальное давление – 76 [70; 82] vs 75 [73; 78] мм рт. ст. ($p = 0,7$).

При тестировании специальными шкалами для предварительной диагностики депрессии получены следующие результаты: HADS – 8 [8; 10] vs 4 [3; 6] баллов ($p = 0,0000001$), BDI – 22 [16; 26] vs 15 [14; 19] баллов в 1-й и 2-й группах соответственно ($p = 0,0001$). В дальнейшем все больные консультировались психиатром для верификации диагноза депрессии.

Группы были сопоставимы по функциональному классу стенокардии, однако пациенты с депрессией значительно чаще жаловались на ангинозные боли: (10 [8; 14] vs 6 [4; 7] в неделю ($p = 0,000004$); и чаще нуждались в приеме нитроглицерина: 4 [0; 10] vs 0 [0; 4] таблеток ($p = 0,001$). Кроме того, больные с ДР хуже выполняли тест шестиминутной ходьбы: 350 [250; 400] vs 435 [350; 500] м ($p = 0,01$). При проведении велоэргометрии отмечена тенденция к значимо более низкой толерантности к физической нагрузке больных ИБС при наличии депрессии в сравнении с больными без депрессивной симптоматики: 50 [25; 75] vs 75 [50; 75] Вт ($p = 0,06$). Таким образом, коморбидность ДР с коронарной болезнью ухудшает течение основного заболевания.

Информация о пятилетней выживаемости была получена методом телефонного интервью с пациентами и их родственниками, а также при анализе медицинской документации. Через 5 лет наблюдения выжило 67 больных (84,8%), умерло 12 (15,1%). В группе больных коронарной болезнью в сочетании с ДР в сравнении с больными без расстройств психики выжило значительно меньше пациентов (35 (77,8%) vs 32 (94,1%)) и отмечалось большее число летальных исходов от сердечно-сосудистых катастроф (10 (22,2%) vs 2 (5,9%)) (лог-ранг тест $p = 0,03$) (рис. 1).

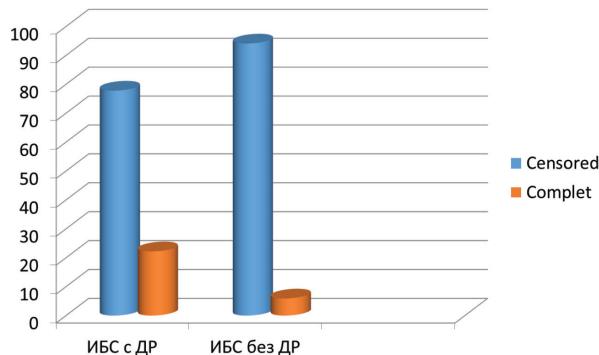


Рис. 1. Пятилетняя выживаемость больных

Выявлено значимое различие при анализе выживаемости по Каплану – Мейеру, данные представлены на рис. 2. Установлено, что в 1-й группе выживаемость была значительно ниже, чем во второй: 69 [62; 72] vs 71 [68; 72] мес ($p = 0,04$).

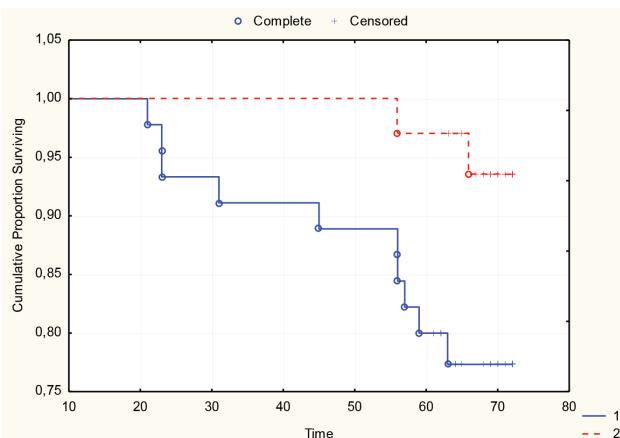


Рис. 2. Анализ выживаемости по Каплану – Мейеру у больных ИБС с ДР в сравнении с больными ИБС без ДР

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным многих крупных исследований (MONICA, Cardiovascular Health Study, INTERHEART, ENRICHD, SADHART) показано, что депрессию можно рассматривать как предиктор сердечно-сосудистых катастроф. В этих исследованиях участвовали пациенты с острым коронарным синдромом. Мы изучили особенности клинической картины коронарной болезни у больных в отдаленный период инфаркта миокарда (давностью более 6 мес) на фоне аффективного расстройства. Для скрининга депрессивных расстройств в настоящее время используются многие психометрические шкалы и тесты. Мы применяли наиболее распространенные и стандартизированные опросники, такие как BDI, HADS [13]. После тестирования пациенты были проконсультированы психиатром, верифицирован диагноз ДР средней степени тяжести. В обеих группах был диагностирован II–III функциональный класс стенокардии, но по дневникам самоконтроля обнаружено, что у пациентов на фоне ДР чаще развивались приступы стенокардии и была большая необходимость в приеме нитроглицерина. Ухудшение клинической картины ИБС у больных с ДР подтверждено объективно: при проведении велоэргометрии отмечалось снижение толерантности к физической нагрузке, при выполнении теста шестиминутной ходьбы пациенты проходили значительно меньшее расстояние. Подобные результаты о нега-

тивном влиянии ДР на течение ИБС были описаны и в ранее проведенных исследований [5, 14, 15].

В дальнейшем при анализе пятилетней выживаемости с помощью метода Каплана – Мейера нами были обнаружены достоверные различия: выживаемость больных в группе ИБС коморбидной с ДР была значительно ниже. Увеличение летальности у больных ИБС в сочетании с депрессией, вероятнее всего, связано с общими патогенетическими механизмами, усугубляющими друг друга. В частности, стресс вызывает гиперактивацию симпто-адреналовой системы, вегетативную дисфункцию, что приводит к развитию жизнеугрожающих аритмий [16–18]. Также ДР приводит к увеличению риска тромбообразования и, как следствие, к обострению ИБС [19–24]. Огромную роль в прогнозе играют и особенности поведения больных с психическими расстройствами: они не придерживаются здорового образа жизни, имеет место низкий комплайанс в отношении терапии ИБС, что существенно снижает качество жизни [14].

Таким образом, ДР значимо влияют на сердечно-сосудистые заболевания: как на клиническое течение, так и на прогноз больных. Для раннего выявления ДР необходимо, используя современные психометрические шкалы, вовремя направить больного к психиатру для раннего назначения антидепрессантов. Пристальное наблюдение таких пациентов совместной командой кардиолога и психиатра позволит повысить выживаемость больных ИБС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для больных ИБС в сочетании с депрессией характерно ухудшение клинической картины коронарной болезни и прогноза больных. Наши результаты подтверждают необходимость своевременной верификации и коррекции депрессивных расстройств. Аффективные расстройства существенно снижают отдаленную выживаемость лиц с ИБС.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Patel H., Mazur W., Williams K.A., Kalra D.K. Myocardial viability-State of the art: Is it still relevant and how to best assess it with imaging? *Trends Cardiovasc. Med.* 2018;28(1):24–37. DOI: 10.1016/j.tcm.2017.07.001.
- Khandaker G.M., Zuber V., Rees J.M.B., Carvalho L., Mason A.M., Foley C.N. et al. Shared mechanisms between coronary heart disease and depression: findings from a large UK general population-based cohort. *Molecular Psychiatry* (2019). *Molecular Psychiatr.* 2020;25(7):1477–1486. DOI: 10.1038/s41380-019-0395-3.
- Kemp A.H., Brunoni A.R., Nunes M.A. et al. The association between mood and anxiety disorders, and coronary heart disease in Brazil: a cross-sectional 11 analysis on the Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil). *Front. Psychol.* 2015;6:187. DOI: 10.3389/fpsyg.2015.00187.
- Белялов Ф.И. Депрессия, тревога и стресс у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Терапевтический архив.* 2017;89(8):104–109. DOI: 10.17116/terarkh2017898104-109.
- Лебедева Е.В., Нонка Т.Г., Репин А.Н., Шишнева Е.В., Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Левчук Л.А. Современная психокардиология. Томск: Интегральный переплет, 2019:160.
- Пушкарев Г.С., Кузнецов В.А., Фишер Я.А. и др. Влияние депрессивной симптоматики на риск смерти от всех причин у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, перенесших сердечную ресинхронизирующую терапию. *Кардиология.* 2019;59(1):5–11.
- Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Лебедева Е.В., Яковлева А.Л., Лосенков И.С., Репин А.Н., Нонка Т.Г. Клинико-динамические и биологические аспекты полиморфизма и эффективности терапии расстройств настроения. *Сибирский медицинский журнал.* 2018;33(3):86–92. DOI: 10.29001/2073-8552-2018-33-3-86-92..
- Лебедева Е.В., Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Репин А.Н., Нонка Т.Г. Клиническая характеристика аффективных расстройств и эффективность антидепрессивной терапии у больных хронической ишемической болезнью сердца. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018;17(4):85–93. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-85-93..
- Arat S., de Cock D., Moons P., Vandenberghe J., Westhovens R. Modifiable correlates of illness perceptions in adults with chronic somatic conditions: A systematic review. *Res. Nurs. Health.* 2018;41(2):173–184. DOI: 10.1002/nur.21852.
- Spurgeon L., James G., Sackley C. The Hospital Anxiety and Depression Scale: a pilot study to examine its latent structure and the link between psychological state and symptom severity in transient ischaemic attack patients. *Psychol. Health Med.* 2016;21(5):632–638. DOI: 10.1080/13548506.2015.1074711.
- Doyle F., McGee H., Conroy R. et al. Systematic Review and Individual Patient Data Meta-Analysis of Sex Differences in Depression and Prognosis in Persons With Myocardial Infarction: A MINDMAPS Study. *Psychosomatic Medicine* 2015;77(4):419–428. DOI: 10.1097/PSY.0000000000000174.
- Gasse C., Laursen T.M., Baune B.T. Major depression and first-time hospitalization with ischemic heart disease, cardiac procedures and mortality in 12 the general population: a retrospective Danish population-based cohort study. *Eur. J. Prev. Card.* 2014;21(5):532–540. DOI: 10.1177/2047487312467874.
- Ren Y., Yang H., Browning C. et al. Performance of Screening Tools in Detecting Major Depressive Disorder among Patients with Coronary Heart Disease: A Systematic Review. *Med. Sci. Monit.* 2015;21:646–653. DOI: 10.12659/MSM.892537.
- Гарганеева Н.П., Петрова М.М., Евсюков А.А. и др. Влияние депрессии на течение ишемической болезни сердца и качество жизни пациентов. *Клиническая медицина.* 2014;12:30–37.
- Чапала Т.В. Исследование депрессии у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Научно-методический электронный журнал «Концепт».* 2015;S28:31–35. URL: <http://e-koncept.ru/2015/75375.htm>

16. Boldoueva S., Shabrov A., Trofimova O., Zhuk V. The influence of psychological factors on heart rate variability after myocardial infarction. *Eur. Heart. J.* 2003;24:947. DOI: 10.1016/S0195-668X(03)94239-4.
17. Соболева Г.Н., Ерпылова Е.А., Рябыкина Г.В. и др. Влияние депрессивного состояния на показатели вариабельности ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца и коррекция выявленных нарушений с помощью терапии антидепрессантом тианептином. *Кардиология.* 2006;46(11):4–8.
18. Carney R.M., Blumenthal J.A., Stein P.K. et al. Depression, heart rate variability and acute myocardial infarction. *Circulation.* 2001;104(17):2024–2028. DOI: 10.1161/hc4201.097834.
19. Nemeroff C.B., Musselman D.L. Are platelets the link between depression and ischemic heart disease. *Am. Heart J.* 2000;140(4):5–62. DOI: 10.1067/mhj.2000.109978.

Информация об авторах

Нонка Татьяна Геннадьевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение общеклинической кардиологии и эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, tatiananonka@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7913-3732>

Лебедева Елена Владимировна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение общеклинической кардиологии и эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, lebedevaev@sibmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6117-6454>

Репин Александр Николаевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения общеклинической кардиологии и эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, ran_12@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7123-0645>

(✉) **Нонка Татьяна Геннадьевна**, tatiananonka@gmail.com

Поступила в редакцию 14.12.2021;
одобрена после рецензирования 24.12.2021;
принята к публикации 24.01.2022

УДК 618.2:577.218

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-87-95>

Экспрессия ингибиторных рецепторов PD-1, CTLA-4 и Tim-3 периферическими Т-клетками при беременности

**Сметаненко Е.А.¹, Хонина Н.А.^{1,2}, Леплина О.Ю.¹, Тихонова М.А.¹, Баторов Е.В.,
Пасман Н.М.², Черных Е.Р.¹**

¹ Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

² Новосибирский государственный университет (НГУ)
Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Ингибиторные рецепторы и их лиганды (чек-поинт молекулы) являются негативными регуляторами иммунного ответа. Однако их роль в иммунной адаптации при беременности остается малоизученной.

Цель исследования – оценить уровень экспрессии чек-поинт молекул (PD-1, CTLA-4, Tim-3) на периферических Т-клетках у беременных в сравнении с фертильными небеременными женщинами.

Материалы и методы. В исследование были включены 36 женщин во второй половине беременности без гестационных осложнений, у 12 из которых имелась экстрагенитальная патология. Контрольную группу составили 28 сопоставимых по возрасту фертильных небеременных. Относительное содержание CD8+PD-1+, CD8+TIM-3+, CD8+PD-1+TIM-3+, CD4+PD-1+, CD4+TIM-3+, CD4+PD-1+TIM-3+ Т-клеток крови оценивали методом проточной цитометрии с использованием соответствующих моноклональных антител (BD Biosciences, США).

Результаты. Относительное содержание CD4+Tim-3+ и CD8+PD-1+ Т-клеток, а также CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, коэкспрессирующих PD-1 и Tim-3 в периферической крови беременных, статистически значимо превышало аналогичные показатели у небеременных. Возрастание CD4+Tim-3+ и CD8+PD-1+ Т-клеток регистрировалось как у беременных с наличием, так и отсутствием экстрагенитальной патологии. Однако беременные с экстрагенитальной патологией отличались более высоким содержанием CD8+PD-1+ и меньшим количеством CD8+Tim-3+ клеток, а также отсутствием (характерного для беременных) возрастаания PD-1+Tim-3+ Т-клеток. Количество сопутствующих патологий прямо коррелировало с долей CD8+PD-1+ лимфоцитов и обратно – с долей CD8+Tim-3+ и CD4+PD-1+Tim-3+ клеток. Кроме того, экспрессия чек-поинт молекул ассоциировалась со сроком гестации (прямая корреляция выявлялась с содержанием CD8+Tim-3+, CD4+PD-1+Tim-3+ и CD8+PD-1+Tim-3+ клеток) и в меньшей степени с возрастом беременных (обратная зависимость с долей CD8+Tim-3+ клеток).

Заключение. Беременные во второй половине гестации характеризуются повышенной экспрессией молекул PD-1 и Tim-3 на периферических Т-клетках. При этом сопутствующая экстрагенитальная патология влияет на характер экспрессии указанных молекул.

Ключевые слова: Т-клетки, беременность, ингибиторные PD-1, TIM-3, CTLA-4 чек-поинт молекулы

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

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках научной работы НИИФКИ (тема № 122011800353-4).

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИФКИ (протокол № 107 от 15.06.2018).

Для цитирования: Сметаненко Е.А., Хонина Н.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Баторов Е.В., Пасман Н.М., Черных Е.Р. Экспрессия ингибиторных рецепторов PD-1, CTLA-4 и Tim-3 периферическими Т-клетками при беременности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):87–95. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-87-95>.

Expression of inhibitory receptors PD-1, CTLA-4, and Tim-3 by peripheral T cells during pregnancy

Smetanenko E. A.¹, Khonina N.A.¹, Leplina O.Yu.¹, Tikhonova M.A.¹, Batorov E.V.,
Pasman N.M.², Chernykh E.R.¹

¹ Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14, Yadrintsevskaya Str., Novosibirsk, 630099, Russian Federation

² Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk National Research State University
2, Pirogova Str., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Inhibitory receptors and their ligands (also called checkpoint molecules) are important feedback regulators of the immune response. However, their role in immunological adaptation during pregnancy remains poorly understood.

The aim of the study was to evaluate the level of checkpoint molecule (PD-1, CTLA-4, Tim-3) expression in peripheral T cells in pregnant women compared with fertile non-pregnant women.

Materials and methods. The study included 36 women in the second half of pregnancy without pregnancy complications, 12 of whom had extragenital pathology. The control group consisted of 28 age-matched fertile non-pregnant women. The proportion of CD8⁺PD-1⁺, CD8⁺TIM-3⁺, CD8⁺PD-1⁺TIM-3⁺, CD4⁺PD-1⁺, CD4⁺TIM-3⁺, and CD4⁺PD-1⁺TIM-3⁺ was evaluated by flow cytometry using the corresponding monoclonal antibodies (BD Biosciences, USA).

Results. The proportion of CD4⁺Tim-3⁺ and CD8⁺PD-1⁺ T cells and CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes co-expressing PD-1 and Tim-3 in the peripheral blood of pregnant women was statistically significantly higher than in non-pregnant women. An increase in CD4⁺Tim-3⁺ and CD8⁺PD-1⁺ T cells was observed both in pregnant women with and without extragenital pathology. However, pregnant women with extragenital pathology were characterized by a higher CD8⁺PD-1⁺ count and a smaller number of CD8⁺Tim-3⁺ cells, as well as by a lack of an increase in PD-1⁺Tim-3⁺ T cells typical of pregnant women. The number of comorbidities was directly correlated with the proportion of CD8⁺PD-1⁺ lymphocytes and inversely correlated with the proportion of CD8⁺Tim-3⁺ and CD4⁺PD-1⁺Tim-3⁺ cells. In addition, the expression of checkpoint molecules was associated with gestational age (a direct correlation was found with the proportion of CD8⁺Tim-3⁺, CD4⁺PD-1⁺Tim-3⁺, and CD8⁺PD-1⁺Tim-3⁺ cells) and to a lesser extent – with the age of pregnant women (an inverse relationship was found with the proportion of CD8⁺Tim-3⁺ cells).

Conclusion. Pregnant women in the second half of pregnancy are characterized by increased expression of PD-1 and Tim-3 molecules in peripheral T cells. At the same time, concomitant extragenital pathology affects the expression of these molecules.

Keywords: T cells, pregnancy, inhibitory PD-1, TIM-3, CTLA-4 checkpoint molecules

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 research project of the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (topic No.122011800353-4).

Conformity with the principles of ethics. All study participants signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at the Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Protocol No.107 of 15.06.2018).

For citation: Smetanenko E.A., Khonina N.A., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Batorov E.V., Pasman N.M., Chernykh E.R. Expression of inhibitory receptors PD-1, CTLA-4, and Tim-3 by peripheral T cells during pregnancy. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2022;21(3):87–95. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-87-95>.

ВВЕДЕНИЕ

Ингибиторные рецепторы и их лиганды, объединенные термином «ингибиторные чек-поинт молекулы», относятся к категории сигнальных молекул. Они опосредуют различные иммуносупрессорные механизмы и играют важную роль в ограничении иммунного ответа и формирование толерантности к аутоантигенам, а при патологии подавляют противоопухолевый и противоинфекционный иммунный ответ [1]. Наиболее изученными ингибиторными рецепторами на Т-клетках являются молекулы CTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4), PD-1(programmed cell deathprotein-1) и TIM-3 (T cell immunoglobulin andmucin-domaincontaining-3). Запуск сигнальных путей при взаимодействии указанных рецепторов с соответствующими лигандами (CD80/86, PD-L1, Gal-9) приводит, с одной стороны, к подавлению функций эффекторных Т-клеток и смещению баланса в сторону Th2 ответа [2, 3], а с другой – к экспансии и увеличению активности регуляторных Т-клеток (Трег) [4]. Кроме того, повышенная экспрессия и коэкспрессия чек-поинт молекул характеризует дисфункциональное состояние (Т-клеточное «истощение»), отражающее прогрессирующее снижение функциональной активности Т-лимфоцитов при переходе эффекторных Т-клеток в клетки памяти [5, 6].

Исследование экспрессии чек-поинт молекул при беременности представляет особый интерес, поскольку успешное вынашивание полуаллогенного плода требует существенной перестройки иммунной системы, направленной на индукцию толерантности к фетальным антигенам [7]. Молекулярные механизмы такой перестройки остаются недостаточно исследованными. Тем не менее динамическое изменение Th1/Th2 баланса, ограничение цитотоксического потенциала CD8+ Т-клеток, индукция Трег и недавно описанные признаки Т-клеточного истощения при неосложненной беременности позволили сделать предположение о важной роли чек-поинт молекул в адаптации иммунной системы при гестации [8]. Недавние исследования на экспериментальных животных и у человека показали, что децидуальные Т-клетки при беременности характеризуются повышенной экспрессией и ко-экспрессией CTLA-4, PD-1 и Tim-3, а локализованные в децидуальной ткани антигенпрезентирующие и стромальные клетки высоко экспрессируют лиганды этих рецепторов [8].

При этом показано, что усиление экспрессии децидуальными Т-клетками ингибиторных рецепторов может индуцироваться присутствующими на клетках трофобласта молекулами HLA-C и HLA-G [9]. В то же время данные по экспрессии ингибиторных молекул на периферических Т-клетках и их роли при беременности остаются малоизученными и неоднозначными. Между тем следует отметить, что фетальные антигены, попадающие с током крови в лимфоузлы и селезенку, могут активировать Т-клетки, поэтому состояние толерантности должно поддерживаться не только на локальном, но и системном уровне.

Индукторами экспрессии ингибиторных рецепторов на циркулирующих Т-клетках могут быть интерлейкин-10, прогестерон и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [3, 10]. Проведенные нами исследования также показали, что одним из модуляторов функций активированных Т-клеток, способных, в том числе, усиливать экспрессию чек-поинт молекул, является плацентарный фактор роста (PlGF), концентрация которого при беременности резко возрастает [11].

Учитывая эти факты, мы предположили, что экспрессия чек-поинт молекул на периферических Т-клетках при беременности может также меняться, являясь отражением перестройки иммунной системы на системном уровне. Проверка этой гипотезы явилась целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 36 беременных женщин без гестационных осложнений, проходивших обследование в ГБУЗ ГКБ № 1, и 28 fertильных небеременных женщин (табл. 1). Исследование выполнено в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками в 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденной приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Возраст женщин в группе с неосложненной беременностью варьировал от 18 до 45 лет ($Me = 27$ лет) и достоверно не отличался от такового в группе fertильных небеременных (22–45 лет, $Me = 31$ год; $p_U = 0,11$). Срок гестации 26–40 нед, $Me = 36$ нед.

У 20 (55,6%) женщин беременность была первой, у 16 (44,4%) – повторной.

Наличие сопутствующей экстрагенитальной патологии (артериальная гипертензия, в том числе гестационная; отеки беременных; сахарный диабет, в том числе гестационный; ожирение; патология гемостаза; заболевания щитовидной железы, гипотиреоз в анамнезе; хронические заболевания почек вне обострений) выявлялось у 12 из 36 (33,3%) беременных. Сахарный диабет регистрировался в 58,3% (7/12) случаев, артериальная гипертензия и ожирение отмечались у 33,3% (4/12) женщин, патология гемостаза – 25% (3/12) и заболевания щитовидной железы в анамнезе – 16,6% (3/12). Отеки беременных наблюдались у 33,3% (4/12) и хронический пиелонефрит у 8,3% (1/12) женщин. Наличие одновременно четырех патологий регистрировалось у одной беременной (8,3%), трех патологий – четырех пациенток (33,3%) и двух патологий – двух беременных (16,7%). В остальных пяти случаях отмечалось наличие одной экстрагенитальной патологии. На момент обследования сопутствующие хронические заболевания были в стадии компенсации. Все беременности у женщин в данном исследовании были однoplодными. Ни у одной из беременных не регистрировалось наступление активной родовой деятельности во время обследования и забора крови.

Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли стандартным методом центрифugирования цельной гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фиколла – верографина ($\rho = 1,078$). Лизис эритроцитов проводили раствором VersaLyse (Beckman Coulter, Франция) в соответствии с инструкцией. Методом проточной цитометрии оценивали относительное содержание CD8+CTLA-4+, CD8+PD-1+, CD8+TIM-3+, CD8+PD-1+TIM-3+, CD4+CTLA-4+, CD4+PD-1+, CD4+TIM-3+, CD4+PD-1+TIM-3+ Т-клеток крови, используя анти-CD8 (FITC), анти-CD4 (FITC, PerCP), анти-CTLA-4 (PE), анти-PD-1 (APC), анти-TIM-3 (PE, PerCP/Cy 5.5) моноклональные антитела (BD Biosciences, США). Исследование проводили по общепринятой методике с использованием параметров прямого и бокового светорассеяния и флуоресценции по каналам FL-1 (FITC), FL-2 (PE), FL-3 (PerCP, PerCP/Cy 5.5, PE-Cy 5), FL-4 (APC) (BD FACSCalibur, Cell Quest Software, США). Основное внимание было уделено оценке PD-1 – экспрессирующих Т-клеток, содержание которых в субпопуляциях CD4+ и CD8+ клеток исследовали у всех 36 беременных и 28 фертильных небеременных контрольной группы. Кроме того, у значительной части обследуемых была проанализирована экспрессия молекул CTLA-4 (18 беременных

и 20 небеременных) и Tim-3 (19 беременных и 26 небеременных), а также коэкспрессия молекул PD-1 и Tim-3 (14 беременных и 16 небеременных).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США) и GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., США). Для оценки значимости различий между двумя независимыми группами использовали *U*-критерий Манна – Уитни. Для выявления значимых различий в парных выборках использовали *W*-критерий Вилкоксона парных выборок. Для оценки корреляционных взаимосвязей использовали коэффициент корреляции Спирмена (R_s). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона $Me (Q_1 - Q_3)$. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ (двустороннем).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ относительного содержания PD-1+ клеток в субпопуляции CD4+ лимфоцитов не выявил значимых различий между группой беременных и фертильных небеременных (рис.). В то же время процентное содержание PD-1+ клеток в субпопуляции CD8+ лимфоцитов беременных в 2,4 раза превышало аналогичный показатель в группе небеременных. При этом доля PD-1+ клеток в субпопуляции CD4+ лимфоцитов была существенно выше, чем в популяции CD8+ лимфоцитов. Это проявлялось в виде выраженной тенденции в группе небеременных ($p_w = 0,09$) и статистически значимых различий в группе беременных ($p_w = 0,004$). Исследование экспрессии CTLA-4 не выявило различий в содержании CD4+CTLA-4+ и CD8+CTLA-4+ лимфоцитов в сравниваемых группах ($p_w = 0,16$ и $p_w = 0,19$ соответственно). В то же время оценка Tim-3+ клеток выявила 5-кратное возрастание доли Tim-3+ клеток в популяции CD4+ лимфоцитов беременных по сравнению с группой небеременных.

Содержание Tim-3+ клеток среди CD8+ лимфоцитов в сравниваемых группах не различалось (см. рис.). Учитывая возрастание экспрессии PD-1+ и Tim-3+ на Т-клетках, представлялось важным исследовать коэкспрессию данных молекул. Доля PD-1+Tim-3+ клеток в субпопуляции CD4+ лимфоцитов у беременных в 5 раз превышала аналогичный показатель в контрольной группе. Аналогично, относительное количество CD8+ клеток, коэкспрессирующих PD-1 и Tim-3 у беременных, было в 2,3 раза выше, чем у небеременных.

Следует отметить, что, несмотря на отсутствие поздних гестационных осложнений и, в первую очередь преэклампсии, женщины с неосложнен-

ной гестацией различались по наличию сопутствующих экстрагенитальных заболеваний, которые выявлялись у трети беременных (см. материалы и методы). Чтобы выяснить, насколько усиление экспрессии ингибиторных рецепторов на Т-клетках

связано с коморбидностью, на следующем этапе сравнили содержание Т-клеток, экспрессирующих чек-поинт молекулы, в группах беременных с наличием и отсутствием экстрагенитальной патологии (табл. 1).

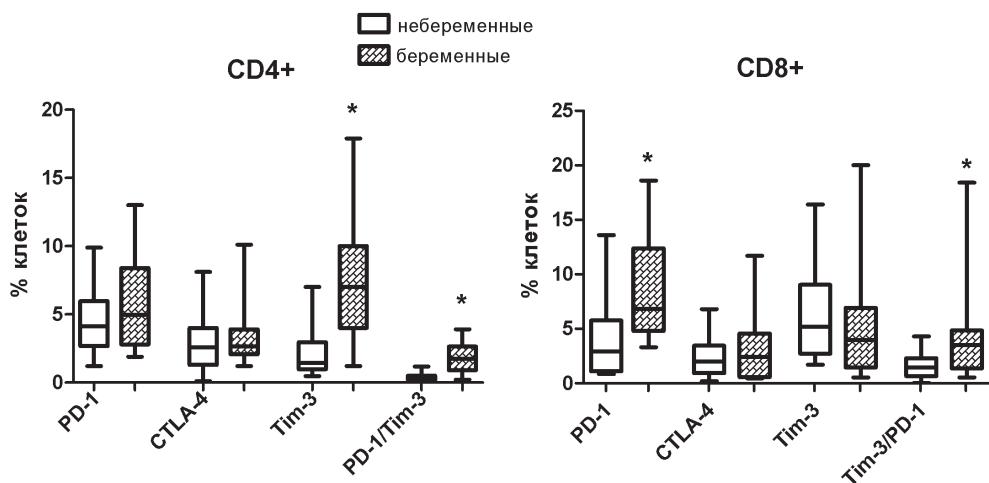


Рисунок. Содержание Т-клеток, несущих чек-поинт молекулы среди CD4+ и CD8+ лимфоцитов, экспрессирующих ингибиторные рецепторы, у беременных с неосложненной гестацией и фертильных небеременных, Me (Q_1-Q_3)

Таблица 1

Экспрессия ингибиторных рецепторов в субпопуляциях Т-клеток у беременных с наличием и (или) отсутствием коморбидных состояний, Me (Q_1-Q_3)			
Параметр	Фертильные небеременные	Беременные с отсутствием экстрагенитальной патологии	Беременные с наличием экстрагенитальной патологии
<i>Клинические параметры</i>		<i>n</i> = 24	<i>n</i> = 12
Возраст, лет		26 (20–32)	29 (26–33)
Срок гестации, нед		34 (32–37)	35 (32–37)
Гравидность, кол-во раз		1 (1–3)	1,5 (1–2)
Паритет родов, кол-во раз		1 (1–1)	1 (1–2)
<i>Субпопуляции Т-клеток, %</i>			
CD4+PD-1+	4,1 (3,0–5,9) <i>n</i> = 28	4,8 (3,0–7,4) <i>n</i> = 24	6,6 (2,5–9,6) <i>n</i> = 12
CD4+CTLA-4+	2,6 (1,3–4,0) <i>n</i> = 20	3,8 (2,0–4,0) <i>n</i> = 10	2,4 (2,1–2,8) <i>n</i> = 8
CD4+Tim-3+	1,4 (1,0–2,9) <i>n</i> = 24	6,5 (1,6–8,6)* <i>n</i> = 14	9,7 (6,9–13)* <i>n</i> = 5
CD8+PD-1+	2,9 (1,1–5,9) <i>n</i> = 26	5,8 (4,7–8,3)* <i>n</i> = 24	10 (6,9–15)** <i>n</i> = 12
CD8+CTLA4+	2,0 (0,9–3,4) <i>n</i> = 20	1,2 (0,5–4,0) <i>n</i> = 10	3,4 (1,3–5,5) <i>n</i> = 8
CD8+Tim-3+	5,3 (2,5–9,2) <i>n</i> = 26	5,8 (2,3–19) <i>n</i> = 14	1,1 (0,6–1,9)** <i>n</i> = 5
CD4+PD1+Tim3+	0,35 (0,19–0,5) <i>n</i> = 16	2,1 (1,6–2,8)* <i>n</i> = 10	0,27 (0,18–1,5) <i>n</i> = 4
CD8+PD1+Tim3+	1,5 (0,7–2,3) <i>n</i> = 16	3,9 (2,2–4,5)* <i>n</i> = 10	0,8 (0,6–3,5) <i>n</i> = 4

* $p_U < 0,05$ – статистическая значимость различий с небеременными; ** $p_U < 0,05$ – статистическая значимость различий между беременными с наличием и отсутствием экстрагенитальной патологии.

Анализ клинических параметров не выявил статистически значимых различий между беременными сравниваемых групп по возрасту, срокам гестации, гравидности и паритету родов. Показано, что характерное для беременности возрастание CD4+Tim3+ и CD8+PD-1+ клеток выявлялось в обеих группах, однако в группе с экстрагенитальной патологией

было более выраженным, на что указывало более высокое содержание CD8+PD-1+ клеток ($p_U = 0,03$) и тенденция к большему содержанию CD4+Tim-3+ клеток ($p_U = 0,1$) по сравнению с беременными без сопутствующей патологией. В то же время возрастание CD4+ и CD8+T-клеток, коэкспрессирующих PD-1 и Tim3, наблюдалось только у беременных без

сопутствующей патологии, а в группе с коморбидностью не выявлялось. Другой особенностью беременных с экстрагенитальной патологией было снижение CD4+Tim-3+ клеток как в сравнении с небеременными, так и группой беременных без сопутствующей патологии.

Учитывая, что количество экстрагенитальных патологий у различных женщин варьировало от 0 до 4, также исследовали зависимость между экспрессией Т-клетками чек-поинт молекул и количеством сопутствующих патологий, приходящихся на одну беременную (табл. 2).

Таблица 2

Корреляционная зависимость (Rs) экспрессии чек-поинт молекул с количеством сопутствующих заболеваний, возрастом и сроком гестации			
Субпопуляция	Количество коморбидностей	Возраст	Срок гестации
CD4+PD-1+, n = 36	0,25 (0,14)	-0,08 (0,64)	0,19 (0,26)
CD4+CTLA-4+, n = 18	-0,19 (0,44)	0,04 (0,86)	0,06 (0,81)
CD4+Tim-3+, n = 19	34 (0,15)	-0,23 (0,33)	-0,34 (0,14)
CD8+PD-1+, n = 36	0,37 (0,02)	-0,004 (0,86)	-0,23 (0,18)
CD8+CTLA-4+, n = 18	0,2 (0,42)	-0,04 (0,86)	-0,01 (0,95)
CD8+Tim-3+, n = 19	-0,58 (0,01)	-0,43 (0,06)	0,5 (0,03)
CD4+ PD-1+Tim-3+, n = 14	-0,57 (0,03)	0,05 (0,87)	0,54 (0,04)
CD8+ PD-1+Tim-3+, n = 14	0,51 (0,06)	-0,42 (0,10)	0,61 (0,02)

Примечание. В скобках указана достоверность корреляционной связи.

Относительное содержание CD8+PD-1+ клеток находилось в прямой корреляционной связи с количеством экстрагенитальных заболеваний, тогда как доля CD8+Tim-3+ клеток обратно коррелировала с количеством коморбидностей. Между содержанием PD-1+Tim-3+T-клеток и количеством экстрагенитальных заболеваний также выявлялась обратная зависимость, которая достигала статистической значимости в отношении CD4+PD-1+Tim-3+ клеток и проявлялась в виде выраженной тенденции в отношении CD8+PD-1+Tim-3+ клеток.

Поскольку включенные в исследование беременные характеризовались достаточно широким возрастным диапазоном (18–45 лет) и сроком гестации 26–40 нед, мы также исследовали сопряженность указанных факторов с экспрессией Т-клетками чек-поинт молекул. Как видно из данных табл. 2, достоверных корреляционных связей между относительным содержанием Т-клеток, экспрессирующих молекулы PD-1, CTLA-4 и Tim-3, и возрастом не выявлялось. Тем не менее отмечалась выраженная тенденция к обратной зависимости между возрастом и экспрессией Tim-3, а также коэкспрессией PD-1 и Tim-3 на цитотоксических CD8+ клетках. В то же время относительное содержание CD8+Tim-3+ клеток и CD4+ и CD8+ клеток, коэкспрессирующих PD-1 и Tim-3, прямо коррелировало со сроком гестации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Активация иммуносупрессорных механизмов прослеживается с момента имплантации эмбриона и на протяжении всего гестационного периода. Одна-

ко участие ингибиторных рецепторов в реализации указанных механизмов при беременности, особенно на системном уровне, остается малоизученным.

Проведенные исследования показали, что женщины во второй половине неосложненной гестации характеризуются повышенным содержанием в циркуляции CD4+Tim-3+ и CD8+PD-1+ T-клеток, а также CD4+ и CD8+ T-лимфоцитов, коэкспрессирующих PD-1 и Tim-3 по сравнению с фертильными небеременными, что свидетельствует об усиении экспрессии ингибиторных рецепторов на периферических Т-клетках при беременности. Повышенная экспрессия ингибиторных рецепторов при беременности описана на децидуальных Т-клетках. При этом показано, что CD4+PD-1+TIM-3+ T-лимфоциты обладают Th2 фенотипом [12], и активация PD-1/PD-L1 сигнального пути подавляет продукцию Th1 цитокинов [13]. В свою очередь, повышенная экспрессия чек-поинт молекул на децидуальных CD8+ T-клетках обсуждается в качестве одного из механизмов снижения цитотоксического потенциала CD8+ лимфоцитов [12, 14–16]. Так, в исследований *in vitro* взаимодействие TIM-3– и PD-1 с соответствующими лигандами подавляет цитотоксическую активность CD8+T-клеток, что может обеспечивать толерантность к фетальным антигенам [17, 18]. Так было описано присутствие в децидуальной ткани беременных CD4+ и CD8+ T-клеток с фенотипом эффекторных Т-клеток памяти, коэкспрессирующих PD-1 и Tim-3, и впервые идентифицировали их как Т-клетки в состоянии истощения [4]. Однако ранее Т-клетки с аналогичным фенотипом на начальных

сроках беременности были описаны рядом авторов как Т-клетки с регуляторной (Th2) активностью [2].

Данные об экспрессии чек-поинт молекул на периферических Т-клетках представлены единичными публикациями. J. Zhao и соавт. не выявили возрастания Tim-3 на CD3+ Т-лимфоцитах беременных [19]. M. Meggyes и соавт. в своих исследованиях также не обнаружили различий между содержанием CD8+Tim-3+ у беременных и небеременных, однако CD8+TIM-3+ клетки беременных во всех триместрах продуцировали меньше провоспалительных цитокинов (TNF α , IFN γ) в сравнении с CD8+TIM-3 – клетками небеременных [20].

Позднее было показано, что содержание CD4+ и CD8+ Т-клеток, экспрессирующих молекулу PD-1 в III триместре беременности, также не отличалось от такового у небеременных [21]. Эти результаты совпадают с нашими данными об отсутствии различий в содержании CD4+PD-1+ и CD8+TIM-3+ клеток между беременными и небеременными, однако, расходятся в отношении CD4+TIM-3+ и CD8+PD-1+ Т-клеток, содержание которых, по нашим данным, при беременности возрастает. При этом нами впервые исследованы Т-клетки, коэкспрессирующие TIM-3 и PD-1, и показано возрастание их относительного количества в субпопуляциях CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов при беременности. Имеющиеся расхождения с данными зарубежных авторов могут быть обусловлены различиями в когортах обследуемых беременных, а также проведением цитометрического анализа в зарубежных исследованиях в популяциях криоконсервированных клеток.

Вторым важным выводом настоящего исследования являются результаты анализа экспрессии чек-поинт молекул на Т-клетках беременных в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующей экстрагенитальной патологии. Возрастание Т-клеток, экспрессирующих PD-1 и Tim-3, в обеих группах свидетельствует о том, что усиление экспрессии ингибиторных рецепторов на периферических Т-клетках является следствием гестации, а не коморбидности. С одной стороны, данный фрагмент исследований показал, что наличие коморбидной патологии влияет на характер экспрессии ингибиторных молекул и ассоциировано с более выраженным увеличением CD8+PD-1+ клеток (в сравнении с беременными без сопутствующей патологии). С другой стороны, коморбидность связана с меньшим содержанием CD8+Tim-3+ и отсутствием (характерного для беременных без коморбидности) возрастания Т-клеток, коэкспрессирующих молекулы PD-1 и Tim-3. Дополнительным подтверждением сопряженности между коморбидностью и экспрессией чек-поинт молекул являются выявленные корреля-

ции между количеством сопутствующих патологий и экспрессией PD-1 и Tim-3 (прямая корреляции с долей CD8+PD-1+ и обратная – с долей CD8+Tim-3+ и CD4+PD-1+Tim-3+ клеток).

Согласно данным литературы, сопутствующие экстрагенитальные заболевания, многие из которых связаны с хроническим воспалением, могут значительно осложнять течение гестации и в ряде случаев приводить к материнской смертности [22, 23]. Полученные нами результаты демонстрируют, что сопутствующая экстрагенитальная патология привносит свой вклад, оказывая влияние на экспрессию Т-клетками чек-поинт молекул. При этом разнонаправленная зависимость между количеством сопутствующих патологий с субпопуляциями CD8+PD1+ клеток (положительная связь) и CD8+Tim3+ клеток (отрицательная связь) может свидетельствовать о различной роли молекул PD-1 и Tim-3 в регуляции функций CD8+ клеток при беременности.

Также в настоящей работе впервые показано, что экспрессия ингибиторных рецепторов на циркулирующих Т-клетках беременных ассоциирована с возрастом женщин и сроком гестации. Причем из трех анализируемых ингибиторных рецепторов сопряженность с возрастом и гестационным сроком выявлялась только для молекулы Tim-3 и была наиболее выраженной в отношении экспрессии Tim-3+ на CD8+ клетках. Согласно полученным данным, более высокое содержание Tim-3+ Т-клеток регистрировалось у более молодых беременных и на больших сроках гестации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о повышенной экспрессии ряда ингибиторных рецепторов на периферических Т-клетках при беременности и обосновывают целесообразность дальнейшего исследования чек-поинт молекул в качестве потенциальных биомаркеров при осложненной гестации.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Schnell A., Bod L., Madi A. et al. The yin and yang of co-inhibitory receptors: toward anti-tumor immunity without autoimmunity. *Cell Res.* 2020;30:285–299. DOI: 10.1038/s41422-020-0277-x.
- Wang S., Chen C., Sun F., Li M., Du M., Li X. et al. Involvement of the Tim-3 pathway in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Reprod. Sci.* 2021; 28(12):333–13340. DOI: 10.1007/s43032-021-00675-3.
- Li W.X., Xu X.H., Jin L.P.J. Regulation of the innate immune cells during pregnancy: an immune checkpoint perspective. *Cell Mol. Med.* 2021;25(22):10362–10375. DOI: 10.1111/jcmm.17022.

4. Mittelberger J., Seefried M., Franitz M., Garrido F., Ditsch N., Jeschke U. et al. The role of the immune checkpoint molecules PD-1/PD-L1 and TIM-3/Gal-9 in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(2):157. DOI: 10.3390/medicina58020157.
5. Slutsky R., Romero R., Xu Y., Galaz J., Miller D., Done B. et al. Exhausted and senescent T cells at the maternal-fetal interface in preterm and term labor. *J. Immunol. Res.* 2019;2019:3128010. DOI: 10.1155/2019/3128010.
6. Verdon D.J., Mulazzani M., Jenkins M.R. Cellular and molecular mechanisms of CD8+ T cell differentiation, dysfunction and exhaustion. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(19):7357. DOI: 10.3390/ijms21197357.
7. Abu-Raya B., Michalski C., Sadarangani M., Lavoie P.M. Maternal immunological adaptation during normal pregnancy. *Front. Immunol.* 2020;11:575197. DOI: 10.3389/fimmu.
8. Miko E., Meggyes M., Doba K., Barakonyi A., Szereday L. Immune checkpoint molecules in reproductive immunology. *Front. Immunol.* 2019;18(10):846. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00846.
9. Papúchová H., Meissner T.B., Li Q., Strominger J.L., Tilburgs T. The dual role of HLA-C in tolerance and immunity at the maternal-fetal interface. *Front. Immunol.* 2019;10:2730. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02730.
10. Wherry E.J., Kurachi M. Molecular and cellular insights into Tcell exhaustion. *Nat. Rev. Immunol.* 2015;15(8):486–499.
11. Сметаненко Е.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Пасман Н.М., Останин А.А., Черных Е.Р. Фактор роста плаценты модулирует ответ активированных *in vitro* Т-клеток. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(4):158–166. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-158-166.
12. Wang S., Zhu X., Xu Y., Zhang D., Li Y., Tao Y. et al. Programmed cell death-1 (PD-1) and T-cell immunoglobulin mucin-3 (Tim-3) regulate CD4+ T cells to induce Type 2 helper T cell (Th2) bias at the maternal-fetal interface. *Hum. Reprod.* 2016;31(4):700–711. DOI: 10.1093/humrep/dew019.
13. Taglauer E.S., Trikhacheva A.S., Slusser J.G., Petroff M.G. Expression and function of PDCD1 at the human maternal-fetal interface. *Biol. Reprod.* 2008;79:562–569. DOI: 10.1095/biolreprod.107.066324.
14. Powell R.M., Lissauer D., Tamblyn J., Beggs A., Cox P., Moss P. et al. Decidual T cells exhibit a highly differentiated phenotype and demonstrate potential fetal specificity and a strong transcriptional response to IFN. *J. Immunol.* 2017;199(10):3406–3417. DOI: 10.4049/jimmunol.1700114.
15. Morita K., Tsuda S., Kobayashi E., Hamana H., Tsuda K., Shima T. et al. Analysis of TCR repertoire and PD-1 expression in decidual and peripheral CD8+ T cells reveals distinct immune mechanisms in miscarriage and preeclampsia. *Front. Immunol.* 2020;11:1082. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01082.
16. Van der Zwan A., Bi K., Norwitz E.R., Crespo A.C., Claas F.H.J., Strominger J.L. et al. Mixed signature of activation and dysfunction allows human decidualCD8(+) T cells to provide both tolerance and immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2018;115(2):385–390. DOI: 10.1073/pnas.1713957115.
17. Meggyes M., Miko E., Szigeti B., Farkas N., Szereday L. The importance of the PD-1/PD-L1 pathway at the maternal-fetal interface. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019;19(74). DOI: 10.1186/s12884-019-2218-6.
18. Meggyes M., Miko E., Lajko A., Csiszar B., Sandor B., Matrai P. et al. Involvement of the PD-1/PD-L1 co-inhibitory pathway in the pathogenesis of the inflammatory stage of early-onset preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(3):583. DOI: 10.3390/ijms20030583.
19. Zhao J., Lei Z., Liu Y., Li B., Zhang D., Fang H. et al. Human pregnancy up-regulates Tim-3 in innate immune cells for systemic immunity. *J. Immunol.* 2009;182(10):6618–6624. DOI: 10.4049/jimmunol.0803876.
20. Meggyes M., Miko E., Polgar B., Bogar B., Farkas B., Illes Z. et al. Peripheral blood TIM-3 Positive NK and CD8+ T cells throughout pregnancy: TIM-3/Galectin-9 interaction and its possible role during pregnancy. *PLoS One.* 2014;9(3):e92371. DOI: 10.1371/journal.pone.0092371.
21. Meggyes M., Nagy D.U., Szereday L. Investigation of the PD-1 and PD-L1 immune checkpoint molecules throughout healthy human pregnancy and in nonpregnant women. *J. Clin. Med.* 2020;9(8):2536. DOI: 10.3390/jcm9082536.
22. Lewandowska M., Więckowska B., Sajdak S., Lubiński J. Pre-pregnancy obesity vs. other risk factors in probability models of preeclampsia and gestational hypertension. *Nutrients.* 2020;12(9):2681. DOI: 10.3390/nu12092681.
23. Kilpatrick S.J., Abreo A., Greene N., Melsop K., Peterson N., Shields L.E. et al. Severe maternal morbidity in a large cohort of women with acute severe intrapartum hypertension. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016;215(1):91.e1–7. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.01.176.

Вклад авторов

Сметаненко Е.А. – отбор пациентов, анализ клинических данных, подготовка текста статьи. Баторов Е.В., Тихонова М.А. – пробоподготовка и анализ экспрессии чек-поинт молекул на проточном цитометре. Леплина О.Ю. – анализ и интерпретация данных. Хонина Н.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи. Пасман Н.М. – разработка концепции, подготовка текста статьи. Черных Е.Р. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Сметаненко Екатерина Александровна – аспирант, НИИФКИ, г. Новосибирск, alekta5@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6585-3213>

Хонина Наталья Алексеевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФКИ; профессор, Институт медицины и психологии В. Зельмана, НГУ, г. Новосибирск, nkhonina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6757-3896>

Леплина Ольга Юрьевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФКИ, г. Новосибирск, oleplina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3169-8643>

Тихонова Марина Александровна – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФКИ, г. Новосибирск, martix59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2366-1667>

Баторов Егор Васильевич – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФКИ, г. Новосибирск, ebatorov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2902-9336>

Пасман Наталья Михайловна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии, Институт медицины и психологии В. Зельмана, НГУ, г. Новосибирск, nmpasman@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6095-1954>

Черных Елена Рэмонва – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией клеточной иммунотерапии, НИИФКИ, г. Новосибирск, ct_lab@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2346-6279>

(✉) Хонина Наталья Алексеевна, nkhonina@mail.ru

Поступила в редакцию 16.05.2022;
одобрена после рецензирования 07.06.2022;
принята к публикации 16.06.2022

УДК 616.24-006.6:616.329-006.61
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-96-104>

Белки sPD-1/sPD-L1 при немелкоклеточном раке легкого и плоскоклеточном раке пищевода

Стилиди И.С.¹, Ковалева О.В.¹, Грачев А.Н.¹, Чевкина Е.М.¹, Подлесная П.А.¹,
Царапаев П.В.¹, Сулейманов Э.А.², Кушлинский Н.Е.¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии им. Н.Н. Блохина
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24

² Российский университет дружбы народов (РУДН)
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 21/3

РЕЗЮМЕ

Введение. Активное внедрение иммунотерапии в клиническую онкологическую практику позволило значительно улучшить результаты лекарственного лечения опухолей. Это привело к необходимости поиска новых маркеров, с помощью которых можно оценить эффективность проводимой терапии и прогноз заболевания.

Цель исследования – анализ содержания растворимых форм белков контрольных точек иммунитета sPD-1 и PD-L1 в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого и плоскоклеточным раком пищевода, а также их ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками заболевания и прогнозом.

Материалы и методы. В исследование включены образцы опухолей от 43 пациентов с немелкоклеточным раком легкого и 21 пациента с плоскоклеточным раком пищевода. Концентрацию sPD-L1 и sPD-1 определяли в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа. Для определения статистически значимых различий в независимых группах использовали критерий Манна – Уитни. Корреляционный анализ проводили с помощью определения коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Анализ общей выживаемости – путем построения кривых дожития по методу Каплана – Мейера и с использованием модели пропорциональных рисков Кокса. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты. Показано, что sPD-1 и sPD-L1 обнаруживаются в сыворотке крови как у пациентов с онкологическими заболеваниями, так и здоровых доноров, и их концентрации значимо не отличаются. Показано, что высокая концентрация sPD-L1 в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого значимо ассоциирована с поздней стадией заболевания и является независимым неблагоприятным прогностическим фактором. Необходимо отметить, что для пациентов с раком пищевода неблагоприятным прогностическим маркером является высокое содержание растворимой формы рецептора PD-1, а не его лиганда PD-L1, как для рака легкого.

Выводы. Содержание в сыворотке крови sPD-1 и sPD-L1 может иметь различное прогностическое значение для злокачественных опухолей различных нозологий, и необходимость его анализа для клинического применения требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: sPD-1, sPD-L1, иммунотерапия, немелкоклеточный рак легкого, рак пищевода, прогноз

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 20-015-004790).

✉ Ковалева Ольга Владимировна, ovkovleva@gmail.com

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом (НМИЦ) онкологии им. Н.Н. Блохина.

Для цитирования: Стилиди И.С., Ковалева О.В., Грачев А.Н., Чевкина Е.М., Подлесная П.А., Царапаев П.В., Сулейманов Э.А., Кушлинский Н.Е. Белки sPD-1/sPD-L1 при немелкоклеточном раке легкого и плоскоклеточном раке пищевода. *Бюллетень сибирской медицины.* 2022;21(3):96–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-96-104>.

sPD-1/sPD-L1 proteins in non-small cell lung cancer and esophageal squamous cell carcinoma

Stilidi I.S.¹, Kovaleva O.V.¹, Gratchev A.N.¹, Tchevkina E.M.¹, Podlesnaya P.A.¹, Tsarapaev P.V.¹, Suleymanov E.A.², Kushlinskii N.E.¹

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
24, Kashirskoe Highway, Moscow, 115478, Russian Federation

² People's Friendship University of Russia (RUDN University)
21/3, Miklukho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Implementation of immunotherapy in clinical oncological practice has significantly improved the results of cancer treatment. It resulted in the need for seeking new markers to assess the effectiveness of therapy and the disease prognosis.

Aim. To analyze the content of soluble forms of PD-1 and PD-L1 immune checkpoint proteins in the blood serum of patients with non-small cell lung cancer and esophageal squamous cell carcinoma and their association with clinical and morphological characteristics of the disease and the disease prognosis.

Materials and methods. The study included tumor samples obtained from 43 patients with non-small cell lung cancer and 21 patients with esophageal squamous cell carcinoma. The concentration of sPD-L1 and sPD-1 in the blood serum was determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The Mann – Whitney test was used to determine statistically significant differences in independent groups. A correlation analysis was performed using the Spearman's rank correlation coefficient. Overall survival was analyzed by constructing survival curves using the Kaplan – Meier method and a Cox proportional hazards model. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. The study showed that sPD-1 and sPD-L1 were found in the blood serum of both cancer patients and healthy donors, and their concentrations did not differ significantly. It was shown that the high concentration of sPD-L1 in the blood serum of patients with non-small cell lung cancer was significantly associated with the late stage of the disease and was an independent unfavorable prognostic factor. It should be noted that for patients with esophageal cancer, an unfavorable prognostic marker was the high concentration of the soluble form of PD-1 protein, and not PD-L1 ligand, as in case of lung cancer.

Conclusion. The content of sPD-1 and sPD-L1 in the blood serum can have different prognostic significance for various types of cancer, and further studies are required to confirm their clinical usability.

Keywords: sPD-1, sPD-L1, immunotherapy, non-small cell lung cancer, esophageal cancer, prognosis

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 RFBR grant (project No. 20-015-004790).

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 N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology.

For citation: Stilidi I.S., Kovaleva O.V., Gratchev A.N., Tchevkina E.M., Podlesnaya P.A., Tsarapaev P.V., Suleymanov E.A., Kushlinskii N.E. sPD-1/sPD-L1 proteins in non-small cell lung cancer and esophageal squamous cell carcinoma. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2022;21(3):96–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-96-104>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время иммуногистохимическое исследование считают золотым стандартом молекулярной диагностики и рассматривают как основной метод для принятия решения о назначении иммунотерапии. Однако способов предсказания ответа пациентов на проводимое лечение или выявление остаточной болезни с помощью молекулярно-биологических исследований недостаточно. При этом постоянно расширяется область применения иммунотерапии и спектр показаний для ее назначения, поэтому существует потребность в новых маркерах или методах оценки уже имеющихся, для повышения эффективности лечения онкологических больных.

По функциональным характеристикам контрольные точки иммунитета, на регуляцию которых и направлено действие иммунотерапии, можно разделить на две группы: активирующие иммунный ответ и иммуносупрессорные. Наиболее известные, PD-1/PD-L1 и CTLA-4, относятся ко второй группе. Взаимодействие PD-1/PD-L1 способствует уходу опухоли из-под иммунологического надзора посредством подавления активности Т-клеток. Высокая тканевая экспрессия данных белков может быть ассоциирована с неблагоприятным прогнозом для различных типов опухолей.

За последние годы в иммунной системе выявлено и описано большое количество новых рецепторов и их лигандов, участвующих в иммунной регуляции. В дополнение к иммунным контрольным точкам на поверхности клеток выявлен ряд их растворимых форм, которые могут быть обнаружены в кровотоке. Присутствие данных белков в биологических жидкостях обусловлено протеолизом, альтернативным сплайсингом, а также их наличием на поверхности экзосом [1–3]. Показано, что PD-1 и PD-L1 в результате альтернативного сплайсинга или протеолиза способны переходить в растворимую форму – sPD-1 и sPD-L1 соответственно [4]. sPD-L1 и sPD-1 могут быть обнаружены и количественно определены в кровотоке пациентов с различными солидными опухолями [5–7], что открывает перспективу для развития актуальных на сегодняшний день методов малоинвазивной диагностики и мониторинга терапии. Однако роль sPD-L1 и sPD-1 в патогенезе злокачественных новообразований однозначно не определена. В связи с этим цель данного исследования – ана-

лиз содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) и плоскоклеточным раком пищевода (ПРП), их ассоциация с клинико-морфологическими характеристиками заболевания и прогнозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 43 пациента с НМРЛ и 21 пациент с ПРП, а также 9 здоровых доноров, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием больных и здоровых доноров, соответствуют этическим стандартам этического комитета организации и Хельсинской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019) и опухолей легкого (ВОЗ, 2021). Описание исследованных выборок представлено в табл. 1, 2.

Таблица 1

Клинико-морфологические характеристики больных НМРЛ	
Показатель	Число случаев, n (%)
Возраст	
≤61	22 (51%)
>61	21 (49%)
Пол	
мужской	37 (86%)
женский	6 (14%)
Гистология	
аденокарцинома	18 (42%)
плоскоклеточный рак	25 (58%)
Стадия	
I-II	25 (58%)
III-IV	18 (42%)
Локализация	
центральная	26 (60%)
периферическая	17 (40%)
Размер опухоли (T)	
T1-T2	28 (65%)
T3-T4	15 (35%)
Наличие регионарных метастазов (N)	
N0	17 (40%)
N+	26 (60%)
Степень дифференцировки (G)	
G1-G2	27 (63%)
G3	16 (37%)

Таблица 2

Клинико-морфологические характеристики больных ПРП	
Показатель	Число случаев, <i>n</i> (%)
Возраст	
≤61	11 (52%)
>61	10 (48%)
Пол	
мужской	18 (86%)
женский	3 (14%)
Стадия	
I-II	9 (43%)
III-IV	12 (57%)
Размер опухоли (T)	
T1-T2	6 (29%)
T3-T4	15 (71%)
Наличие регионарных метастазов (N)	
N0	10 (48%)
N+	11 (52%)
Степень дифференцировки (G)	
G1-G2	15 (24%)
G3	6 (76%)

Концентрацию исследуемых белков sPD-L1 и sPD-1 определяли в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью наборов реактивов для иммуноферментного анализа: Human PD-L1 Platinum ELISA, Human PD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркеров выражали в пикограммах (пг) на 1 мл сыворотки крови.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 9.0. Для сравнения показателей и анализа их взаимосвязей использовали непараметрический критерий Манна – Уитни и коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для анализа общей выживаемости больных разделили на две группы сравнения в зависимости от медианы со-

держания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови. Анализ общей выживаемости проводили путем построения кривых дожития по методу Каплана – Мейера. Сравнение статистической значимости различий выполняли при использовании логарифмического рангового критерия. Для оценки потенциального влияния различных факторов риска на выживаемость дополнительно выполняли многофакторный анализ с использованием непараметрической модели пропорциональных рисков Кокса. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха *Me* ($Q_1 - Q_3$). Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данное исследование посвящено изучению содержания растворимых форм белков контрольных точек иммунитета sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных НМРЛ и ПРП, их ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками пациентов и прогностической значимости. На первом этапе работы проведена оценка диагностического потенциала исследованных белков. Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови здоровых доноров составило 30,9 (28,2–42,8) и 0,59 (0,40–1,5) пг/мл соответственно, в группе больных НМРЛ – 34,3 (27,4–45,4) и 0,95 (0,33–2,08) пг/мл и в группе больных ПРП – 30,9 (26,0–53,9) и 0,956 (0–2,45) пг/мл. Проведенный статистический анализ показал, что содержание растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 значимо не отличается в группе здоровых доноров и пациентов с изучаемыми формами заболевания, что не позволяет использовать их в качестве диагностических маркеров.

Проведен анализ ассоциации содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных НМРЛ и ПРП с клинико-морфологическими характеристиками заболеваний. Результаты представлены в табл. 3, 4.

Таблица 3

Показатель	sPD-1, пг/мл			sPD-L1, пг/мл		
	<i>Me</i>	($Q_1 - Q_3$)	<i>p</i>	<i>Me</i>	($Q_1 - Q_3$)	<i>p</i>
Возраст						
≤61	33,81	(27,22–51,69)		0,965	(0,401–1,835)	
>61	34,60	(27,27–38,63)	0,833	1,090	(0,211–2,758)	0,824
Пол						
мужской	34,19	(27,17–45,57)		0,965	(0,464–2,143)	
женский	35,25	(31,85–54,65)	0,458	0,776	(0,062–4,252)	0,738
Гистология						
аденокарцинома	34,47	(27,05–47,58)		0,903	(0,464–2,481)	
плоскоклеточный рак	34,19	(27,88–42,22)	0,765	0,965	(0,106–2,020)	0,513

Окончание табл. 3

Показатель	sPD-1, пг/мл			sPD-L1, пг/мл		
	Me	(Q ₁ –Q ₃)	p	Me	(Q ₁ –Q ₃)	p
Стадия						
I-II	33,44	(27,71–41,97)	0,966	0,715	(0,000–1,649)	
III-IV	34,98	(26,56–47,18)		1,463	(0,652–3,067)	0,037*
Локализация						
центральная	34,26	27,31–47,18	0,820	0,965	0,306–2,019	
периферическая	34,60	27,37–41,97		1,090	0,274–2,143	0,698
Размер опухоли (T)						
T1-T2	33,88	(27,66–38,16)	0,701	0,965	(0,083–1,927)	
T3-T4	35,63	(23,92–51,95)		1,214	(0,464–2,944)	0,372
Наличие регионарных метастазов (N)						
N0	35,56	(30,74–56,66)	0,153	0,715	(0,042–1,835)	
N+	30,57	(26,31–40,41)		1,028	(0,464–2,298)	0,419
Степень дифференцировки (G)						
G1-G2	34,33	(27,65–51,60)	0,394	1,214	(0,211–2,575)	
G3	32,96	(24,66–36,84)		0,840	(0,464–1,494)	0,513

Таблица 4

Показатель	sPD-1, пг/мл			sPD-L1, пг/мл		
	Me	(Q ₁ –Q ₃)	p	Me	(Q ₁ –Q ₃)	p
Возраст						
≤61	30,98	(29,62–37,15)	0,545	0,965	(0,000–2,821)	
>61	29,08	(24,27–59,24)		0,840	(0,000–2,174)	0,685
Пол						
мужской	30,98	(25,29–51,32)	0,406	0,778	(0,000–2,451)	
женский	33,57	(30,23–72,88)		1,090	(0,000–2,944)	0,836
Стадия						
I-II	32,28	(29,92–53,90)	0,496	1,463	(0,295–2,698)	
III-IV	29,52	(24,92–63,95)		0,274	(0,000–2,111)	0,230
Размер опухоли (T)						
T1-T2	53,90	(33,04–78,70)	0,010*	1,772	(0,818–2,852)	
T3-T4	29,62	(24,73–32,28)		0,464	(0,000–2,451)	0,202
Наличие регионарных метастазов (N)						
N0	32,92	(29,23–59,24)	0,306	1,277	(0,443–2,574)	
N+	30,23	(24,73–37,15)		0,083	(0,000–2,451)	0,194
Степень дифференцировки (G)						
G1-G2	30,98	(25,56–36,25)	0,436	1,028	(0,000–2,729)	
G3	48,75	(26,09–80,21)		0,464	(0,000–1,772)	0,473

Проведенный анализ показал, что повышенная концентрация sPD-L1 в сыворотке крови больных НМРЛ статистически значимо ассоциирована с поздней стадией заболевания. Ассоциаций с другими характеристиками опухоли для НМРЛ не выявлено, хотя необходимо отметить тенденцию к снижению уровня sPD-1 в сыворотке крови пациентов при наличии регионарных метастазов.

Для ПРП выявлена следующая закономерность: при наличии у пациента опухоли низкой степени распространенности наблюдали статистически значимое увеличение содержания sPD-1 в сыворотке крови.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ SPD-L1/SPD-1 У БОЛЬНЫХ НМРЛ И ПРП

В зависимости от содержания растворимых форм исследованных белков для анализа показателей выживаемости пациентов распределили на две группы: с высоким и низким содержанием sPD-1/sPD-L1 относительно медианы. Графики выживаемости больных представлены на рисунке.

Результаты исследования показали, что повышенная концентрация sPD-L1 при НМРЛ статистически значимо ассоциирована с неблагоприятным прогнозом.

Для sPD-L1 при ПРП наблюдали аналогичную картину, однако данные не достигли статистической значимости. Содержание sPD-1 в сыворотке крови не является прогностическим маркером как у пациентов с НМРЛ, так и с ПРП. Однако следует отметить, что при высоком содержании sPD-1 в сыворотке кро-

ви больных раком пищевода отмечена тенденция к неблагоприятному прогнозу.

Далее провели однофакторный и многофакторный статистический анализ прогностической значимости исследованных маркеров. Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5

Показатель	Однофакторный анализ/			Многофакторный анализ		
	HR	95% CI	p	HR	95% CI	p
sPD-1 НМРЛ (высокий/низкий)	0,885	(0,285–2,749)	0,831	1,020	(0,985–1,053)	0,253
sPD-L1 НМРЛ (высокий/низкий)	3,937	(1,257–12,34)	0,026*	1,214	(0,983–1,464)	0,046*
sPD-1 ПРП (высокий/низкий)	2,199	(0,731–6,613)	0,139	1,045	(1,014–1,082)	0,006*
sPD-L1 ПРП (высокий/низкий)	1,998	(0,647–6,164)	0,199	1,269	(1,002–1,650)	0,051

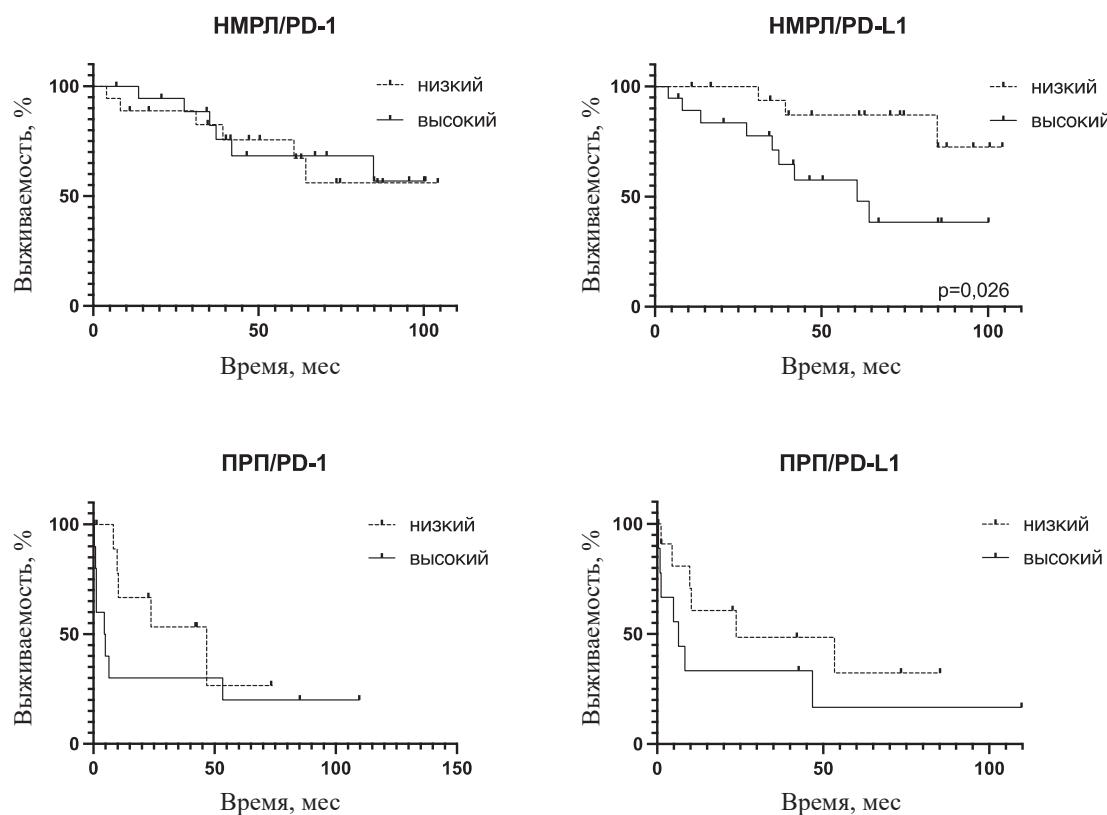


Рисунок. Анализ общей выживаемости в зависимости от содержания sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови больных НМРЛ и ПРП

Проведенный регрессионный анализ Кокса показал, что высокое содержание sPD-1 при ПРП и высокое содержание sPD-L1 при НМРЛ были независимыми факторами прогноза, ассоциированными со снижением выживаемости. Таким образом, высокое содержание растворимой формы лиганда sPD-L1 в сыворотке крови пациентов с НМРЛ является неблагоприятным прогностическим фактором, в то время как для пациентов с ПРП неблагоприят-

ным прогностическим маркером является высокое содержание растворимой формы рецептора sPD-1, а не его лиганда.

На заключительном этапе исследования провели корреляционный анализ содержания sPD-1/sPD-L1 в сыворотке крови больных НМРЛ и ПРП. Проведенный анализ не выявил корреляции между содержанием исследуемых белков в случае ПРП ($r = 0,119$; $p = 0,609$), однако в случае НМРЛ

содержание sPD-1 статистически значимо коррелировало с содержанием sPD-L1 ($r = 0,331; p = 0,03$) и это может свидетельствовать о том, что механизмы взаимодействия данных белков могут быть тканезависимыми.

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на бурное развитие иммунотерапии в лечение онкологических заболеваний, частота объективных ответов на препараты данного класса для больных ПРП и НМРЛ недостаточна. В связи с этим идентификация и валидация новых биомаркеров эффективности иммунотерапевтических препаратов в настоящее время крайне актуальны. Результаты современных исследований демонстрируют, что оценка экспрессии PD-L1 является ключевым фактором для определения эффективности лечения ингибиторами контрольных точек иммунитета у больных злокачественными новообразованиями различных локализаций. Однако анализ тканевой экспрессии PD-L1 не унифицирован и отличается в зависимости от используемого препарата. Так, существует оценочная шкала, принимающая во внимание только опухолевые клетки, в то время как другой метод оценки учитывает экспрессию PD-L1 на поверхности как опухолевых, так и иммунных клеток стромы. Кроме того, в настоящее время в период активного развития методов малоинвазивной диагностики и неoadьювантной химиотерапии оценка эффективности назначения препаратов и ответа на проводимое лечение с использованием растворимых маркеров крови представляет большой интерес [8].

В настоящее время иммунотерапия анти-PD-1/PD-L1 является предпочтительным методом терапии второй линии, а в некоторых случаях – и первой линии при НМРЛ [9]. Из литературных данных известно, что sPD-L1 в крови можно рассматривать в качестве маркера эффективности лечения пациентов с НМРЛ ингибиторами контрольных точек иммунитета. Показано, что высокий уровень sPD-L1 через 2 мес после лечения ниволумабом ассоциирован с плохим ответом на проводимую терапию. Следует отметить, что уровень sPD-L1 не коррелировал с уровнем тканевой экспрессии данного белка [10]. Ингибиторы контрольной точки PD-1/PD-L1 ниволумаб и пембролизумаб одобрены FDA и EMA для лечения опухолей пищевода. Однако назначение и эффективность данных препаратов по аналогии с НМРЛ зависят от статуса экспрессии PD-L1 в опухоли. Появляются данные, свидетельствующие о том, что уровень sPD-L1 также имеет прогностический потенциал для оценки эффективности монотерапии

анти-PD-1/PD-L1 в случаях ПРП [8], а именно, более высокая концентрация sPD-L1 в плазме крови до лечения является предиктором повышенной эффективности данного вида терапии.

Настоящее исследование посвящено изучению содержания растворимых sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных НМРЛ и ПРП. Результаты работы показали, что повышенный уровень sPD-L1 в сыворотке крови больных НМРЛ ассоциирован с более поздней стадией заболевания и неблагоприятным прогнозом. Полученные результаты согласуются с данными современной литературы [11–13]. D. Jovanović и соавт. определили, что более высокий уровень sPD-L1 в крови характерен для пациентов с НМРЛ по сравнению с опухолями легкого других гистотипов [13]. Необходимо отметить, что изучение содержания sPD-L1 в крови больных раком легкого актуально не только в контексте иммунотерапии, но и при изучении эффективности ингибиторов тирозинкиназ [14]. В проведенном нами исследовании содержание sPD-1 при НМРЛ не являлось прогностически значимым, хотя литературные данные показывают, что увеличение концентрации данного белка связано с увеличением показателей общей и безрецидивной выживаемости пациентов с распространенным НМРЛ с мутациями EGFR, получавших эрлотиниб [15].

При анализе ассоциации содержания sPD-1 с клинико-морфологическими характеристиками рака пищевода показано, что более высокое содержание данного белка характерно для опухолей с меньшей распространенностью. При этом следует отметить, что проведенное нами исследование впервые показало, что sPD-1 является независимым статистически значимым маркером неблагоприятного прогноза ПРП. Высокое сывороточное содержание PD-L1 у пациентов с опухолями пищевода также ассоциировано с неблагоприятным прогнозом, однако данные не достигли статистической достоверности. Это согласуется с рядом опубликованных исследований, посвященных данной проблеме [16, 17]. Все это свидетельствует о необходимости продолжения проведения подобных исследований для дальнейшего их применения в клинической практике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования указывают на то, что на сегодняшний день нет однозначного мнения относительно клинической и прогностической значимости как тканевой экспрессии белков ключевых контрольных точек иммунитета PD-1/PD-L1, так их растворимых форм. Также стоит отметить, что в большинстве исследований

отмечено отсутствие корреляции между тканевой экспрессией данных белков и их присутствием в растворимой форме в биологических жидкостях, что, безусловно, указывает на необходимость дальнейшего изучения их взаимодействия. При дальнейшем накоплении большего количества данных их разброс будет снижаться, что в конечном итоге приведет к возможности их применения в клинической практике.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Orme J.J., Enninga E.A.L., Lucien-Matteoni F., Dale H., Burgstaler E., Harrington S.M. et al. Therapeutic plasma exchange clears circulating soluble PD-L1 and PD-L1-positive extracellular vesicles. *J. Immunother Cancer.* 2020;8(2):e001113. DOI: 10.1136/jitc-2020-001113.
- Chen Y., Wang Q., Shi B., Xu P., Hu Z., Bai L. et al. Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1+ cell lines. *Cytokine.* 2011;56(2):23–28. DOI: 10.1016/j.cyto.2011.06.004.
- Daassi D., Mahoney K.M., Freeman G.J. The importance of exosomal PDL1 in tumour immune evasion. *Nat. Rev. Immunol.* 2020;20(4):209–215. DOI: 10.1038/s41577-019-0264-y.
- Zhou J., Mahoney K.M., Giobbie-Hurder A., Zhao F., Lee S., Liao X. et al. Soluble PD-L1 as a Biomarker in Malignant Melanoma Treated with Checkpoint Blockade. *Cancer Immunol. Res.* 2017;5(6):480–492. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0329.
- Hofman P., Heeke S., Alix-Panabieres C., Pantel K. Liquid biopsy in the era of immuno-oncology: is it ready for prime-time use for cancer patients? *Ann. Oncol.* 2019;30(9):1448–1459. DOI: 10.1093/annonc/mdz196.
- Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Горячева И.О. и др. Растворимые формы рецептора контрольной точки иммунитета PD-1 и его лиганда PD-L1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком: клинико-морфологические корреляции. *Онкоурология.* 2019;15(1):15–22. DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-1-15-22.
- Ковалева О.В., Рашидова М.А., Грачев А.Н., Масленников В.В., Булычева И.В., Герштейн Е.С. и др. Факторы иммуносупрессии PD-1, PD-L1, IDO1 и колоректальный рак. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни.* 2021;497(1):160–164. DOI: 10.31857/S2686738921020153.
- Ji S., Chen H., Yang K., Zhang G., Mao B., Hu Y. et al. Peripheral cytokine levels as predictive biomarkers of benefit from immune checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Biomed. Pharmacother.* 2020;129:110457. DOI: 10.1016/j.bioph.2020.110457.
- Assi H.I., Kamphorst A.O., Moukalled N.M., Ramalingam S.S. Immune checkpoint inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *Cancer.* 2018;124(2):248–261. DOI: 10.1002/cncr.31105
- Costantini A., Julie C., Dumenil C., Helias-Rodzewicz Z., Tisserand J., Dumoulin J. et al. Predictive role of plasmatic biomarkers in advanced non-small cell lung cancer treated by nivolumab. *Oncoimmunology.* 2018;7(8):e1452581. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1452581.
- Okuma Y., Hosomi Y., Nakahara Y., Watanabe K., Sagawa Y., Homma S. High plasma levels of soluble programmed cell death ligand 1 are prognostic for reduced survival in advanced lung cancer. *Lung Cancer.* 2017;104:1–6. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.11.023.
- Castello A., Rossi S., Toschi L., Mansi L., Lopci E. Soluble PD-L1 in NSCLC Patients Treated with Checkpoint Inhibitors and Its Correlation with Metabolic Parameters. *Cancers (Basel).* 2020;12(6):1373. DOI: 10.3390/cancers12061373
- Jovanovic D., Roksandic-Milenkovic M., Kotur-Stevuljevic J., Ceriman V., Vukanic I., Samardzic N. et al. Soluble sPD-L1 and serum amyloid A1 as potential biomarkers for lung cancer. *J. Med. Biochem.* 2019;38(3):332–341. DOI: 10.2478/jomb-2018-0036.
- Jia Y., Li X., Zhao C., Ren S., Su C., Gao G. et al. Soluble PD-L1 as a predictor of the response to EGFR-TKIs in non-small cell lung cancer patients with EGFR mutations. *Front. Oncol.* 2020;10:1455. DOI: 10.3389/fonc.2020.01455.
- Sorensen S.F., Demuth C., Weber B., Sorensen B.S., Meldgaard P. Increase in soluble PD-1 is associated with prolonged survival in patients with advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Lung Cancer.* 2016;100:77–84. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.08.001.
- Shiraishi T., Toyozumi T., Sakata H., Murakami K., Kano M., Matsumoto Y. et al. Soluble PD-L1 concentration is proportional to the expression of PD-L1 in tissue and is associated with a poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology.* 2022;100(1):39–47. DOI: 10.1159/000518740.
- Fu R., Jing C.Q., Li X.R., Tan Z.F., Li H.J. Prognostic significance of serum PD-L1 level in patients with locally advanced or metastatic esophageal squamous cell carcinoma treated with combination cytotoxic chemotherapy. *Cancer Manag. Res.* 2021;13:4935–4946. DOI: 10.2147/CMAR.S312690.

Вклад авторов

Стилиди И.С. – клиническая работа с пациентами, научное редактирование текста. Ковалева О.В. – статистическая обработка данных, написание статьи. Грачев А.Н. – анализ литературных данных, написание статьи. Чевкина Е.М. – анализ литературных данных, написание статьи. Подлесная П.А., Царапаев П.В. – получение экспериментальных данных. Сулейманов Э.А. – научное редактирование текста. Кушлинский Н.Е. – разработка дизайна исследования, общее руководство работой, окончательное редактирование и одобрение текста рукописи.

Информация об авторах

Стилиди Иван Сократович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>

Ковалева Ольга Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория регуляции клеточных и вирусных онкогенов, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, ovkovleva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>

Грачев Алексей Николаевич – д-р биол. наук, зав. лабораторией биологии стромальных клеток опухолей, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, Alexei.gratchev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>

Чевкина Елена Максимовна – д-р биол. наук, зав. лабораторией регуляции клеточных и вирусных онкогенов, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, tchevkin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8837-7969>

Подлесная Полина Алексеевна – лаборант-исследователь, лаборатория биологии стромальных клеток опухолей, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, polina.pod@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>

Царапаев Павел Валерьевич – лаборант-исследователь, лаборатория клинической биохимии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, pscaraev96@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1182-1010>

Сулейманов Эльхан Абдуллаевич – профессор, кафедра урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии, РУДН, г. Москва.

Кушлинский Николай Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, руководитель лаборатории клинической биохимии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, biochimia@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

(✉) **Ковалева Ольга Владимировна**, ovkovleva@gmail.com

Поступила в редакцию 07.03.2022;
одобрена после рецензирования 06.05.2022;
принята к публикации 25.05.2022

УДК 616.895.8:613.84:613.816:575.174.015.3
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-105-111>

Ассоциации полиморфных вариантов генов *GRIN2A* и *GRIN2B* со злоупотреблением алкоголем и табаком у больных шизофренией

Тигунцев В.В.¹, Герасимова В.И.¹, Корнетова Е.Г.¹, Федоренко О.Ю.¹, Семке А.В.¹,
Корнетов А.Н.²

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Сравнить частоты генотипов полиморфных вариантов генов *GRIN2A* и *GRIN2B* в группах больных шизофренией с аддиктивным поведением (злоупотребление алкоголем и курение табака) и без него в славянской популяции Томской области.

Материалы и методы. Обследованы 219 пациентов с установленным диагнозом «шизофрения», проходивших стационарное лечение в клиниках НИИ психического здоровья Томского НИМЦ и Томской клинической психиатрической больницы. Наличие злоупотребления алкоголем и курения в анамнезе выявлялось в процессе клинического интервью и сбора объективных сведений. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол-хлороформным методом.

Для генотипирования было выбрано 15 SNP в гене *GRIN2A* и 9 полиморфизмов в гене *GRIN2B*. Определение аллельных вариантов проводили методом real-time PCR со специфическими праймерами. Для статистической обработки данных использовался пакет программ SPSS 17.0. Распределение частот генотипов оценивалось при помощи критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса и точного теста Фишера.

Результаты. Выявлены статистически значимые различия в частотах аллелей полиморфизма rs9788936 в гене *GRIN2A* ($\chi^2 = 4,23$; $p = 0,04$), а также полиморфного варианта rs10845838 в гене *GRIN2B* ($\chi^2 = 4,27$; $p = 0,04$) в группах пациентов, злоупотребляющих алкоголем, и непьющих. Было установлено, что полиморфный вариант rs8049651 гена *GRIN2A* имеет четкую ассоциацию ($F = 8,06$; $p = 0,029$) с формированием зависимости от табака у больных шизофренией.

Заключение. Показаны ассоциации злоупотребления алкоголем с полиморфным вариантом rs9788936 в гене *GRIN2A* и полиморфным вариантом rs10845838 в гене *GRIN2B* у пациентов с шизофренией, а также ассоциация полиморфных вариантов rs8049651 и rs7190619 гена *GRIN2A* с формированием табачной зависимости у больных шизофренией.

Ключевые слова: шизофрения, генетика, однонуклеотидные полиморфизмы, курение, алкоголизм, глутамат

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 21-15-00212 «Роль метилирования ДНК и полиморфизма генов глутаматергической системы в клинике, когнитивном дефиците и терапии шизофрении», 2021–2023 гг.

Соответствие принципам этики. Все лица, входившие в основную и контрольную группы, дали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 142 от 14.05.2021).

✉ Тигунцев Владимир Владимирович, cristall2009@live.ru

Для цитирования: Тигунцев В.В., Герасимова В.И., Корнетова Е.Г., Федоренко О.Ю., Семке А.В., Корнетов А.Н. Ассоциации полиморфных вариантов генов *grin2a* и *grin2b* со злоупотреблением алкоголем и табаком у больных шизофренией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):105–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-105-111>.

Association of polymorphic variants of *GRIN2A* and *GRIN2B* genes with alcohol and tobacco abuse in patients with schizophrenia

Tiguntsev V.V.¹, Gerasimova V.I.¹, Kornetova E.G.¹, Fedorenko O.Y.¹, Semke A.V.¹, Kornetov A.N.²

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

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

ABSTRACT

Aim. To compare the frequency of genotypes for polymorphic variants of *GRIN2A* and *GRIN2B* genes in patients with schizophrenia and addictive behavior (alcohol / tobacco abuse) and in patients with schizophrenia without addictive behavior in the Slavic population of the Tomsk region.

Materials and methods. The study included 219 inpatients with the established diagnosis of schizophrenia who received treatment in the clinics of Mental Health Research Institute and Tomsk Clinical Psychiatric Hospital. A history of alcohol / tobacco abuse was identified during a clinical interview and objective data collection. DNA was isolated from peripheral blood leukocytes by standard phenol – chloroform extraction.

15 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *GRIN2A* gene and 9 polymorphisms in the *GRIN2B* gene were selected for genotyping. Allelic variants were determined by real-time polymerase chain reaction (PCR) with specific primers. The SPSS 17.0 software package was used for statistical data processing. The distribution of genotype frequency was assessed using the Pearson's χ^2 test with the Yates' correction and the Fisher's exact test.

Results. Significant differences in the allele frequency for the rs9788936 polymorphism in the *GRIN2A* gene ($\chi^2 = 4.23, p = 0.04$) and for the rs10845838 polymorphism in the *GRIN2B* gene ($\chi^2 = 4.27, p = 0.04$) were revealed between the groups of patients with and without alcohol abuse. It was found that the polymorphic variant rs8049651 of the *GRIN2A* gene had a clear association ($F = 8.06, p = 0.029$) with the development of tobacco addiction in patients with schizophrenia.

Conclusion. The study identified the association between alcohol abuse and the rs9788936 polymorphism in the *GRIN2A* gene and the rs10845838 polymorphism in the *GRIN2B* gene in patients with schizophrenia. The association between the rs8049651 and rs7190619 polymorphisms in the *GRIN2A* gene and the development of tobacco abuse in patients with schizophrenia was revealed.

Keywords: schizophrenia, genetics, single nucleotide polymorphisms, smoking, alcohol addiction, glutamate

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 Russian Science Foundation grant No. 21-15-00212 “The role of DNA methylation and gene polymorphism of the glutamatergic system in clinical practice, cognitive deficit, and schizophrenia therapy”, 2021–2023.

Conformity with the principles of ethics. All patients included in the treatment and control groups signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at the Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 142 of 14.05.2021).

For citation: Tiguntsev V.V., Gerasimova V.I., Kornetova E.G., Fedorenko O.Y., Semke A.V., Kornetov A.N. Association of polymorphic variants of *GRIN2A* and *GRIN2B* genes with alcohol and tobacco abuse in patients with schizophrenia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):105–111. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-105-111>.

ВВЕДЕНИЕ

Употребление психоактивных веществ пациентами с шизофренией – довольно распространенное явление. Так, риск развития расстройств, связанных со злоупотреблением алкоголем, у данной категории больных по сравнению с населением в целом в 3 раза выше [1]. Один недавний метаанализ продемонстрировал, что пожизненная распространенность расстройств, связанных с употреблением алкоголя, в этой когорте составляет 24,3% [2]. Нередко симптомы злоупотребления присутствуют еще до манифестиации психотического расстройства [3]. Какое бы заболевание из этих двух ни манифестировало раньше, их сочетание характеризуется малой курабельностью, учащением и ухудшением течения рецидивов, неустойчивостью ремиссий [4]. У лиц с шизофренией злоупотребление алкоголем ассоциируется с депрессией, высоким риском суицида, несоблюдением режима приема антипсихотической терапии, хроническим течением соматических заболеваний, бездомностью, высоким уровнем агрессии и частыми госпитализациями [5]. Злоупотребление алкоголем у больных шизофренией часто способствует формированию враждебного атрибутивного стиля мышления, который тесно связан с бредом, бредовым мышлением и способностью распознавать эмоции [6].

В настоящий момент существует ряд теорий, ставящих целью объяснить высокий уровень коморбидности шизофрении и злоупотребления алкоголем. В первую очередь, это модель «стресс–диатез», предложенная в 1970 г. для описания вклада в развитие заболевания нейробиологической уязвимости и факторов окружающей среды [7]. Альтернатива представляет собой гипотезу о «самолечении», предполагающую, что лица с шизофренией используют психоактивные вещества для облегчения симптомов или в попытке уменьшить побочные эффекты, возникающие при лечении антипсихотическими препаратами. Однако это не было подтверждено исследованиями: среди молодых людей, перенесших первый эпизод психоза, расстройство, связанное с употреблением психоактивных веществ, часто развивалось до приема лекарств [8]. Существует также объединяющая гипотеза о том, что коморбидность шизофрении и расстройств, связанных с употреблением психоактивных веществ, может быть ассоциирована с нарушением регуляции мезокортиколимбической системы вознаграждения в мозге (гипотеза первичной зависимости или синдром дефицита вознаграждения), что было изучено с помощью функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) [9].

Одной из наиболее перспективных выглядит теория, предполагающая, что раннее нарушение развития мозга может привести к появлению симптомов шизофрении в позднем подростковом или раннем взрослом возрасте. Характерно, что при моделировании шизофрении на животных (путем неонатального центрального поражения гиппокампа) экспериментальные крысы потребляли больше психоактивных веществ, чем контрольная группа [10]. Эти данные указывают на высокую вероятность общего биологического и, возможно, генетического субстрата у шизофрении и расстройств, связанных с употреблением алкоголя.

Распространенность курения табака среди больных шизофренией выше в 2–3 раза по сравнению с населением в целом в западных странах [11]. Последние эпидемиологические, биологические и клинические данные указывают на корреляцию между потреблением сигарет у пациентов с шизофренией и тяжестью позитивных симптомов, а также частотой суицидальных тенденций [12].

Как показывают исследования, в патогенезе шизофрении и зависимости от табака также присутствуют общие патогенетические пути. Коллектив авторов во главе с S. Leonard [13] установил, что различные полиморфные паттерны в промоторном регионе гена $\alpha 7$ -субъединицы никотинового ацетилхолинового рецептора (*CHRNA7* или $\alpha 7$), приводящие к уменьшению транскрипции указанного гена, статистически значимо чаще встречаются у больных шизофренией по сравнению со здоровыми лицами.

Установлено, что негативные симптомы шизофрении связаны с гипофункцией NMDA-рецепторов [14]. Воздействие никотина при систематическом табакокурении повышает плотность NMDA-рецепторов в гиппокампе и вместе с тем увеличивает глутаматергическую активность через активацию пресинаптических н-холинорецепторов [15]. Это приводит к стимуляции выделения и метаболизма дофамина, одного из основополагающих нейромедиаторов в патогенезе шизофрении. Также н-холинорецепторы модулируют активность в лобной и теменной долях больших полушарий головного мозга, тем самым участвуя в процессах возбуждения и двигательной активности, как и глутаматергическая нейропередача [16, 17].

Глутамат является основным возбуждающим нейромедиатором неокортекса [18]. Дисбаланс глутамата и его метаболита, тормозящего нейромедиатора гамма-аминомасляной кислоты, принимает участие в патогенезе ряда психиатрических и нейродегенеративных заболеваний [19, 20]. Основная физиологическая функция глутамата – участие во

внутриклеточной регуляции ионов Ca^{2+} . Накопление глутамата во внеклеточном пространстве и, как следствие, поступление значительного количества ионов кальция в клетку через каналы NMDA-рецепторов лежат в основе явления эксайтотоксичности [21].

Глутаматергическая активность играет роль в развитии мозга, синаптической пластичности, аффективных расстройств и расстройств шизофренического спектра [22, 23]. Белки, кодируемые генами *GRIN2A* и *GRIN2B*, представляют собой субъединицы NMDA-рецептора, представителя суперсемейства ионотропных глутаматных рецепторов. Белок *GRIN2B* также действует как сайт связывания агониста рецептора. NMDA-рецепторы, в свою очередь, участвуют в кальций-опосредованном компоненте возбуждающей синаптической передачи в центральной нервной системе.

Исходя из приведенных данных, мы сформулировали гипотезу, что полиморфные варианты генов *GRIN2A* и *GRIN2B* могут быть ассоциированы с развитием аддиктивного поведения у больных шизофренией.

Цель исследования: сравнить частоты генотипов полиморфных вариантов генов *GRIN2A* и *GRIN2B* в группах больных шизофренией с аддиктивным поведением (злоупотребление алкоголем и курение табака) и без него в славянской популяции Томской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 219 пациентов с установленным диагнозом «шизофрения», проходивших стационарное лечение в клиниках НИИ психического здоровья Томского НИМЦ и Томской клинической психиатрической больницы. Наличие злоупотребления алкоголем и курения в анамнезе выявлялось в процессе клинического интервью и сбора объективных сведений, в том числе из медицинской документации.

Исследование осуществлено в соответствии этическими стандартами, разработанными в соответствии с Хельсинкской декларацией 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. Основными критериями включения для пациентов являлись верифицированный диагноз шизофрении по Международной классификации болезней 10-го пересмотра, возраст 18–65 лет, подписанное информированное согласие пациента, принадлежность к европеоидной расе, постоянное проживание на территории Западной Сибири. Кри-

терии невключения в исследование: острые и хронические инфекционные, воспалительные, аутоиммунные, соматические заболевания в острой фазе, синдром зависимости от опиоидов, каннабиноидов, седативных или снотворных веществ, кокаина, психостимуляторов, включая кофеин, галлюциногенов, летучих растворителей.

Объем выборки составил 219 человек, среди них 144 мужчины (65,8%) и 75 женщин (34,2%). В исследование включены лица от 18 до 65 лет, средний возраст $38,9 \pm 13,4$ года.

Большая часть обследованных пациентов – 114 (52,1%) – имела длительность заболевания более 10 лет. От 5 до 10 лет длительность процесса наблюдалась у 44 пациентов (20,1%), от 1 года до 5 лет – у 47 (21,5%), у 8 человек (3,7%) не превышала 1 года. У трех человек возраст манифестации заболевания и его длительность установить не удалось. Стаж употребления алкоголя и табака соответствовал длительности болезни.

Суточный хлорпромазиновый эквивалент принимаемых антипсихотиков составил 536 [240; 762,5] мг, средняя длительность терапии – 11 [4; 21] года. При первичном обследовании пациентов по PANSS нами были получены следующие результаты (табл. 1).

Таблица 1

Показатели по PANSS у пациентов исследуемой выборки, *n* = 219

Шкала	<i>Me</i> [Q_1 ; Q_3]
Позитивные симптомы	21 [18; 26]
Негативные симптомы	26 [22; 31]
Общепсихопатологические симптомы	52 [42; 63]
Общий показатель	99 [85; 118]

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол-хлороформным методом. Для генотипирования было выбрано 15 SNP в гене *GRIN2A* и 9 SNP в гене *GRIN2B*. Определение аллельных вариантов проводили методом real-time PCR со специфическими праймерами с использованием наборов SNP Genotyping Assay на приборе StepOnePlus (США). Для статистической обработки данных использовался пакет программ SPSS 17.0. Распределение частот генотипов оценивалось при помощи критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса и точного теста Фишера (*F*).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выявлены статистически значимые различия в частотах аллелей полиморфизма rs9788936 в гене *GRIN2A* ($\chi^2 = 4,23$; *p* = 0,04), а также полиморфного варианта rs10845838 в гене *GRIN2B* ($\chi^2 = 4,27$; *p* = 0,04) в группах пациентов, злоупотребляющих

алкоголем, и непьющих (табл. 2). Аллель G полиморфизма rs9788936 (отношение шансов (OR) = 0,47; 95%-й доверительный интервал (95% CI): 0,22–0,98) и аллель A полиморфизма rs10845838 (OR = 0,60; 95% CI: 0,37–0,98) обладают протективным эффектом. Вместе с тем, аллель A полиморфизма rs9788936 (OR = 2,15; 95% CI: 1,02–4,51) и аллель G полиморфного варианта rs10845838 (OR=1,64; 95% CI: 1,02–2,72) предрасполагает к злоупотреблению алкоголем.

Было установлено, что полиморфный вариант rs8049651 гена *GRIN2A* имеет четкую ассоциацию

($F = 8,06$; $p = 0,029$) с формированием никотиновой зависимости у больных шизофренией (табл. 3). Генотип AG встречался статистически значимо реже в группе курящих (OR = 0,48; 95% CI: 0,26–0,87) по сравнению с группой неупотребляющих никотин. Также анализ распределения аллелей показал, что их частоты у полиморфного варианта rs7190619 гена *GRIN2A* статистически значимо различаются в группах курящих и некурящих ($\chi^2 = 4,71$; $p = 0,03$). Отношение шансов для аллеля A составило 0,49 [95% CI: 0,25–0,94], для аллеля G – 2,05, [95% CI: 1,06–3,94].

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов <i>GRIN2A</i> и <i>GRIN2B</i> у лиц с шизофренией, злоупотребляющих и не злоупотребляющих алкоголем, абс., %							
SNP	Генотипы/ Аллели	Злоупотребляющие алкоголем	Незлоупотребляющие алкоголем	OR	95% CI	F/χ^2	p
<i>GRIN2A</i>							
rs9788936	AA	34 (79,1%)	102 (63,0%)	0,45	0,20–1,00	$F = 4,32$	0,18
	AG	9 (20,9%)	55 (34,0%)	1,94	0,87–4,34		
	GG	0 (0%)	5 (3,0%)	—	—		
	A	77 (89,5%)	259 (79,9%)	2,15	1,02–4,51		$\chi^2 = 4,23$
	G	9 (10,5%)	65 (20,1%)	0,47	0,22–0,98		
rs11866328	AA	4 (9,3%)	19 (11,4%)	1,26	0,41–3,92	$F = 0,12$	0,969
	AC	15 (34,9%)	90 (54,2%)	2,21	1,10–4,44		
	CC	24 (55,8%)	57 (34,3%)	0,41	0,21–0,82		
	A	23 (26,7%)	128 (38,6%)	0,58	0,34–0,99		$\chi^2 = 28,9$
	C	63 (73,3%)	204 (61,4%)	1,72	1,02–2,91		
<i>GRIN2B</i>							
rs10845838	AA	8 (19,0 %)	19 (11,7%)	0,56	0,23–1,39	$\chi^2 = 4,3$	0,12
	AG	22 (52,4%)	70 (42,9%)	0,68	0,35–1,35		
	GG	12 (28,6%)	74 (45,4%)	2,08	0,99–4,34		
	A	38 (45,2%)	108 (33,5%)	1,64	1,005–2,67		$\chi^2 = 4,27$
	G	46 (55,8%)	214 (66,5%)	0,61	0,38–0,995		

* значение p -value < 0,05 (здесь и в табл. 3).

Таблица 3

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов <i>GRIN2A</i> и <i>GRIN2B</i> у лиц с шизофренией, злоупотребляющих и не злоупотребляющих курением, абс., %							
SNP	Генотипы / Аллели	Курящие	Некурящие	OR	95% CI	F/χ^2	p
rs7190619	AA	0 (0%)	3 (6,0%)	—	—	$F = 7,29$	0,051
	AG	25 (19,4%)	12 (24,0%)	0,76	0,35–1,66		
	GG	104 (70,6%)	35 (70,6%)	1,78	0,85–3,76		
	A	25 (9,7%)	18 (18,0%)	0,49	0,25–0,94		$\chi^2 = 4,71$
	G	233 (90,3%)	82 (82,0%)	2,05	1,06–3,94		
rs8049651	AA	19 (12,2%)	4 (6,7%)	1,94	0,63–5,96	$F = 8,06$	0,029*
	AG	65 (41,7%)	36 (60,0%)	0,48	0,26–0,87		
	GG	72 (46,1%)	20 (33,3%)	1,71	0,92–3,19		
	A	103 (33,0%)	44 (36,7%)	0,85	0,55–1,32		$\chi^2 = 0,52$
	G	209 (67,0%)	76 (64,3%)	1,18	0,76–1,82		

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе настоящего исследования был проведен анализ ассоциаций злоупотребления алкоголем и табаком с 17 полиморфными вариантами двух генов,

вовлеченных в метаболизм глутамата. Результаты позволили сделать вывод, что два полиморфизма (rs8049651 и rs7190619) в гене *GRIN2A* вносят вклад в развитие никотиновой зависимости у больных шизофренией. Полиморфные варианты rs9788936 и

rs11866328 гена *GRIN2A* и rs10845838 гена *GRIN2B*, в свою очередь, показали в исследуемых группах выраженную ассоциацию со злоупотреблением алкоголем. Кроме того, полиморфизм rs2072450 в гене *GRIN2A* может быть связан с нарушениями в обучении с помощью аверсивного подкрепления (disruptions in aversion learning), и его аллельное состояние может быть одним из прогностических факторов риска развития алкогольной зависимости [24].

Полиморфизмы rs2058878 и rs2300272 гена *GRIN2B* могут служить индикатором эффективности акампросата в лечении расстройств, связанных с употреблением алкоголя [25], поскольку исследователи продемонстрировали ассоциацию аллельных вариантов указанных полиморфизмов с продолжительностью воздержания от употребления спиртного у больных.

Участие наследственной компоненты в патогенезе и клинической картине шизофрении не вызывает сомнений, а потому обнаруженные нами ассоциации хорошо отражают эту концепцию. Влияние генетических факторов, как и глутаматергической нейротрансмиссии, на развитие патологических паттернов поведения у больных шизофренией является малоизученной проблемой современной биологической психиатрии.

Основная часть генетических исследований шизофрении связана с ее ключевыми симптомами (позитивными, негативными, когнитивными), в то время как немногочисленные работы по теме коморбидности шизофрении с аддиктивными расстройствами пока не могут дать полного и четкого представления о рассматриваемом вопросе. Дальнейшие исследования в этой сфере, сочетающие в себе как генетические, так и клинические подходы, способны пролить свет на роль глутамата в формировании аддиктивного поведения у больных шизофренией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данного исследования были показаны ассоциации злоупотребления алкоголем с полиморфным вариантом rs9788936 в гене *GRIN2A* и полиморфным вариантом rs10845838 в гене *GRIN2B* у пациентов с шизофренией. Также исследование продемонстрировало, что полиморфные варианты rs8049651 и rs7190619 гена *GRIN2A* имеют четкую ассоциацию с формированием табачной зависимости у больных шизофренией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Hartz S.M., Pato C.N., Medeiros H., Cavazos-Rehg P., Sobell J.L., Knowles J.A. et al. Genomic Psychiatry Cohort Consortium. Comorbidity of severe psychotic disorders with measures of substance use. *JAMA Psychiatry*. 2014;71(3):248–254. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2013.3726.
- Hunt G.E., Large M.M., Cleary M., Lai H.M.X., Saunders J.B. Prevalence of comorbid substance use in schizophrenia spectrum disorders in community and clinical settings, 1990–2017: Systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend*. 2018;191:234–258. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2018.07.011.
- Brunette M.F., Mueser K.T., Babbin S., Meyer-Kalos P., Rosenheck R., Correll C.U. et al. Demographic and clinical correlates of substance use disorders in first episode psychosis. *Schizophr. Res.* 2018;194:4–12. DOI: 10.1016/j.schres.2017.06.039.
- Тажиева З.Г. Влияние алкоголизма на клинику и лечение шизофрении. *Тюменский медицинский журнал*. 2010;1:40–41.
- Jones R.M., Lichtenstein P., Grann M., Långström N., Fazel S. Alcohol use disorders in schizophrenia: A national cohort study of 12,653 patients. *J. Clin. Psychiatry*. 2011;72(6):775–779. DOI: 10.4088/JCP.10m06320.
- Хмаря Н.В., Цитко А.Н., Коваленко Д.А. Шизофрения и употребление алкоголя. *Проблемы здоровья и экологии*. 2016;3(49):110–113.
- Rosenthal D. Genetic theory and abnormal behavior. New York: McGraw-Hill, 1970:52.
- Archibald L., Brunette M.F., Wallin D.J., Green A.I. Alcohol use disorder and schizophrenia or schizoaffective disorder. *Alcohol. Res.* 2019;40(1):acr.v40.1.06. DOI: 10.35946/acr.v40.1.06.
- Juckel G., Schlagenhauf F., Koslowski M., Wüstenberg T., Villringer A., Knutson B. et al. Dysfunction of ventral striatal reward prediction in schizophrenia. *Neuroimage*. 2006;29(2):409–416. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.07.051.
- Jeanblanc J., Balguerie K., Coune F., Legastelois R., Jeanblanc V., Naassila M. Light alcohol intake during adolescence induces alcohol addiction in a neurodevelopmental model of schizophrenia. *Addict. Biol.* 2015;20(3):490–499. DOI: 10.1111/adb.12146.
- Uneri O., Tural U., Cakin Memik N. Sizofreni ve Sigara İçimi: Biyolojik Bağlantı Nerede? *Turk. Psikiyatri. Derg.* 2006;17(1):55–64.
- Sagud M., Mihaljevic P.A., Pivac N. Smoking in schizophrenia: recent findings about an old problem. *Curr. Opin. Psychiatry*. 2019;32(5):402–408. DOI: 10.1097/YCO.0000000000000529.
- Leonard S., Gault J., Hopkins J., Logel J., Vianzon R., Short M. et al. Association of promoter variants in the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit gene with an inhibitory deficit found in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2002;59(12):1085–1096. DOI: 10.1001/archpsyc.59.12.1085.
- Goff D.C., Evans A.E. Negative symptoms in schizophrenia: neurobiological models and treatment response. *Harv. Rev. Psychiatry*. 1998;6(2):59–77. DOI: 10.3109/10673229809000313.
- Levin E., Icenogle L., Farzad A. Ketanserin attenuates nicotine-induced working memory improvement in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2005;82(2):289–292. DOI: 10.1016/j.pbb.2005.08.017.
- Lawrence N.S., Ross T.J., Stein E.A. Cognitive mechanisms of nicotine on visual attention. *Neuron*. 2002;36(3):539–548. DOI: 10.1016/s0896-6273(02)01004-8.

17. Сперанская О.И., Качаева М.А., Трушелев С.А. Никотиновая зависимость у больных шизофренией: клинико-патогенетический аспект и влияние на лечение. *Российский психиатрический журнал*. 2018;4:40–47.
18. Кохан В.С. Дисбаланс глутамат/ГАМК в сравнительном анализе радиационного и травматического поражения коры головного мозга. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2019;53(6):5–10.
19. Chiapponi C., Piras F., Caltagirone C., Spalletta G. GABA system in schizophrenia and mood disorders: a mini review on third-generation imaging studies. *Front. Psychiatry*. 2016;7:61. DOI: 10.3389/fpsyg.2016.00061.
20. Lau A., Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Arch.* 2010;460(2):525–542. DOI: 10.1007/s00424-010-0809-1.
21. Шушарина Н.Н., Патрушев М.В., Силина Е.В., Ступин В.А., Литвицкий П.Ф., Орлова А.С. Экспрессия генов транспортеров нейромедиаторов в астроцитах разных отделов головного мозга в эксперименте. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018;118(6):58–64. DOI: 10.17116/jnevro20181186158.
22. Лосенков И.С., Бойко А.С., Левчук Л.А., Симуткин Г.Г., Иванова С.А. Глутамат сыворотки крови у больных депрессивными расстройствами как потенциальный периферический маркер прогноза эффективности терапии. *Нейрохимия*. 2018;35(4):359–366. DOI: 10.1134/S1027813318030068.
23. Серегин А. А., Смирнова Л. П., Дмитриева Е. М., Васильева С.Н., Семке А.В., Иванова С.А. Глутамат в сыворотке крови больных с расстройствами шизофренического спектра и биполярным аффективным расстройством. *Психиатрия*. 2020;18(3):22–31. DOI: 10.30629/2618-6667-2020-18-3-22-31.
24. Cacciaglia R., Nees F., Pohlack S.T., Ruttorf M., Winkelmann T., Witt S.H. et al. A risk variant for alcoholism in the NMDA receptor affects amygdala activity during fear conditioning in humans. *Biol. Psychol.* 2013;94(1):74–81. DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.05.006.
25. Karpyak V.M., Biernacka J.M., Geske J.R., Jenkins G.D., Cunningham J.M., Ruegg J. et al. Genetic markers associated with abstinence length in alcohol-dependent subjects treated with acamprosate. *Transl. Psychiatry*. 2014;4(10):e462. DOI: 10.1038/tp.2014.103.

Вклад авторов

Тигунцев В.В. – сбор клинического и биологического материала, анализ и интерпретация данных, написание текста рукописи. Герасимова В.И. – сбор клинического материала, написание текста рукописи. Корнетова Е.Г. – разработка концепции и дизайна, написание текста рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи. Федоренко О.Ю. – разработка концепции и дизайна. Семке А.В. – обоснование рукописи. Корнетов А.Н. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Тигунцев Владимир Владимирович – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, cristall2009@live.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9083-0339>

Герасимова Валерия Игоревна – аспирант, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, havssaltvg@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8526-3998>

Корнетова Елена Георгиевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, kornetova@sibmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5179-9727>

Федоренко Ольга Юрьевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, f_o_y@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9565-6314>

Семке Аркадий Валентинович – д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной и лечебной работе, зав. отделением эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, asemke@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8698-0251>

Корнетов Александр Николаевич – д-р мед. наук, зав. кафедрой фундаментальной психологии и поведенческой медицины, СибГМУ, г. Томск, alkornetov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2342-7504>

(✉) **Тигунцев Владимир Владимирович**, cristall2009@live.ru

Поступила в редакцию 31.12.2021;
одобрена после рецензирования 30.03.2022;
принята к публикации 25.05.2022

УДК 616.379-008.64-021.6-092.6:616.61:577.125.722.032

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-112-119>

Инсулиноподобные факторы роста и их белки-переносчики в почках крыс при экспериментальном диабете, злокачественном росте и их сочетании

Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Котиева И.М., Морозова М.И.

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

РЕЗЮМЕ

Устойчивая гипергликемия в результате сахарного диабета вызывает повреждение микрососудов и долгосрочные диабетические осложнения, такие как нефропатия.

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня инсулиноподобных факторов роста (IGF), их белков-переносчиков (IGFBP) и маркеров повреждения (IL-18, L-FABP, цистатина C, NGAL, KIM-1) в ткани почек самцов крыс при сахарном диабете, опухолевом росте и их сочетании.

Материалы и методы. В исследование включены самцы белых беспородных крыс ($n = 32$) массой 180–220 г, разделены на четыре группы по 8 особей в каждой. Группа 1—интактные животные, контрольная группа (2) – животные с сахарным диабетом, контрольная группа (3) – животные с карциномой Герена, основная группа (4) – животные с карциномой Герена на фоне сахарного диабета. В гомогенатах почек методом иммуноферментного анализа определяли IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-2 и маркеры острого повреждения почек: IL-18, L-FABP, цистатин C, NGAL, KIM-1.

Результаты. При сахарном диабете в самостоятельном варианте и сочетанном с ростом карциномы Герена у самцов крыс в почках установлено повышение уровня маркеров острого повреждения почек. При развитии сахарного диабета уровень IGF-1, IGFBP-1 и IGFBP-2 был снижен в среднем в 1,3 раза, а уровень IGF-2 повышен в 2,1 раза относительно показателя у интактных самцов. Повышение IGF-2/IGF-1 в среднем в 2,8 раза свидетельствовало о нарастании гипогликемии ткани почек животных при сахарном диабете и в группе с сахарным диабетом и опухолью Герена. При опухоли Герена в ткани почек самцов уровень IGF-1 и IGF-2 был повышен в среднем в 1,5 раза, а уровень IGFBP-2 снижен в 1,7 раза. При сочетанном развитии злокачественной опухоли на фоне сахарного диабета содержание IGF-2 и IGFBP-1 было повышенено в 2,3 и 1,7 раза соответственно, а IGF-1 и IGFBP-2 не отличались от показателей у интактных животных.

Заключение. Обнаружены нарушения метаболического состояния ткани почек самцов при развитии сахарного диабета, опухоли Герена и их сочетания.

Ключевые слова: сахарный диабет, карцинома Герена, маркеры острого повреждения почек, IGF, IGFBP

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

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

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено биоэтическим комитетом по работе с животными ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» (протокол № 21/99 от 01.09.2020).

✉ Бандовкина Валерия Ахтямовна, super.gormon@yandex.ru

Для цитирования: Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д., Котиева И.М., Морозова М.И. Инсулиноподобные факторы роста и их белки-переносчики в почках крыс при экспериментальном диабете, злокачественном росте и их сочетании. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):112–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-112-119>.

Insulin-like growth factors and their carrier proteins in kidneys of rats with experimental diabetes, malignant tumor, and their combination

**Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Surikova E.I., Neskubina I.V.,
Pogorelova Yu.A., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Kotieva I.M., Morozova M.I.**

*National Medical Research Center of Oncology
63/8, 14 Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation*

ABSTRACT

Persistent hyperglycemia resulting from diabetes mellitus causes microvascular lesions and long-term diabetic complications, such as nephropathy.

The aim of the study was to analyze the levels of insulin-like growth factors (IGFs), their carrier proteins (IGFBP), and markers of kidney tissue damage (IL-18, L-FABP, cystatin C, NGAL, and KIM-1) in male rats with diabetes mellitus, tumor growth, and their combination.

Materials and methods. The study included white outbred male rats ($n = 32$) weighing 180–220 g. The animals were divided into four groups ($n = 8$ each): group 1 – intact animals; controls (2) – animals with diabetes mellitus; controls (3) – animals with Guerin carcinoma; experimental group (4) – animals with Guerin carcinoma against the background of diabetes mellitus. Levels of IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-2 and markers of acute kidney injury (IL-18, L-FABP, cystatin C, NGAL, and KIM-1) were determined in the kidney homogenates using enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. Increased levels of acute kidney injury markers were found in the kidneys of male rats with diabetes mellitus alone and in combination with Guerin carcinoma. In the animals with diabetes mellitus, the levels of IGF-1, IGFBP-1, and IGFBP-2 were decreased on average by 1.3 times, and the level of IGF-2 was increased by 2.1 times compared with the values in the intact male rats. The elevation of IGF-2 / IGF-1 on average by 2.8 times indicated increasing hypoglycemia in the kidney tissue of the animals with diabetes mellitus and in the experimental group with diabetes mellitus and Guerin carcinoma. In the kidney tissues of the rats with Guerin carcinoma, IGF-1 and IGF-2 were elevated on average by 1.5 times, and IGFBP-2 was decreased by 1.7 times. In the animals with malignant tumors growing against the background of diabetes mellitus, IGF-2 and IGFBP-1 were increased by 2.3 and 1.7 times, respectively, and the levels of IGF-1 and IGFBP-2 were similar to those in the intact animals.

Conclusion. The study demonstrated abnormalities in the metabolic profile of the kidneys in male rats with experimental diabetes mellitus, Guerin carcinoma, and their combination.

Keywords: diabetes mellitus, Guerin carcinoma, markers of acute kidney injury, IGF, IGFBP

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

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

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Animal Bioethics Committee at National Medical Research Center of Oncology (Protocol 21/99 of 01.09.2020).

For citation: Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Surikova E.I., Neskubina I.V., Pogorelova Yu.A., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Kotieva I.M., Morozova M.I. Insulin-like growth factors and their carrier proteins in kidneys of rats with experimental diabetes, malignant tumor, and their combination. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):112–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-112-119>.

ВВЕДЕНИЕ

Высокая заболеваемость сахарным диабетом (СД) и хронической болезнью почек (ХБП) во всем мире спровоцировала исследовательские усилия по преодолению растущей распространенности диабетической нефропатии, которая стала глобальной катастрофой из-за ограниченной эффективности существующих методов лечения [1]. Устойчивая гипергликемия в результате сахарного диабета вызывает повреждение микрососудов и долгосрочные диабетические осложнения, такие как нефропатия, известная как диабетическая болезнь почек (ДБП) [2]. Почки играют важную роль в поддержании гомеостаза глюкозы в крови. Примерно 180 г глюкозы фильтруется через клубочки у здорового человека каждый день и почти полностью реабсорбируется почечными канальцами, из которых около 90% реабсорбируется проксимальными канальцами почек [3]. Как известно, и СД, и хроническая болезнь почек связаны со старением. Заболеваемость СД у людей старше 65 лет более чем в 2 раза выше, чем у людей старше 20 лет [1], а старение является ключевым фактором, объясняющим потерю неферонов и приводящим к ХБП [4].

Считается, что СД является индуктором ускоренного клеточного старения и связан с сердечно-сосудистыми заболеваниями и заболеваниями почек из-за высокого уровня глюкозы [5]. Тем не менее старение, обусловленное тканевой спецификой, остается малоизученным. Во всем мире СД является ведущей причиной терминальной стадии почечной недостаточности, особенно у пожилых людей [6]. Ускоренное старение почек в условиях СД связывают с множественными стрессами, такими как накопление конечных продуктов гликирования, гипертония, окислительный стресс и воспаление [7].

Пептидный фактор роста IGF, который секретируется собирательным каналом взрослой почки, связывается с IGF-1R и фосфорилирует субстратные белки рецептора инсулина, тем самым инициируя нисходящие пути, включая PI3K-Akt-mTOR, для участия в регуляции пролиферации клеток и апоптоза [8]. Инфузия IGF-1 улучшает гемодинамические параметры, такие как почечный плазменный поток, клиренс инсулина и почечное сосудистое сопротивление у голодных крыс. Исследования показали, что передача сигналов IGF в значительной степени участвует в развитии почек и различных типах заболеваний почек [9]. IGF-1 снижается после ишемического повреждения, а лечение экзогенным IGF-1 ускоряет восстановление, ограничивая апоптоз клеток и способствуя их пролиферации [10]. Эти данные были

дополнительно подтверждены исследованием, показывающим, что введение rhIGF-1 через 2 ч после травмы подавляет воспалительный ответ почек и повышает уровень EGF. IGF-1 также способствует регенерации канальцев после АКИ путем трансактивации EGFR [7]. Помимо лигандов, рецепторов, инсулина и IGF существует семейство высокоаффинных IGFBP. Эти белки в первую очередь противодействуют работе IGF и могут служить биомаркерами в самостоятельном варианте [11].

Есть мнение, что диабетическая почка особенно предрасположена к гипоксическому повреждению мозгового слоя [12]. Использование биомаркеров острого повреждения почек (ОПП) для выявления и оценки степени его выраженности расширяется, а комбинированные анализы нескольких биомаркеров повышают их чувствительность и специфичность [13]. Несмотря на то, что увеличение маркеров у молодых и стабильных пациентов с интактными почками является выраженным признаком острого почечного повреждения, они менее предсказуемы у пожилых пациентов с сопутствующими заболеваниями, особенно с диабетом и уже существующей почечной недостаточностью [13]. В исследовании [14] измерили уровень KIM-1 в сыворотке и моче в дополнение к белку L-FABP, связывающему жирные кислоты печени и являющемуся маркером повреждения проксимальных канальцев почек у пациентов с сахарным диабетом, чтобы прояснить взаимосвязь между этими параметрами. Экспериментальные исследования *in vivo* могут позволить выявить особенности развития злокачественных процессов на фоне коморбидных заболеваний [15].

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня инсулиноподобных факторов роста (IGF), их белков-переносчиков (IGFBP) и маркеров повреждения интерлейкина (IL) 18, L-FABP, цистатина C, NGAL, KIM-1 в ткани почек самцов крыс при сахарном диабете, опухолевом росте и их сочетании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены самцы белых беспородных крыс ($n = 32$) массой 180–220 г, полученные из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (филиал «Андреевка», Московская область), содержащиеся при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/EEC), с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использова-

нием животных» и приказом Минздрава России от 19.06.2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Животные были разделены на четыре группы по восемь особей в каждой: интактные (1), две контрольные группы – с аллоксановым диабетом (2) и ростом перевивной карциномы Герена (3), основную группу с ростом перевивной карциномы Герена на фоне аллоксанового диабета (4). Для воспроизведения экспериментального диабета животным однократно внутрибрюшинно вводили аллоксан в дозировке 150 мг/кг веса. Далее в течение 1 нед ежедневно у них измеряли содержание глюкозы в крови. У интактных животных уровень глюкозы в крови составил в среднем $5,2 \pm 0,3$ ммоль/л, у крыс с индуцированным СД контрольной группы – $27,3 \pm 2,6$ ммоль/л, в основной группе – $25,4 \pm 2,2$ ммоль/л. Крысам в группах 3 и 4 через 1 нед стойкой гипергликемии осуществлялась перевивка карциномы Герена подкожно, книзу от угла правой лопатки. Вводили опухолевую взвесь – 0,5 мл взвеси клеток опухоли Герена в физиологическом растворе в разведении 1 : 5. Осмотр экспериментальных животных проводили ежедневно, через 3 сут после введения взвеси штамма карциномы Герена регистрировали подкожный рост опухоли.

Содержание инсулиноподобных факторов роста и белков-переносчиков в почках самцов крыс, нг/г ткани, $M \pm SE$					
Показатель	IGF-1	IGF-2	IGF-2/IGF-1	IGFBP-1	IGFBP-2
Группа 1 (интактные), $n = 8$	$125,1 \pm 10,8$	$66,6 \pm 5,9$	$0,5 \pm 0,06$	$63,0 \pm 6,7$	$456,79 \pm 54,2$
Группа 2 (сахарный диабет), $n = 8$	$93,5 \pm 8,4^1$	$140,5 \pm 13,2^1$	$1,5 \pm 0,14^1$	$46,2 \pm 4,1^1$	$349,3 \pm 31,5^1$
Группа 3 (опухоль Герена), $n = 8$	$197,6 \pm 16,3^{1,2}$	$93,8 \pm 9,5^{1,2}$	$0,5 \pm 0,05^2$	$56,1 \pm 5,8$	$274,3 \pm 26,9^{1,2}$
Группа 4 (сахарный диабет + опухоль Герена), $n = 8$	$120,6 \pm 11,8^2$	$152,1 \pm 13,7^1$	$1,3 \pm 0,15^1$	$105,6 \pm 11,2^{1,2}$	$372,0 \pm 33,8$

Примечание. Статистически значимо ($p < 0,05$) по отношению: 1 к показателю в группе 1; 2 к показателю в группе 2 (здесь и в табл. 2).

Так, при развитии сахарного диабета уровень IGF-1, IGFBP-1 и IGFBP-2 был снижен относительно показателя у интактных самцов в среднем в 1,3 раза ($p < 0,05$), а уровень IGF-2, напротив, повышен в 2,1 раза. При опухоли Герена в ткани почек самцов крыс уровень IGF-1 и IGF-2 был повышен в 1,6 раза и 1,4 раза соответственно ($p < 0,05$); уровень IGFBP-2 был снижен в 1,7 раза ($p < 0,05$), а IGFBP-1 не имел статистически значимых отличий от значений у интактных самцов. В случае сочетанного процесса в ткани почек самцов уровень IGF-1 и IGFBP-2 не имел статистически значимых отличий от показателя у интактных животных, IGF-2 и IGFBP-1 был повышен в 2,3 и 1,7 раза соответственно ($p < 0,05$).

Показано клиническое применение измерения IGF-2 в диагностике гипогликемии опухолей, не исходящих из островковых клеток. Недавние успехи в понимании патофизиологии IGF-2 при раке выявили

исследования, проводимые через 10 сут роста злокачественной опухоли, соответствовали логарифмической активной стадии роста карциномы Герена. Животных из эксперимента выводили через 10 сут с помощью гильотины. В гомогенатах почек у животных всех групп методом иммуноферментного анализа определяли содержание IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-2 и маркеры ОПП: IL-18, L-FABP, цистатин C, NGAL, KIM-1 (Cusabio, Китай).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 13.0. Данные представлены в виде среднего значения и его стандартной ошибки $M \pm SE$. Соответствие распределения нормальному оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Значимость различий между независимыми выборками оценивали с помощью критерия Манна – Уитни. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты изучения инсулиноподобных факторов роста и их белков-переносчиков в ткани почек самцов крыс с сахарным диабетом, опухолью Герена и опухолью Герена на фоне сахарного диабета представлены в табл. 1.

Таблица 1

новые клинические возможности его измерения [16]. Необходимо отметить, что увеличение соотношения IGF-2/IGF-1 свидетельствовало о нарастающей гипогликемии ткани.

Мы не исследовали ткань опухоли, но сочли целесообразным определить соотношение IGF-2/IGF-1 в ткани почек у животных. Установлено, что в ткани почек самцов показатель IGF-2/IGF-1 увеличивался только при сахарном диабете (группа 2) и опухоли Герена на фоне сахарного диабета (группа 4) в 3 и 2,6 раза соответственно. Это свидетельствует о нарастании гипогликемии ткани почек животных именно при состояниях, связанных с повышением уровня глюкозы в крови.

Не менее интересным оказался и показатель биодоступности IGF-1/IGFBP-1 и IGF-2/IGFBP-1. Найдено, что IGF-1/IGFBP-1 в ткани почек был повышен только при опухоли Герена ($3,5 \pm 0,4$ против $2,0 \pm 0,1$). Соотношение IGF-2/IGFBP-1 было повы-

шено при всех изучаемых процессах: при сахарном диабете – с $1,1 \pm 0,09$ до $3,0 \pm 0,2$; при опухоли Герена – с $1,1 \pm 0,09$ до $1,7 \pm 0,08$; при сочетанном процессе – с $1,1 \pm 0,09$ до $1,4 \pm 0,07$ ($p < 0,05$).

Далее представляло интерес изучение маркеров повреждения в ткани почек крыс при сахарном диабете, опухоли Герена и опухоли Герена на фоне сахарного диабета (табл. 2).

Таблица 2

Содержание маркеров ОПР в почках самцов крыс					
Показатель	IL-18, пг/г ткани	L-FABP, пг/г ткани	Цистатин С, нг/г ткани	NGAL, нг/г ткани	KIM-1, пг/г ткани
Группа 1 (интактные), $n = 8$	$5415,1 \pm 398,6$	$2319,4 \pm 251,7$	$960,8 \pm 83,5$	$0,12 \pm 0,02$	$679,1 \pm 58,4$
Группа 2 (сахарный диабет), $n = 8$	$8520,4 \pm 611,8^1$	$4365,2 \pm 369,5^1$	$828,4 \pm 77,1$	$0,28 \pm 0,03$	$1058,5 \pm 84,9^1$
Группа 3 (опухоль Герена), $n = 8$	$9536,3 \pm 842,5^1$	$2883,6 \pm 334,6^2$	$1267,9 \pm 113,5^{1,2}$	$0,13 \pm 0,015^2$	$904,9 \pm 76,3^1$
Группа 4 (сахарный диабет + опухоль Герена), $n = 8$	$8253,4 \pm 731,2^1$	$3298,7 \pm 248,3^{1,2}$	$1717,5 \pm 99,4^{1,2}$	$0,24 \pm 0,028^1$	$935,5 \pm 81,7^1$

Обнаружено, что при сахарном диабете уровень маркеров, кроме цистатина С, был повышен: IL-18 – в 1,6 раза ($p < 0,05$), L-FABP – в 1,9 раза ($p < 0,05$), NGAL – в 2,3 раза, KIM-1 – в 1,6 раза ($p < 0,05$) относительно значений у интактных самцов. В ткани почек самцов при опухоли Герена был повышен относительно показателя у интактных животных уровень IL-18, цистатина С и KIM-1 – в 1,8; 1,3; 1,3 раза соответственно ($p < 0,05$). При опухоли Герена, растущей на фоне сахарного диабета, в ткани почек самцов был повышен уровень IL-18, L-FABP, цистатина С – в 1,5; 1,4; 1,8 раза соответственно ($p < 0,05$), NGAL и KIM-1 – в 2 и 1,4 раза соответственно ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сахарный диабет становится все более опасной проблемой для общественного здравоохранения не только из-за его высокой распространенности, но также из-за его высокой заболеваемости и плохих исходов сосудистых осложнений, таких как ДБП. Согласно традиционным представлениям, острые гипергликемии возникают при диабетическом кетозе, а состояние гипергликемии может вызвать серию метаболических нарушений. Означает ли это, что повышение уровня глюкозы в крови может также привести к «острой гипергликемической почечной токсичности» [3]?

Известно, что IGF важны для нормального пре- и постнатального развития почек. IGF-1 опосредует многие действия гормона роста, и как избыток, так и недостаток гормона роста связаны с нарушением функции почек. IGF влияют на почечную гемодинамику как прямо, так и косвенно, взаимодействуя с ренин-ангиотензиновой системой. В дополнение к лигандам система IGF включает рецепторы для IGF-1, IGF-2, маннозы-6-фосфата и инсулина, а также семейство из шести высокоаффинных IGF-связывающих белков, которые модулируют действие IGF. Нарушение регуляции системы IGF вызывает ряд заболеваний почек.

Полученные нами результаты согласуются с рядом исследований, показавших, что нарушение уровня IGF обнаруживается при диабетической нефропатии и ХБП [9]. Кроме того, IGF-1 может вызывать пролиферацию и дифференцировку клеток почечных канальцев и модулирует иммунные клетки, снижая выработку провоспалительных цитокинов [17]. Очевидно, что снижение уровня IGF-1 в ткани почек могло привести к повышению выработки провоспалительных цитокинов и большей подверженности органа их действию. Однако в настоящем исследовании мы не обнаружили снижения уровня IGF-1 в ткани почек крыс во всех группах, кроме интактных животных, хотя во всех исследуемых образцах ткани было отмечено повышение уровня IL-18.

Цитокин IL-18 относится к провоспалительным цитокинам, вырабатывается проксимальным трубчатым эпителием после действия нефротоксических факторов. Интерлейкины являются важными медиаторами иммунной реакции в ответе врожденной иммунной системы и адаптивного иммунитета. Все цитокины свободно фильтруются, а затем реабсорбируются и метаболизируются в проксимальных канальцах, следовательно, повышение уровня IL-18 свидетельствует о повреждении этих канальцев [18]. Определение IL-18 в моче позволяет идентифицировать на самой ранней стадии почечное повреждение, вызванное ишемией. Известно также, что антиапототический фактор Bcl-2 находится под контролем IGF-1, что является основным механизмом защиты и выживания почечного эпителия при травме, при этом Bcl-2 регулируется IGF-1 на посттранскрипционном уровне [19].

В отличие от IGF-1 уровень IGF-2 был повышен во всех образцах ткани почки, хотя при наличии сахарного диабета (в группах 2, 4) эти изменения были более выражены, чем в группе 3 (с самостоятельным ростом карциномы Герена). Инсулиноподобный фактор роста 2 (IGF-2) представляет собой митогенный пептидный гормон 7,5 кДа, экспрессируемый

печенью и многими другими тканями. Его в 3 раза больше в сыворотке, чем IGF-1, но понимание физиологической и патологической роли IGF-2 отстает от такового у IGF-1. Экспрессия гена IGF-2 строго регулируется. Чрезмерная экспрессия наблюдается при многих раковых заболеваниях и связана с плохим прогнозом. Чрезмерный уровень IGF-2 в сыворотке крови ассоциирован с повышенным риском развития различных видов рака [16].

В настоящем исследовании IGF-2/IGF-1 свидетельствовало о нарастании гипогликемии ткани почек животных именно при состояниях, связанных с повышением уровня глюкозы в крови, т. е. в основной группе и контрольной с СД. В то же время увеличение соотношения IGF-2/IGFBP-1, с одной стороны, показывало повышение биодоступности IGF-2 при всех изучаемых патологических процессах, с другой стороны, что этот фактор патогномоничен и при злокачественном росте, и при сахарном диабете. Как известно, существует множество общих факторов риска как диабета, так и рака [20]. Очевидно, IGF-2 относится к таким патогномоничным факторам.

В последние десятилетия были предложены новые методы исследования заболеваний почек: канальцевые ферменты, новые биомаркеры острого повреждения почек. Очень многообещающие новые биомаркеры ОПП были названы «почечными тропонинами» и предполагали возможность ранней диагностики заболеваний почек.

Многочисленные исследования касались липокалина, ассоциированного с желатиназой нейтрофилов в моче (NGAL), молекулы повреждения почек-1 (KIM-1), цистатина C (Cyst-C), белка, связывающего жирные кислоты печеночного типа (L-FABP), IL-18. Известно, что повышенный уровень биомаркера дистальных сегментов канальцев NGAL может указывать на то, что воспалением затронуты сегменты дистальных канальцев. Внутрипочечный NGAL резко повышается после ишемического или нефротоксического повреждения почек на уровне транскриптов и белков. Напротив, неизмененный биомаркер проксимальных канальцев KIM-1 может отражать улучшенную оксигенацию коркового слоя [12].

Биомаркеры могут быть локализованы в определенных областях нефrona. Недавно [21] предположили, что биомаркеры IL-18, NGAL, L-FABP, KIM-1 могут помочь охарактеризовать функцию клубочков или канальцев; гломерулярное, канальцевое или интерстициальное повреждение, воспаление. Вместе с тем уровень NGAL может быть повышен при сепсисе, ХБП, инфекции мочеполовых путей, кроме того, отмечено отсутствие конкретных пороговых его значений [22]. Уровень KIM-1 может быть повышен

при хронической протеинурии и воспалительных заболеваниях [23]. L-FABP может быть тесно связан с анемией у пациентов без диабета [24].

Цистатин С продуцируется с постоянной скоростью ядроодержащими клетками, фильтруется клубочковыми клетками, почти полностью реабсорбируется и катаболизируется (но не секретируется) в проксимальных канальцах. За последнее десятилетие выявлено, что цистатин С (CysC), сывороточный показатель функции почек, является более сильным предиктором риска смерти у пожилых людей, чем креатинин [25].

Белок L-FABP из большого суперсемейства липид-связывающих белков имеет массу 14 кДа, может локализоваться преимущественно в проксимальном канальце [25]. С позиций приведенных исследований очевидно, что почки самцов при сахарном диабете, опухоли Герена и сочетанной патологии оказались подвержены любому виду повреждающих воздействий, будь то гипергликемия или стресс, связанный с ростом опухоли. Уровень белка L-FABP увеличивается только в образцах животных с диабетом, включая сочетанную патологию. Уровень цистатина С, напротив, повышается в образцах ткани почек животных с опухолью Герена и сочетанной патологией. Уровень IL-18 и NGAL был повышен в ткани почек самцов при всех исследуемых патологических процессах. То есть у животных мужского пола при различных процессах в той или иной степени проявляется гломерулярное, канальцевое или интерстициальное повреждение. При этом клубочковая фильтрация страдает только при росте опухоли в самостоятельном варианте (группа контроля) или в сочетании с сахарным диабетом. Ранее подобные результаты, связанные с ишемией почки и раком, были получены нами в эксперименте и клинике [26, 27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сахарный диабет, как сопутствующий злокачественному росту процесс, вызывает повышение уровня IGF-2, IGF-2/IGF-1 и IGFBP-1 в образцах почек самцов нелинейных крыс, на фоне роста локального содержания маркеров повреждения почек. Возможно, причину следует искать в предикторной роли половых гормонов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Federation ID. IDF Diabetes Atlas. 9th. Brussels: Belgium: International Diabetes Federation, 2019.
2. Roy A., Maiti A., Sinha A., Baidya A., Basu A.K., Sarkar D. et al. Kidney Disease in Type 2 Diabetes Mellitus and Benefits of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors: A Consensus Statement. *Diabetes Ther.* 2020;11(12):2791–2827. DOI: 10.1007/s13300-020-00921-y.

3. Wang J., Yue X., Meng C., Wang Z., Jin X., Cui X. et al. Acute Hyperglycemia May Induce Renal Tubular Injury Through Mitophagy Inhibition. *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2020;11:536213. DOI: 10.3389/fendo.2020.536213.
4. Romagnani P., Remuzzi G., Glasscock R., Levin A., Jager K. Tonelli M. et al. Chronic kidney disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;3(1, article 17088). DOI: 10.1038/nrdp.2017.88.
5. Burton D.G.A., Faragher R.G.A. Obesity and type-2 diabetes as inducers of premature cellular senescence and ageing. *Biogerontology*. 2018;19(6):447–459. DOI: 10.1007/s10522-018-9763-7.
6. Martinez C.J., Sangros G.J., Garcia S.F., Millaruelo J.M. Chronic renal disease in Spain: prevalence and related factors in persons with diabetes mellitus older than 64 years. *Nefrologia*. 2018;38:401–413.
7. Gao L., Zhong X., Jin J., Li J., Meng X.M. Potential targeted therapy and diagnosis based on novel insight into growth factors, receptors, and downstream effectors in acute kidney injury and acute kidney injury-chronic kidney disease progression. *Signal Transduct. Target Ther.* 2020;5(1):9. DOI: 10.1038/s41392-020-0106-1.
8. Solarek W., Koper M., Lewicki S., Szczylik C., Czarnecka A.M. Insulin and insulin-like growth factors act as renal cell cancer intratumoral regulators. *Journal of Cell Communication and Signaling*. 2019;13(3):381–394. DOI: 10.1007/s12079-019-00512-y.
9. Bach L.A., Hale L.J. Insulin-like growth factors and kidney disease. *Am. J. Kidney Dis.* 2015;65(2):327–336. DOI: 10.1053/j.ajkd.2014.05.024.
10. Wu Z., Yu Y., Niu L., Fei A., Pan S. IGF-1 protects tubular epithelial cells during injury via activation of ERK/MAPK signaling pathway. *Sci. Rep.* 2016;6:28066. DOI: 10.1038/srep28066.
11. Wasung M.E., Chawla L.S., Madero M. Biomarkers of renal function, which and when? *Clin. Chim. Acta*. 2015;438:350–357. DOI: 10.1016/j.cca.2014.08.039.
12. Darawshi S., Yaseen H., Gorelik Y., Faor C., Szalat A., Abassi Z. et al. Biomarker evidence for distal tubular damage but cortical sparing in hospitalized diabetic patients with acute kidney injury (AKI) while on SGLT2 inhibitors. *Renal Failure*. 2020;42(1):836–844. DOI: org/10.1080/0886022X.2020.1801466.
13. Abassi Z., Rosen S., Lamothe S., Heyman S.N. Why have detection, understanding and management of kidney hypoxic injury have lagged behind those for the heart? *JCM*. 2019;8(2):267.
14. Gohda T., Kamei N., Koshida T., Kubota M., Tanaka K., Yamashita Y. et al. Circulating kidney injury molecule-1 as a biomarker of renal parameters in diabetic kidney disease. *J. Diabetes Investig.* 2020;11(2):435–440. DOI: 10.1111/jdi.13139.
15. Жукова Г.В., Шихлярова А.И., Сагакянц А.Б., Протасова Т.П. О расширении вариантов использования мышей BALB/cnude для экспериментального изучения злокачественных опухолей человека *in vivo*. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020;1(2):28–35. DOI: org/10.37748/2687-0533-2020-1-2.
16. Livingston C. IGF2 and cancer. *Endocr. Relat. Cancer*. 2013;0(6):R32–1339. DOI: 10.1530/ERC-13-0231.
17. Wasnik S., Tang X., Bi H., Abdipour A., Carreon E., Sutjiadi B. et al. IGF-1 deficiency rescue and intracellular calcium blockade improves survival and corresponding mechanisms in a mouse model of acute kidney injury. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):4095. DOI: 10.3390/ijms21114095.
18. Kashani K., Cheungpasitporn W., Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2017;55(8):1074–1089. DOI: 10.1515/cclm-2016-0973.
19. Karim C.B., Espinoza-Fonseca L.M., James Z.M., Hanse E.A., Gaynes J.S., Thomas D.D. et al. Structural Mechanism for Regulation of Bcl-2 protein Noxa by phosphorylation. *Sci. Rep.* 2015;5:14557. DOI: 10.1038/srep14557.
20. Wang M., Yang Y., Liao Z. Diabetes and cancer: Epidemiological and biological links. *World Journal of Diabetes*. 2020;11(6):227–238. DOI: 10.4239/wjd.v11.i6.227.
21. Parikh C.R., Mansour S.G. Perspective on clinical application of biomarkers in AKI. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2017;28(6):1677–1685.
22. Medic B., Rovcanin B., Vujovic K.S., Obradovic D., Duric D., Prostran M. Evaluation of novel biomarkers of acute kidney injury: the possibilities and limitations. *Curr. Med. Chem.* 2016;23:1981–1997.
23. Schrezenmeier E.V., Barasch J., Budde K., Westhoff T., Schmidt-Ott K.M. Biomarkers in acute kidney injury – pathophysiological basis and clinical performance. *Acta Physiol. (Physiol.)*. 2017;219:554–572.
24. Imai N., Yasuda T., Kamijo-Ikemori A., Shibagaki Y., Kimura K. Distinct roles of urinary liver-type fatty acid-binding protein in non-diabetic patients with anemia. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126990.
25. Oh D.J. A long journey for acute kidney injury biomarkers. *Renal Failure*. 2020;42(1):154–165. DOI: 10.1080/0886022X.2020.1721300.
26. Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К. Экспрессия молекулярных маркеров острого повреждения почек в динамике экспериментальной ишемии. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2014;(4):12–15.
27. Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Черярина Н.Д. и др. Роль маркеров острого повреждения почек в выборе тактики хирургического лечения больных раком почки. *Онкоурология*. 2015;11(3):34–39.

Вклад авторов

Франциянц Е.М. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи. Бандовкина В.А. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных. Каплиева И.В., Нескубина И.В., Котиева И.М., Трепитаки Л.К. –

разработка концепции и дизайна. Сурикова Е.И. – анализ и интерпретация данных. Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Морозова М.И. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Франциянц Елена Михайловна – д-р биол. наук, профессор, зам. генерального директора по науке, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@ya.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Бандовкина Валерия Ахтямовна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

Каплиева Ирина Викторовна – д-р мед. наук, зав. лабораторией изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, kaplirina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>

Сурикова Екатерина Игоревна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, unsur2000@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>

Нескубина Ирина Валерьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, neskubina.irina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

Погорелова Юлия Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, lora-73@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Трепитаки Лидия Константиновна – лаборант-исследователь, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, legolab69@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, scalolas.92@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>

Котиева Инга Мовлиевна – д-р мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, kukulik70@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0252-4708>

Морозова Мария Игоревна – врач-педиатр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, maria-morozova94@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7640-6021>

(✉) **Бандовкина Валерия Ахтямовна**, super.gormon@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.03.2021;
одобрена после рецензирования 05.04.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.12-005.4-06:[616.155.33:616-018.46]-079.4

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-120-131>

Дифференциация и субпопуляционный состав VEGFR2⁺ моноцитов крови и костного мозга при ишемической кардиомиопатии

Чумакова С.П.¹, Уразова О.И.^{1,2}, Шипулин В.М.³, Денисенко О.А.^{1,4}, Кононова Т.Е.¹, Невская К.В.¹, Андреев С.Л.³

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

² Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники (ТУСУР)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 40

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

⁴ Томский региональный центр крови
Россия, 634045, г. Томск, ул. Вершинина, 45

РЕЗЮМЕ

Цель: установить нарушения дифференцировки и субпопуляционного состава VEGFR2⁺ моноцитов в крови и костном мозге во взаимосвязи с особенностями цитокинового профиля крови и костного мозга у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией (ИКМП).

Материалы и методы. В исследование вошли 74 больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП (30 и 44 человека соответственно), и 18 здоровых доноров. У всех больных ИБС забор периферической крови производился непосредственно перед операцией коронарного шунтирования, а костного мозга – из разреза грудины во время операции. У здоровых доноров забирали только периферическую кровь. В костном мозге и крови методом проточной цитофлуориметрии определяли численность VEGFR2⁺ моноцитов (CD14⁺VEGFR2⁺ клеток) и их иммунофенотипов CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺, CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺, CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺, методом иммуноферментного анализа регистрировали концентрацию VEGF-A, TNF α , M-CSF, IL-13, а также содержание MCP-1 (только в крови) и соотношение M-CSF/IL-13 (только в костном мозге).

Результаты. Содержание CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в крови у больных ИБС без кардиомиопатии и с ИКМП было выше нормы из-за большей численности CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ и CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ форм. В костном мозге у больных ИКМП содержание CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ и CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ форм было ниже, чем у больных ИБС без кардиомиопатии, а количество CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ клеток соответствовало их числу в группе сравнения. Вне зависимости от наличия ИКМП при ИБС в крови отмечалась высокая концентрация TNF α , нормальный уровень VEGF-A и IL-13; при ИБС без кардиомиопатии – избыток MCP-1 и дефицит M-CSF в крови. В костном мозге концентрация VEGF-A, TNF α , M-CSF, IL-13 была сопоставимой между группами больных на фоне снижения M-CSF/IL-13 у пациентов с ИКМП.

Заключение. В отличие от ИБС без кардиомиопатии при ИКМП не формируется избыток VEGFR2⁺ моноцитов и MCP-1 в крови, что затрудняет активную миграцию CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ клеток из миелоидной ткани, а снижение M-CSF/IL-13 в костном мозге нарушает дифференцировку остальных форм VEGFR2⁺ моноцитов, препятствуя репарации сосудов.

✉ Чумакова Светлана Петровна, chumakova_s@mail.ru

Ключевые слова: моноциты, прогениторные эндотелиальные клетки, репарация сосудов, костный мозг, цитокины, ишемическая кардиомиопатия, ишемическая болезнь сердца

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

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет грантов Российского научного фонда (проект № 22-25-00821) и (проект № 22-25-20038), а также средств Администрации Томской области (договор с РОО «ТПС» № 22-04 от 28.06.2022 в рамках реализации регионального проекта РНФ № 22-25-20038).

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследования одобрены локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 5046 от 28.11.2016).

Для цитирования: Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Кононова Т.Е., Невская К.В., Андреев С.Л. Дифференциация и субпопуляционный состав VEGFR2⁺ моноцитов крови и костного мозга при ишемической кардиомиопатии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):120–131. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-120-131>.

Differentiation and subpopulation composition of VEGFR2⁺ cells in the blood and bone marrow in ischemic cardiomyopathy

Chumakova S.P.¹, Urazova O.I.^{1,2}, Shipulin V.M.³, Denisenko O.A.^{1,4}, Kononova T.E.¹, Nevskaya K.V.¹, Andreev S.L.³

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics (TUSUR)

40, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

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

⁴ Tomsk Regional Blood Center

45, Vershinina Str., Tomsk, 634045, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To identify disturbances of differentiation and subpopulation composition of VEGFR2⁺ cells in the blood and bone marrow associated with the features of the cytokine profile in the blood and bone marrow in patients with coronary artery disease (CAD) with and without ischemic cardiomyopathy (ICM).

Materials and methods. The study included 74 patients with CAD with and without ICM (30 and 44 people, respectively) and 18 healthy donors. In all patients with CAD, peripheral blood sampling was performed immediately before coronary artery bypass grafting, and bone marrow samples were taken during the surgery via a sternal incision. In the healthy donors, only peripheral blood sampling was performed. In the bone marrow and blood samples, the number of VEGFR2⁺ cells (CD14⁺VEGFR2⁺ cells) and their immunophenotypes CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺, CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺, and CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ was determined by flow cytometry. Using enzyme-linked immunosorbent assay, the levels of VEGF-A, TNF α , M-CSF, and IL-13, as well as the content of MCP-1 (only in the blood) and the M-CSF / IL-13 ratio (only in the bone marrow) were determined.

Results. The content of CD14⁺VEGFR2⁺ cells in the blood of CAD patients with and without ICM was higher than normal values due to the greater number of CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺, and CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺. In the bone marrow of the patients with ICM, the content of CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺, and CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ was lower than in patients with CAD without ICM, and the number of CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ cells corresponded to that in the controls. Regardless of the presence of ICM in CAD, a high concentration of TNF α and normal levels of VEGF-A and IL-13 were observed in the blood. In CAD without ICM, an excess of MCP-1 and deficiency of M-CSF were revealed in the blood. In the bone marrow, the levels of

VEGF-A, TNF α , M-CSF, and IL-13 were comparable between the groups of patients against the background of a decrease in the M-CSF / IL-13 ratio in the patients with ICM.

Conclusion. Unlike CAD without cardiomyopathy, in ICM, no excess of VEGFR2⁺ cells and MCP-1 in the blood is observed, which hinders active migration of CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ cells from the myeloid tissue, and a decrease in the M-CSF / IL-13 ratio in the bone marrow disrupts differentiation of other forms of VEGFR2⁺ cells, preventing vascular repair.

Keywords: endothelial progenitor cells, monocytes, bone marrow, cytokines, vascular repair, ischemic cardiomyopathy, coronary artery disease

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 Russian Science Foundation grants (project No. 22-25-00821 and project No. 22-25-20038) and funds from the Administration of the Tomsk region.

Conformity with the principles of ethics. All study participants signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 5046 of 28.11.2016).

For citation: Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Denisenko O.A., Kononova T.E., Nevskaya K.V., Andreev S.L. Differentiation and subpopulation composition of VEGFR2⁺ cells in the blood and bone marrow in ischemic cardiomyopathy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):120–131. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-120-131>.

ВВЕДЕНИЕ

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) является осложненной формой хронической ишемической болезни сердца (ИБС) и служит одной из наиболее частых причин смертности во всем мире от сердечно-сосудистых заболеваний [1]. ИКМП характеризуется дилатацией камер сердца, типертрофией (преимущественно левого желудочка) и снижением насосной функции сердца с формированием хронической сердечной недостаточности [2]. Считается, что в основе развития ИКМП лежит нарушение сократительной функции миокарда вследствие коронарной микрососудистой дисфункции, которая является триггером распространенной ишемии и гибернации миокарда, некроза и апоптоза кардиомиоцитов с последующим фиброзированием и ремоделированием желудочек [1, 2]. Известно, что эндотелий играет важную роль в физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы, модулируя тонус сосудов, гемокоагуляцию, обмен жидкости и растворенных веществ, а также воспаление и ангиогенез [3–5].

При этом в литературе эндотелиальная дисфункция рассматривается в основном как дисбаланс вазоконстрикторных и вазодилататорных стимулов, а процессам регенерации эндотелия не уделяется должного внимания. Между тем нарушение reparации эндотелия может быть важным патогенетическим фактором ИКМП, что обосновывает изучение механизмов дифференциации и миграции прогениторных эндотелиальных клеток (ПЭК) при данной патологии.

В основном ПЭК присутствуют в костном мозге, созревая из гемопоэтических стволовых клеток, но также могут быть выделены из периферической крови и стенок сосудов [6, 7]. На всех этапах дифференцировки эндотелиальные клетки, в том числе ПЭК, экспрессируют рецептор 2-го типа для VEGF (VEGFR2), который ассоциирован с тирозинкиназой и является основным активатором ангиогенеза, поскольку фосфорилирование его домена Y1175 активирует пролиферацию, а Y951 и Y1214 доменов – миграцию клеток [8]. Установлено, что под воздействием проангидиогенных стимулов мононуклеарные клетки крови *in vitro* могут приобретать эндотелиальные маркеры и морфологию эндотелиоцитов [7], что указывает на их смешанный фенотип и позволяет предположить актуальность исследования моноцитарных VEGFR2⁺ клеток (CD14⁺VEGFR2⁺-клеток), относящихся к ранним ПЭК, имеющим слабую экспрессию CD34 [9, 10]. В литературе описана субпопуляционная принадлежность CD14⁺VEGFR2⁺ клеток к различным иммунофенотипам моноцитов (классические CD14⁺⁺CD16⁻, промежуточные CD14⁺⁺CD16⁺, неклассические CD14⁺CD16⁺⁺ и переходные CD14⁺CD16⁻) у здоровых доноров [11], однако информация об изменениях соотношения субпопуляций CD14⁺VEGFR2⁺ клеток при сердечно-сосудистой патологии не встречается.

Известно, что в норме эндотелиальные клетки-предшественницы являются очень малочисленной популяцией в крови, но при повреждении или гипоксии ПЭК мобилизуются из костного мозга

под действием цитокинов и привлекаются в зону повреждения [12]. В модели ангиогенеза на мышах S.K. Chauhan и соавт. (2015) идентифицировали мононуклеарные клетки, экспрессирующие протеинтирозинкиназу 7 и VEGFR2 (как потомки субпопуляции моноцитов-макрофагов, располагающихся в периваскулярной области формирующихся *de novo* сосудов), а также экспрессирующие маркеры перипцитов и секретирующие ангиопоэтин-1 и другие про-ангиогенные факторы [13].

Процесс мобилизации ПЭК активируется несколькими цитокинами: фактором роста эндотелия сосудов (VEGF), индуцируемым гипоксией фактором 1 (HIF-1), интерлейкином (IL) 6 [14, 15], моноцитарным хемотактическим протеином (MCP) 1 [15, 16], фактором некроза опухоли α (TNF α) [6], колониестимулирующим фактором макрофагов (M-CSF) [17]. При этом не исключено, что увеличение численности ПЭК в крови может быть связано и с интенсификацией их дифференциации в миелоидной ткани. M-CSF, IL-6 и TNF α могут быть вовлечены в процесс созревания ПЭК как провоспалительные цитокины, стимулирующие созревание клеток моноцитарного ряда [18], а VEGF – как цитокин, имеющий специфические рецепторы на мемbrane ПЭК [10, 13]. Кроме того, негативное влияние на миелопоэз могут оказывать противовоспалительные цитокины, а именно продуцируемый T-регуляторными клетками (Treg) IL-13, который индуцирует секрецию IL-10 макрофагами [19].

Примечательно, что информация о влиянии цитокинов на дифференциацию ПЭК и о содержании моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов CD14 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ в костном мозге или крови у больных ИКМП в литературе не встречается. Не описаны изменения субпопуляционной принадлежности ПЭК к различным иммунофенотипам моноцитов при ИБС, осложненной и неосложненной ИКМП. Между тем выявление характерных для ИКМП девиаций выше названных показателей и понимание роли цитокинов в дифференциации и миграции ПЭК при ИБС могло бы стать залогом успешного лечения ИКМП.

Цель: установить нарушения дифференцировки и субпопуляционного состава VEGFR2 $^{+}$ моноцитов в крови и костном мозге во взаимосвязи с особенностями цитокинового профиля крови и костного мозга у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное, контролируемое (случай – контроль), одноцентровое, наблюдательное исследование с участием 74 больных ИБС со стенокардией напряжения II–IV функционального класса

и недостаточностью кровообращения II–III класса по NYHA, страдающих ИКМП (27 мужчин и 3 женщины, возраст 61,0 [56,0; 64,0] лет) и не страдающих ИКМП (36 мужчин и 8 женщин, возраст 64,0 [59,5; 68,0] лет), имеющих инфаркт миокарда в анамнезе. Группу сравнения составили 18 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с когортами пациентов.

Критериями диагностики ИКМП являлись следующие показатели: фракция выброса левого желудочка $\leq 40\%$, острый инфаркт миокарда или реваскуляризация в анамнезе, стеноз $\geq 75\%$ левой основной или проксимальной части левой нисходящей артерии или $\geq 75\%$ стеноз двух или более эпикардиальных сосудов [20]. Больные не имели достоверных отличий по величине функционального класса стенокардии и сердечной недостаточности, частоте встречаемости гипертонической болезни (III стадия), заболеваний желудочно-кишечного тракта и легких. Но у пациентов с ИКМП определялась большая частота хронических нарушений мозгового кровообращения (у 90 против 59,09%, $p = 0,023$), у больных ИБС без кардиомиопатии – сахарного диабета 2-го типа (у 31,82 против 6,67%, $p = 0,046$). Критериями исключения больных из исследования считали наличие аутоиммунных заболеваний, аллергического процесса в стадии обострения, опухолевого процесса, гипопластической, В₁₂- или фолиеводефицитной анемий, лейкозов и других гематологических заболеваний и синдромов, хронических инфекций (вирусных гепатитов, сифилиса, ВИЧ-инфекции), проведение до операции курсов лечения железосодержащими препаратами, эритропоэтиновой или иммуносупрессивной терапии и наличие острых инфекционных заболеваний менее чем за 3 нед до операции, а также отказ пациента от исследования.

Пациентам была проведена операция коронарного шунтирования в сочетании с реконструкцией полости левого желудочка в условиях искусственного кровообращения на базе отделения сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии Томского НИМЦ. На дооперационном этапе больным ИБС обеих групп исследования проводилось сходное лечение лекарственными средствами: антиангинальная терапия с применением нитратов продленного действия, бета₁-адреноблокаторов, блокаторов Ca²⁺-каналов, коррекция гемостаза путем назначения антиагрегантов и коррекция липидного обмена с использованием статинов. Премедикация и индукция в наркоз больных обеих групп исследования проводились аналогичным образом с использованием седативных и наркозных средств, наркотических анальгетиков и миорелаксантов (диазепама, кетамина, фентанила, промедола, пипекурония) в сопоставимых дозах.

Непосредственно перед операцией у всех больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, производился забор 5 мл периферической крови из локтевой вены, которую стабилизировали гепарином (25 Ед/мл). Во время операции после получения доступа к сердцу путем срединной стернотомии и до начала искусственного кровообращения осуществлялся забор красного костного мозга из разреза грудины в количестве 2 мл в пробирку с добавлением гепарина (25 Ед/мл).

В образцах крови и костного мозга у больных обеих групп исследования и в крови здоровых доноров на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ определяли относительное содержание CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в общей популяции моноцитов (принимая за 100% клетки, положительные по CD14), исследовали распределение CD14⁺VEGFR2⁺ клеток среди субпопуляций моноцитов (классических CD14⁺⁺CD16⁻, промежуточных CD14⁺⁺CD16⁺, неклассических CD14⁺CD16⁺⁺, переходных CD14⁺CD16⁻ моноцитов), определяя долю CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺, CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺, CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток от общего количества CD14⁺VEGFR2⁺ клеток (принимая за 100% клетки, положительные по CD14 и VEGFR2) в крови методом проточной лазерной цитофлуориметрии.

Для идентификации субпопуляций исследуемых клеток крови использовали моноклональные антитела CD14-FITC, CD16-PE, VEGFR2 (KDR, CD309)-Alexa Fluor 647 (BD Biosciens, США). Абсолютное содержание вышеперечисленных субпопуляций клеток оценивали, исходя из их доли и абсолютного содержания моноцитов в костном мозге, определяя стандартными гематологическими методами общее количество миелокариоцитов с помощью камеры Горяева и долю моноцитарных клеток (моноциты и промоноциты) среди таковых путем микроскопии мазков костного мозга, а также исходя из абсолютного содержания моноцитов в крови, которое фиксировали из данных анализа клинических карт пациентов.

Плазму крови и миелоплазму (надсадок костного мозга) больных получали путем центрифугирования соответствующего биоматериала 15 мин при 2 000g, консервировали и хранили при температуре –80 °С. Концентрацию TNF α , MCP-1, IL-13, M-CSF и фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A) определяли на базе кафедры патофизиологии СибГМУ Минздрава России с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» и «MCP-1-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск), Human IL-13 Platinum ELISA (eBioscience, Австрия), RayBio Human M-CSF

ELISA Kit (RayBiotech, США), Human VEGF-A ELISA Kit (Clou-Clone-Corp., США).

Для статистического описания результатов исследования вычисляли медиану и интерквартильный диапазон Me [Q_1 ; Q_3]. Ввиду малочисленности выборок и несоответствия распределения выборочных данных нормальному закону применяли непараметрические методы статистического анализа. С целью проверки нулевой гипотезы при сравнении независимых выборок использовали U -критерий Манна – Уитни с поправкой Бенджамина – Хохберга на множественное сравнение. Для анализа взаимосвязей рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Результаты считали статистически значимыми при уровне p менее 0,05. Данные анализировали с помощью программы Statistica for Windows 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенных исследований установлено, что общее содержание моноцитов, включающее все субпопуляции этих клеток, в крови у больных ИБС вне зависимости от наличия ИКМП соответствовало норме (табл. 1). При этом численность CD14⁺VEGFR2⁺ клеток оказалось повышенной лишь у больных ИБС без кардиомиопатии и достоверно отличалась от физиологических значений данного показателя у пациентов с ИКМП (см. табл. 1).

Субпопуляционный состав CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в зависимости от интенсивности экспрессии CD14- и CD16-молекул на моноцитах периферической крови у пациентов с ИКМП полностью соответствовал таковому у здоровых доноров (рис. 1). В то же время у больных ИБС без кардиомиопатии отмечалось повышенное содержание неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ моноцитов относительно нормы и отчетливая тенденция ($p = 0,072$) к увеличению численности классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток в крови. При этом у данной категории больных содержание VEGFR2⁺ моноцитов всех иммунотипов определялось выше, чем у пациентов с ИКМП (за исключением равных значений для переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток, см. рис. 1).

В костном мозге общее содержание моноцитарных клеток, а также относительное и абсолютное количество CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов были сопоставимы между группами больных ИБС, однако имелись характерные особенности субпопуляционного состава этих клеток (табл. 2, рис. 2). Так, численность классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ и переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток в костном мозге у больных ИБС без кардиомиопатии превышала их содержание у пациентов с ИКМП.

Таблица 1

Содержание моноцитов, цитокинов, клеток CD14 ⁺ VEGFR2 ⁺ в крови у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, Me [\bar{Q}_1 ; \bar{Q}_3]			
Показатель	Здоровые доноры	Больные ИБС без ИКМП	Больные ИБС с ИКМП
Содержание моноцитов, $\times 10^9/\text{л}$	0,58 [0,40; 0,66]	0,57 [0,50; 0,76] $p_{\kappa} = 0,616$	0,67 [0,57; 0,73] $p_{\kappa} = 0,189$ $p = 0,464$
Содержание CD14 ⁺ VEGFR2 ⁺ клеток, %	1,91 [0,75; 3,92]	4,98 [3,86; 10,12] $p_{\kappa} = 0,006$	2,13 [0,95; 2,66] $p_{\kappa} = 0,665$ $p = 0,002$
Содержание CD14 ⁺ VEGFR2 ⁺ клеток, $\times 10^6/\text{л}$	15,25 [5,07; 22,70]	26,01 [24,24; 34,31] $p_{\kappa} = 0,049$	13,16 [8,51; 15,97] $p_{\kappa} = 0,685$ $p = 0,024$
VEGF-A, пг/мл	6,50 [1,75; 13,25]	7,00 [4,50; 15,25] $p_{\kappa} = 0,721$	7,00 [6,00; 13,00] $p_{\kappa} = 0,415$ $p = 0,811$
TNF α , пг/мл	0,64 [0,04; 0,83]	1,16 [0,90; 1,82] $p_{\kappa} = 0,012$	2,08 [1,04; 3,60] $p_{\kappa} = 0,009$ $p = 0,247$
MCP-1, пг/мл	175,0 [145,0; 185,0]	225,0 [182,0; 280,0] $p_{\kappa} = 0,027$	205,0 [170,0; 260,0] $p_{\kappa} = 0,104$ $p = 0,660$
IL-13, пг/мл	0,50 [0,40; 0,75]	0,60 [0,41; 0,82] $p_{\kappa} = 0,683$	0,82 [0,40; 0,95] $p_{\kappa} = 0,420$
M-CSF, пг/мл	2,50 [1,60; 4,40]	0,40 [0,12; 2,37] $p_{\kappa} = 0,046$	2,00 [1,21; 3,24] $p_{\kappa} = 0,177$ $p = 0,097$

Примечание. Уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием цитокинов и (или) клеток у здоровых доноров – p_{κ} , у больных ИБС – p (здесь и в табл. 2).

Примечательно, что количество промежуточных CD14⁺CD16⁺VEGFR2⁺ моноцитов в костном мозге у больных ИБС обеих групп было сопоставимым, а в

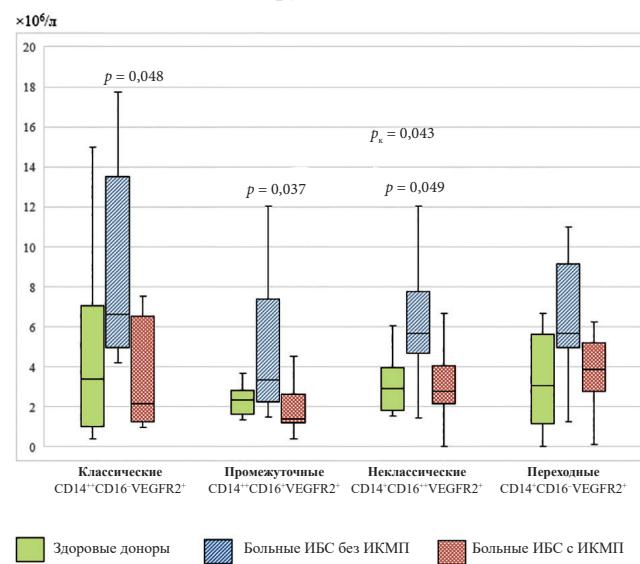


Рис. 1. Субпопуляционный состав CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов крови у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией: p_{κ} – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием клеток у здоровых доноров, p – у больных ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии

крови – отличным: у пациентов с ИКМП оно было в 2,4 раза меньше, чем у больных ИБС без кардиомиопатии (см. рис. 2).

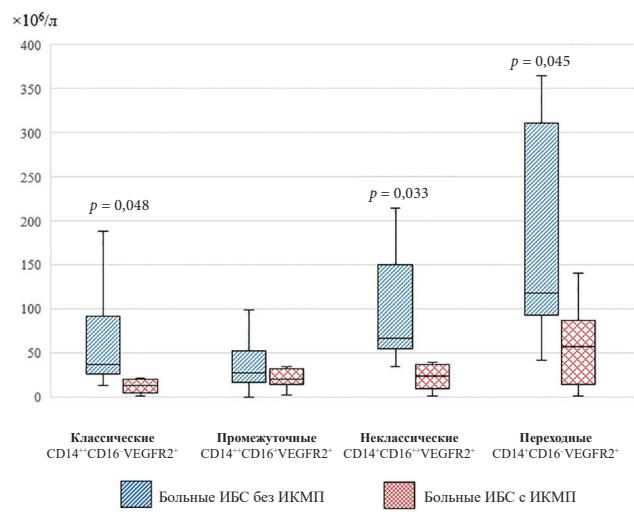


Рис. 2. Субпопуляционный состав CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов костного мозга у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией: p – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием клеток у больных ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии

Таблица 2

Содержание моноцитарных клеток, цитокинов, CD14 ⁺ VEGFR2 ⁺ -клеток в костном мозге у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, $Me [Q_1; Q_3]$		
Показатель	Больные ИБС без ИКМП	Больные ИБС с ИКМП
Содержание моноцитарных клеток, $\times 10^9$ /л	1,05 [0,84; 1,57]	0,89 [0,71; 1,40] $p = 0,525$
Содержание CD14 ⁺ VEGFR2 ⁺ клеток, %	27,85 [22,57; 42,88]	28,30 [11,98; 36,21] $p = 0,637$
Содержание CD14 ⁺ VEGFR2 ⁺ клеток, $\times 10^6$ /л	343,90 [208,75; 638,10]	223,90 [38,20; 546,10] $p = 0,325$
VEGF-A, пг/мл	18,50 [12,10; 25,30]	21,00 [16,00; 28,50] $p = 0,344$
TNF α , пг/мл	10,80 [9,90; 21,84]	18,06 [14,15; 19,40] $p = 0,517$
IL-13, пг/мл	1,00 [0,80; 1,23]	1,22 [0,80; 2,41] $p = 0,874$
M-CSF, пг/мл	7,16 [3,45; 16,33]	3,22 [1,20; 8,04] $p = 0,792$
M-CSF / IL-13	9,00 [2,13; 22,09]	1,02 [0,41; 2,00] $p = 0,047$

Корреляционный анализ параметров клеточного состава VEGFR2⁺ моноцитов в крови выявил у больных ИБС без кардиомиопатии две положительные взаимосвязи: абсолютного содержания CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов с числом классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ форм ($r_s = 0,86$; $p < 0,01$), количества переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ моноцитов с численностью неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ клеток ($r_s = 0,93$; $p < 0,01$), а у пациентов с ИКМП установил три положительные корреляции – абсолютного содержания CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов с числом классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ ($r_s = 0,74$; $p < 0,01$), неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ ($r_s = 0,79$; $p < 0,01$) и переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ ($r_s = 0,81$; $p < 0,01$) моноцитов. Аналогичная корреляционная картина у больных ИКМП обнаруживалась и в костном мозге при наличии положительной связи количества классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ моноцитов с числом неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ ($r_s = 0,90$; $p < 0,05$) клеток, а у больных ИБС без кардиомиопатии в костном мозге устанавливалась прямо пропорциональная связь абсолютного содержания CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов с их неклассической субпопуляцией ($r_s = 0,71$; $p < 0,05$).

Вне зависимости от наличия ИКМП концентрация VEGF-A и IL-13 в крови у больных ИБС варьировалась в пределах физиологических значений, а содержание TNF α превышало норму. При этом у больных ИБС без кардиомиопатии отмечался избыток MCP-1 и дефицит M-CSF в отличие от пациентов с ИКМП, у которых содержание данных цитокинов сохранялось аналогичным таковому у здоровых доноров (см. табл. 1). В костном мозге концентрация VEGF-A,

IL-13, TNF α и M-CSF у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, была сопоставимой, характеризуясь у пациентов с ИКМП тенденцией к большим значениям TNF α и меньшим значениям M-CSF. При этом в ходе визуального анализа данных были отмечены реципрокные изменения уровня M-CSF и IL-13 в костном мозге у многих пациентов, что побудило рассчитать коэффициент M-CSF/IL-13, который у больных ИБС без кардиомиопатии оказался в 9 раз выше, чем у пациентов с ИКМП (см. табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным, у больных ИБС без кардиомиопатии обнаруживается почти двухкратное увеличение содержания CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов в крови как относительно нормы, так и у пациентов с ИКМП (см. табл. 1). Данное явление у больных ИБС без кардиомиопатии можно рассматривать как компенсаторную реакцию организма в условиях атерогенеза. Аккумуляция в атероме наруженных липидами макрофагов сопровождается активацией в них NADPH-оксидазной системы с последующей генерацией активных форм кислорода, а также секрецией макрофагами матриксных металло-протеиназ 2-го и 9-го типа, повреждающих элементы межклеточного матрикса и базальную мембрану сосудов, что приводит к деструкции сосудистого эндотелия [21].

В то же время вследствие повреждения сосудов, ишемии и гипоксии происходит активация эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), которая индуцирует высвобождение из эндотелия и клеток тканей проангиогенных факторов (HIF-1 α , VEGF и др.), миграцию и пролиферацию ПЭК [22]. Поскольку

CD14⁺VEGFR2⁺ моноциты относятся к ранним ПЭК, способным паракринным образом стимулировать дифференцировку клеток сосудов и препятствовать их апоптозу путем секреции VEGF и ангиоэтина-1 и других проангиогенных факторов [10, 13], то физиологический уровень CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов в крови у пациентов с ИКМП (см. табл. 1) на фоне верифицированного атеросклеротического процесса можно рассматривать как отсутствие компенсаторной реакции организма, направленной на репарацию сосудов при их повреждении.

Анализ субпопуляционного состава CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов крови демонстрирует, что их переходный CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ иммунофенотип не вовлечен в увеличение численности общей популяции CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в крови у больных ИБС без кардиомиопатии (см. рис. 1). Это объясняется тем, что переходные CD14⁺CD16⁻ клетки представляют собой незрелые формы моноцитов, сосредоточенные преимущественно в костном мозге, а в крови составляют около 6% [23], поэтому CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клетки не поступают в кровоток в большом количестве. Однако, несмотря на малочисленность данной популяции моноцитов в крови, переходные CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ моноциты составляют 25–35% от всех CD14⁺VEGFR2⁺ клеток у здоровых доноров и у больных ИБС (см. рис. 1). Это свидетельствует, вероятно, о значимой проангиогенной роли переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток как более молодых представителей клеток моноцитарного ряда в крови, но в меньшей степени подверженных модуляции собственной численности в кровотоке.

В наибольшей степени количественным изменениям в крови подвержены зрелые формы CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов. Так, согласно полученным данным, увеличение их общего содержания в крови у больных ИБС относительно таковых у пациентов с ИКМП происходит за счет почти трехкратного накопления классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ и промежуточных CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ форм при двухкратном увеличении количества неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ клеток, однако численность последних при этом превышает даже показатель у здоровых доноров (см. рис. 1). Следовательно, содержание неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ клеток в крови представляет собой параметр, наименее варьирующий и более точно отражающий усиление репарации сосудов при сердечно-сосудистой патологии.

Ранее нами было показано, что отличительной особенностью пациентов с ИКМП является дефицит неклассических моноцитов в крови (вне зависимо-

сти от экспрессии VEGFR2 на их мембране), которые способны элиминировать иммунные комплексы и погибшие клетки с поверхности интимы сосудов и защищать ее от повреждения [24]. В связи с тем, что наибольшей экспрессией VEGFR2 и VEGFR1, а также долей VEGFR2⁺ клеток характеризуются промежуточные моноциты, а классические и неклассические – несколько меньшей (8,25; 5,00 и 2,80% от соответствующей популяции моноцитов) [11], и, вероятно, именно промежуточные формы обладают высокой проангиогенной активностью, то обращает на себя внимание тенденция к снижению численности этой субпопуляции клеток в крови у пациентов с ИКМП относительно нормы (см. табл. 1). Ввиду этого можно предположить, что при ИКМП не только отсутствует компенсаторная активация репарации сосудов при атеросклерозе в виде накопления CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в крови и снижается очищение эндотелия от иммунных комплексов при дефиците неклассических моноцитов, но и имеется тенденция к недостаточности физиологической регенерации сосудистого эндотелия с участием промежуточных CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ моноцитов.

Причиной отсутствия роста числа CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в крови при ИКМП, вероятно, являются особенности цитокинового профиля крови. При равнозначном в когортах пациентов профиците TNF α и физиологическом уровне VEGF-A, IL-13 в крови у больных обеих групп у больных ИБС без кардиомиопатии отмечался избыток MCP-1 и дефицит M-CSF в крови, а концентрация этих цитокинов у пациентов с ИКМП соответствовала норме (см. табл. 1). Следовательно, увеличение содержания CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов в крови у больных ИБС с ИКМП ассоциировано с накоплением MCP-1 и не зависит от плазменной концентрации M-CSF. Известно, что в физиологических условиях дифференцировка моноцитов и макрофагов определяется концентрацией M-CSF, который конститтивно синтезируется стромальными клетками-предшественницами, фибробластами и макрофагами, однако в условиях воспаления большее значение в регуляции гемопоэза и моноцитопоэза приобретает колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF) [25]. Кроме того, в присутствии M-CSF или GM-CSF предшественники моноцитов в костном мозге интенсивно пролиферируют и дифференцируются, после чего зрелые моноциты становятся рефрактерными к этим стимулам роста [26], а receptor для M-CSF им необходим, прежде всего, для регуляции дифференцировки макрофагов [27]. Поэтому, вероятно, не M-CSF, а MCP-1, как провоспалительный цитокин и мощнейший хемоаттрактант для моноцитов и макро-

фагов [21, 24], участвует в миграции моноцитарных CD14⁺VEGFR2⁺ клеток из миелоидной ткани в кровь у больных ИБС без кардиомиопатии.

Сопоставимое количество CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в костном мозге у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП (см. табл. 2), при наличии у них различий по этому показателю в крови (см. табл. 1) позволяет предварительно заключить, что при ИКМП нарушается лишь миграция CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов в кровоток без изменений процесса их дифференцировки в миелоидной ткани. Между тем при анализе субпопуляционного состава CD14⁺VEGFR2⁺ клеток становится очевидным, что это присуще только промежуточным CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ моноцитам, число которых в крови, действительно, оказалось сопоставимым между группами пациентов на фоне их повышенных значений в крови у больных ИБС без кардиомиопатии (см. рис. 1, 2).

Как обсуждалось выше, высокая плазменная концентрация MCP-1 у этих пациентов (см. табл. 1), по-видимому, позволяет CD14⁺VEGFR2⁺ клеткам активно мигрировать из костного мозга в кровь, чего не отмечается у пациентов с ИКМП. Однако костный мозг содержит большое количество гемопоэтических и стромальных стволовых клеток и клеток-предшественниц, которые находятся в изобилующем факторами микроокружении на разных стадиях дифференцировки и становятся разными подмножествами клеток [12]. Так, содержание классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ и неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ моноцитов в миелоидной ткани у больных ИБС без кардиомиопатии превышало аналогичные показатели у пациентов с ИКМП почти в 3 раза, а численность переходных CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ моноцитов – в 2 раза (см. рис. 2). Следовательно, при ИКМП нарушается дифференцировка этих трех субпопуляций CD14⁺VEGFR2⁺ моноцитов, что и объясняет тенденцию к снижению общего количества CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в костном мозге у пациентов с ИКМП.

Сравнительный анализ концентрации VEGF-A, TNF α , IL-13 и M-CSF в миелоидной ткани у больных ИБС не выявил отличий между группами пациентов, что не позволяет выделить определенный цитокин, ответственный за нарушение дифференцировки CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в костном мозге при ИКМП. Вместе с этим наблюдение отчетливой тенденции к повышенным значениям M-CSF у больных ИБС без кардиомиопатии при реципрокных (у многих пациентов) изменениях IL-13 в костном мозге позволило рассчитать соотношение этих цитокинов и выявить девятикратное снижение коэффициента M-CSF/IL-13 у пациентов с ИКМП относительно его величины

у больных ИБС без кардиомиопатии. Это имеет важное значение, так как данные цитокины обладают различным действием на моноцитопоэз.

Стимуляция рецептора для M-CSF (CSF-1R), экспрессия которого в 10 раз возрастает в ряду клеток «колониеобразующая единица макрофагов – моноblast – промоноцит – моноцит – макрофаг», индуцирует раннюю реакцию моноцитарных клеток в виде усиления синтеза белка и реорганизации актиновой сети цитоскелета, позднее – дифференцировку и пролиферацию макрофагов с трофическими и рост-стимулирующими свойствами. В ходе миелопоэза пролиферативный ответ на M-CSF возможен именно в миелобластах за счет повышенная активности протеинкиназы С ζ -типа, стимулирующей путь Erk1/2. В промоноцитах данный фермент отсутствует, и стимуляция CSF-1R приводит только к их дифференцировке с участием пути PI3K/Akt, который также обеспечивает выживаемость моноцитов/макрофагов [28, 29].

Наряду с этим продуцируемый Treg IL-13, действуя на моноциты, обладает дифференцировочным потенциалом (индуцирует созревание моноцитов в макрофаги альтернативного типа и секрецию ими иммуносупрессорного IL-10) [19], но пролиферативный и антиапоптотический его эффекты на моноцитарные клетки не описаны. В моноцитах IL-13 активирует STAT 1, 3, 5, 6 с помощью киназ Jak2 и Tyk2, ингибирует синтез провоспалительных цитокинов, включая IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , и подавляет поверхностную экспрессию Fc-рецептора для IgG (то есть CD16-молекул) [30]. Последнее, вероятно, объясняет пониженное содержание неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ моноцитов в костном мозге у пациентов с ИКМП относительно больных ИБС без кардиомиопатии (см. табл. 2). Уменьшение численности неэкспрессирующих CD16-молекулы классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ и переходных CD14⁺⁺CD16⁺VEGFR2⁺ клеток у пациентов с ИКМП (см. табл. 2) скорее связано как с недостаточной пролиферацией, так и с пониженной выживаемостью моноцитарных клеток в костном мозге при низком соотношении M-CSF/IL-13. Таким образом, высокое соотношение M-CSF/IL-13 у больных ИБС без кардиомиопатии свидетельствует о преобладании пролиферативного, антиапоптотического и дифференцировочного сигналов M-CSF в моноцитарных предшественниках над IL-13-опосредованном стимулом, блокирующим созревание наиболее дифференцированных CD16⁺ форм VEGFR2⁺ моноцитов. При ИКМП эти сигналы в моноцитарных клетках уравновешены (соотношение M-CSF/IL-13 близко к единице, см. табл. 2).

Результаты корреляционного анализа показателей субпопуляционного состава VEGFR2⁺ моноци-

тов демонстрируют, что у больных ИБС содержание CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в костном мозге определяется количеством неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ форм, а в крови – числом классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ форм, как наиболее многочисленной субпопуляции моноцитов крови у этих больных. В крови у пациентов с ИКМП наиболее многочисленной является популяция переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ моноцитов, определяя, наряду с классическими CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ и неклассическими CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ формами, общую численность CD14⁺VEGFR2⁺ клеток как в крови, так и в костном мозге. При этом соотношение между субпопуляциями CD14⁺VEGFR2⁺ клеток у пациентов с ИКМП равнозначное в обеих тканях (см. рис. 1, 2), а у больных ИБС без кардиомиопатии доминирующей популяцией в костном мозге являются переходные CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺, в крови – классические CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ моноциты.

В совокупности это означает, что при ИКМП не происходит дальнейшей дифференцировки CD14⁺VEGFR2⁺ клеток и их субпопуляционный состав в крови соответствует таковому в костном мозге, где неклассические CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ моноциты дифференцируются из классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток (согласно результатам корреляции, см. выше). При ИБС без кардиомиопатии образование неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ клеток осуществляется не только в костном мозге, но, вероятно, продолжается в крови из переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ моноцитов (согласно корреляции). По всей видимости, образование классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ и переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток происходит в большей степени конститтивно, а генерация неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ – индуцибельно. Примечательно, что содержание промежуточных CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ моноцитов не коррелировало ни с численностью других их субпопуляций, ни с общим количеством CD14⁺VEGFR2⁺ клеток, что может объясняться сочетанием дифференцировки этих моноцитов с параллельным их хумингом в сосудистую стенку как субпопуляции CD14⁺VEGFR2⁺ клеток, имеющих максимальную степень экспрессии VEGFR2⁺ молекул на моноцитах [11]. Показано, что ПЭК участвуют в ангиогенезе непосредственно путем включения в сосудистую стенку в области роста сосудов и косвенно путем секреции проангиогенных факторов [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, развитие ИКМП, очевидно, сопряжено с недостаточной репарацией сосудов ввиду отсутствия компенсаторной реакции организма

в форме увеличения при атерогенезе численности CD14⁺VEGFR2⁺ клеток, относящихся к ПЭК. Содержание CD14⁺VEGFR2⁺ клеток в крови при ИКМП снижено относительно их числа у больных ИБС без кардиомиопатии за счет меньшей численности классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺, промежуточных CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ и неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ форм. При этом в костном мозге у больных ИКМП вследствие низкого соотношения M-CSF/IL-13 понижена (относительно больных ИБС без ИКМП) дифференцировка их предшественников – переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток, и, как следствие, классических CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ и неклассических CD14⁺CD16⁺⁺VEGFR2⁺ форм. Образование последних при ИКМП не активируется ни на уровне костного мозга, ни в кровотоке из переходных CD14⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток, что, напротив, характерно для больных ИБС без кардиомиопатии.

Созревание промежуточных CD14⁺⁺CD16⁻VEGFR2⁺ клеток в миелоидной ткани не страдает, а их меньшее содержание в крови обусловлено отсутствием активной миграции этих форм из костного мозга в условиях физиологической концентрации MCP-1 в крови, которая у больных ИБС без кардиомиопатии повышена. При этом концентрация VEGF-A и TNF α в крови и костном мозге, вероятно, не влияет на численность CD14⁺VEGFR2⁺ клеток и их субпопуляций. Следовательно, они дифференцируются и мигрируют из миелоидной ткани, как моноцитарные клетки при воспалении, и медиатор гипоксии VEGF-A контролирует эти процессы в меньшей степени (ввиду отсутствия роста его концентрации в крови и костном мозге). Знание подобных закономерностей генерации и миграции ПЭК поможет в будущем индуцировать этот процесс у больных ИКМП и разработать новый метод лечения данного тяжелого заболевания сердца.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Chen C., Tian J., He Z., Xiong W., He Y., Liu S. Identified three interferon induced proteins as novel biomarkers of human ischemic cardiomyopathy. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(23):13116. DOI: 10.3390/ijms222313116.
- Dang H., Ye Y., Zhao X., Zeng Y. Identification of candidate genes in ischemic cardiomyopathy by gene expression omnibus database. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2020;20(1):320. DOI: 10.1186/s12872-020-01596-w.
- Cui S., Men L., Li Y., Zhong Y., Yu S., Li F. et al. Selenoprotein S attenuates tumor necrosis factor- α -induced dysfunction in endothelial cells. *Mediators Inflamm.* 2018;2018:1625414. DOI: 10.1155/2018/1625414.
- Xue M., Qiqige C., Zhang Q., Zhao H., Su L., Sun P. et al. Effects of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin 10

- (IL-10) on intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and cluster of differentiation 31 (CD31) in human coronary artery endothelial cells. *Med. Sci. Monit.* 2018;24:4433–4439. DOI: 10.1371/journal.pone.0081363.
5. Zepeda-Garcia O., Dominguez-Perez M., Gonzalez-Garrido A., Villarreal-Molina T., Jacobo-Albavera L., Medina-Leyte D.J. Endothelial dysfunction, inflammation and coronary artery disease: potential biomarkers and promising therapeutic approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(8):3850. DOI: 10.3390/ijms22083850.
 6. Prisco A.R., Prisco M.R., Carlson B.E., Greene A.S. TNF- α increases endothelial progenitor cell adhesion to the endothelium by increasing bond expression and affinity. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2015;308(11):1368–1381. DOI: 10.1152/ajpheart.00496.2014.
 7. Lopes-Coelho F., Silva F., Gouveia-Fernandes S., Martins C., Lopes N., Domingues G. et al. Monocytes as endothelial progenitor cells (EPCs), another brick in the wall to disentangle tumor angiogenesis. *Cells.* 2020;9(1):107. DOI: 10.3390/cells9010107.
 8. Parma L., Peters H.A.B., Johansson M.E., Gutierrez S., Meijerink H., de Kimpe S. et al. Bis(maltolato)oxovanadium(IV) induces angiogenesis via phosphorylation of VEGFR2. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(13):4643. DOI: 10.3390/ijms21134643.
 9. Chopra H., Hung M.K., Kwong D.L., Zhang C.F., Pow E.H.N. Insights into endothelial progenitor cells: origin, classification, potentials, and prospects. *Stem Cells Int.* 2018;2018:1–24. DOI: 10.1155/2018/9847015.
 10. Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И. Эндотелиальные прогениторные клетки: происхождение и роль в ангиогенезе при сердечно-сосудистой патологии. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2021;36(2):23–29. DOI: 10.29001/2073-8552-2021-36-2-23-29.
 11. Shantsila E., Wrigley B., Tapp L., Apostolakis S., Montoro-Garcia S., Drayson M.T. et al. Immunophenotypic characterization of human monocyte subsets: possible implications for cardiovascular disease pathophysiology. *J. Thromb. Haemost.* 2011;9(5):1056–1066. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04244.x.
 12. Qiu Y., Zhang C., Zhang G., Tao J. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *Aging Med. (Milton).* 2018;1(2):204–208. DOI: 10.1002/agm2.12041.
 13. Chauhan S.K., Lee H.K., Lee H.S., Park E.Y., Jeong E., Dana R. PTK7+ mononuclear cells express VEGFR2 and contribute to vascular stabilization by upregulating angiopoietin-1. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015;35(7):1606–1615. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.305228.
 14. Li D.-W., Liu Z.-Q., Wei J., Liu Y., Hu L.-S. Contribution of endothelial progenitor cells to neovascularization (Review). *Int. J. Mol. Med.* 2012;30(5):1000–1006. DOI: 10.3892/ijmm.2012.1108.
 15. Peplow P.V. Growth factor- and cytokine-stimulated endothelial progenitor cells in post-ischemic cerebral neovascularization. *Neural. Regen. Res.* 2014;9(15):1425–1429. DOI: 10.4103/1673-5374.139457.
 16. Singh S., Anshita D., Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int. Immunopharmacol.* 2021;101(Pt B):107598. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107598.
 17. Sinha S.K., Miikeda A., Fouladian Z., Mehrabian M., Edilior C., Shih D. et al. Local macrophage colony-stimulating factor expression regulates macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2021;41(1):220–233. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.315255.
 18. Urazova O.I., Chumakova S.P., Vins M.V., Maynagashewa E.S., Shipulin V.M., Pryahin A.S. et al. Characteristics of humoral regulation of differentiation of bone marrow monocyte subpopulations in patients with ischemic cardiomyopathy. *International Journal of Biomedicine.* 2019;9(2):91–96. DOI: 10.21103/Article9(2)_OA1.
 19. Proto J.D., Doran A.C., Gusarova G., Yurdagul A. Jr., Sozen E., Subramanian M. et al. Regulatory T cells promote macrophage efferocytosis during inflammation resolution. *Immunity.* 2018;49(4):666–677. DOI: 10.1016/j.immu.2018.07.015.
 20. Felker G.M., Shaw L.K., O'Connor C.M. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002;39(2):210–218. DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01738-7.
 21. Munjal A., Khandia R. Atherosclerosis: orchestrating cells and biomolecules involved in its activation and inhibition. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology.* 2020;120:85–122. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2019.11.002.
 22. Esquiva G., Grayston A., Rosell A. Revascularization and endothelial progenitor cells in stroke. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2018;315(5):664–674. DOI: 10.1152/ajpcell.00200.2018.
 23. Винс М.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Азарова Д.А., Шипулин В.М., Пряхин А.С. и др. Субпопуляционный состав моноцитов крови и костного мозга у больных с хронической сердечной недостаточностью. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018;17(4):16–22. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-16–22.
 24. Chumakova S., Urazova O., Vins M., Kolobovnikova Y., Churina E., Novitskiy V. et al. Galectin 3 and non-classical monocytes of blood as myocardial remodeling factors at ischemic cardiomyopathy. *IJC Heart and Vasculature.* 2021;33:100766. DOI: 10.1016/j.ijcha.2021.100766.
 25. Hamidzadeh K., Belew A.T., El-Sayed N.M., Mosser D.M. The transition of M-CSF-derived human macrophages to a growth-promoting phenotype. *Blood Adv.* 2020;4(21):5460–5472. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002683.
 26. Gordon S., Pluddemann A. Firestein G.S., Gabriel S.E., O'Dell J.R., Budd R.C. et al. Mononuclear Phagocytes. *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology (Tenth Edition).* Philadelphia: Elsevier, 2017;1:145–168.e3.
 27. Chitu V., Stanley E.R. Regulation of embryonic and postnatal development by the CSF-1 receptor. *Current Topics in Developmental Biology.* 2017;123:229–275. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2016.10.004.
 28. Stanley E.R., Chitu V. CSF-1 receptor signaling in myeloid cells. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014;6(6):a021857. DOI: 10.1101/csdperspect.a021857.
 29. Mun S.H., Park P.S.U., Park-Min K.-H. The M-CSF receptor in osteoclasts and beyond. *Exp. Mol. Med.* 2020;52(8):1239–1254. DOI: 10.1038/s12276-020-0484-z.

30. Roy B., Bhattacharjee A., Xu B., Ford D., Maizel A.L., Cathcart M.K. IL-13 signal transduction in human monocytes: phosphorylation of receptor components, association with Jaks, and phosphorylation/activation of Stats. *Journal of Leukocyte Biology.* 2002;72(3):580–589. DOI: 10.1189/jlb.72.3.580.

Вклад авторов

Чумакова С.П. – разработка дизайна исследования, анализ литературы, статистическая обработка результатов исследования и их интерпретация, написание и оформление текста рукописи. Уразова О.И. – разработка дизайна исследования, материально-техническое обеспечение проведения лабораторных исследований, интерпретация результатов, корректировка текста рукописи. Шипулин В.М. – консультирование по вопросам планирования исследования и интерпретации клинических аспектов полученных результатов. Денисенко О.А – пробоподготовка биоматериала, анализ литературы. Кононова Т.Е. – выполнение метода иммуноферментного анализа, подготовка рисунков. Невская К.В. – выполнение метода проточной цитофлуориметрии. Андреев С.Л. – взаимодействие с кардиологическими пациентами, обеспечение клинического материала, интраоперационный забор костного мозга.

Информация об авторах

Чумакова Светлана Петровна – д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, chumakova_s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ; профессор, кафедра комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем, ТУСУР, г. Томск, urazova72@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Шипулин Владимир Митрофанович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отделения сердечно-сосудистой хирургии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, СибГМУ, г. Томск, shipulin@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>

Денисенко Ольга Анатольевна – врач клинической лабораторной диагностики, Томский региональный центр крови, г. Томск, colga-muraveinik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4524-8491>.

Кононова Татьяна Евгеньевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, kononova.te@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8457-9440>

Невская Ксения Владимировна – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск, nevskayaksenia@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1659-8812>

Андреев Сергей Леонидович – канд. мед. наук, врач-сердечно-сосудистый хирург, ст. науч. сотрудник, отделение сердечно-сосудистой хирургии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, anselen@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4049-8715>

(✉) **Чумакова Светлана Петровна**, chumakova_s@mail.ru

Поступила в редакцию 11.04.2022;
одобрена после рецензирования 16.05.2022;
принята к публикации 25.05.2022

УДК 618.19-006.6-071:577.112.017
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-132-139>

Клинические возможности диагностики HER2-позитивного рака молочной железы с применением альтернативных каркасных белков

Брагина О.Д.^{1,2}, Чернов В.И.^{1,2}, Деев С.М.^{2,3}, Толмачев В.М.^{2,4}

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

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

³ Институт биоорганической химии (ИБХ) им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (РАН)
117997, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

⁴ Уппсальский университет
75236, Швеция, г. Уппсала, Segerstedthuset, Dag Hammarskjölds väg 7

РЕЗЮМЕ

HER2-позитивный рак молочной железы (РМЖ) встречается у 15–20% пациенток с РМЖ и ассоциируется прежде всего с неблагоприятным прогнозом заболевания и необходимостью назначения высокоспецифичной таргетной терапии. Несмотря на клиническую важность определения рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа, существующие диагностические методики являются несовершенными и требуют изучения новых дополнительных методов исследования.

Представленные в обзоре данные позволяют рассмотреть современные тенденции в радионуклидной диагностике HER2-позитивного РМЖ с применением новейшего класса «нацеливающих» модулей (альтернативных каркасных белков), а также демонстрируют различные аспекты их использования в клинической практике.

Ключевые слова: рак молочной железы, радионуклидная диагностика, альтернативные каркасные белки, DARPinG3, HER2/neu

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках гранта Министерства науки и высшего образования (соглашение № 075-15-2022-1103) по теме «Разработка таргетных молекул на основе каркасных белков для диагностики и терапии злокачественных новообразований: терапевтический подход».

Для цитирования: Брагина О.Д., Чернов В.И., Деев С.М., Толмачев В.М. Клинические возможности диагностики HER2-позитивного рака молочной железы с применением альтернативных каркасных белков. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):132–139. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-132-139>.

Clinical possibilities of HER2-positive breast cancer diagnosis using alternative scaffold proteins

Bragina O.D.^{1,2}, Chernov V.I.^{1,2}, Deyev S.M.^{2,3}, Tolmachev V.M.^{2,4}

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

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

³ Shemyakin – Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
16/10, Miklukho-Maklaya Str., 117997, Moscow, Russian Federation

⁴ Uppsala University
7, Dag Hammarskjölds väg, Segerstedthuset, 75236, Uppsala, Sweden,

ABSTRACT

HER2-positive breast cancer occurs in 15–20% of breast cancer patients and is associated primarily with a poor prognosis of the disease and the need for highly specific targeted therapy. Despite the clinical importance of determining HER2/neu, traditional diagnostic methods have their disadvantages and require the study of new additional research techniques.

The information presented in this review makes it possible to consider current trends in the radionuclide diagnosis of HER2-positive breast cancer using the latest class of alternative scaffold proteins and to consider various aspects of their use in clinical practice.

Keywords: breast cancer, radionuclide diagnosis, alternative scaffold proteins, HER2/neu

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 grant of the Ministry of Science and Higher Education (agreement No. 075-15-2022-1103) on the topic “Development of targeted molecules on the basis of scaffold proteins for diagnosis and therapy of cancers: theranostic approach”.

For citation: Bragina O.D., Chernov V.I., Deyev S.M., Tolmachev V.M. Clinical possibilities of HER2-positive breast cancer diagnosis using alternative scaffold proteins. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):132–139. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-132-139>.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из наиболее изученных молекулярных мишеней, встречающейся на поверхности опухолевых клеток, является рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа (HER2/neu), относящийся к семейству трансмембранных рецепторов тирозинкиназ EGF (рецепторы эпидермального фактора роста) [1]. Наиболее часто высокая экспрессия рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа наблюдается у больных раком молочной железы (РМЖ) (15–20% случаев) и ассоциируется с неблагоприятным прогнозом заболевания и его агрессивным течением [2]. Кроме этого, согласно клиническим рекомендациям, гиперэкспрессия HER2/neu требует назначения

таргетной терапии, включающей обязательное использование таких препаратов, как трастузумаб (герцептин), лапатиниб (тайверб), пертузумаб (перьета) и трастузумаб эмтансин (T-DM1, кадсила) [3, 4].

Назначение таргетной терапии высокоспецифично и диктует необходимость тщательного отбора кандидатов на планируемое лечение. В настоящее время для определения статуса HER2/neu используются несколько одобренных FDA (U.S. Food and Drug Association) методик, к которым относятся иммуногистохимическое исследование (ИГХ) и флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). Согласно Американскому обществу клинической онкологии (ASCO) от 2018 г., негативными считаются случаи категории 0 и 1+, положительными – категории 3+. «Сомнитель-

ные» случаи «2+» требуют проведения FISH; положительной считается амплификация при наличии среднего количества копий гена *ERBB2* и среднего числа центромер хромосомы 17 в клетке более 2,2 [5].

Очевидным недостатком ИГХ, несмотря на доступность и относительную дешевизну исследования, является значительное влияние множества факторов на результаты исследования, включающих методику приготовления препарата (продолжительность фиксации и используемый фиксатор), характеристику используемых антител (производитель), квалификацию персонала и интерпретацию полученных результатов, преимущественно случаев с оценкой 2+ [6]. FISH-анализ остается очень надежным методом оценки амплификации гена *ERBB2*, однако занимает в девять раз больше времени (36 ч против 4 ч) и стоит в несколько раз дороже по сравнению со стандартной ИГХ, а также требует дорогостоящего оборудования для обнаружения и распознавания сигналов и высококвалифицированного персонала для обработки полученных результатов [7].

К одним из главных недостатков описанных выше методик относятся необходимость выполнения инвазивных манипуляций для получения диагностического материала, а также невозможность одновременной оценки распространенности опухолевого процесса у пациента с анализом молекулярных характеристик выявленных опухолевых очагов до назначения специального лечения [8]. Последний фактор особенно актуален в аспекте существующей вероятности различия экспрессии HER2/neu между первичной опухолью и метастазами в регионарные лимфатические узлы и отдаленные органы и ткани, что может встречаться, по данным различных анализов, в 6–48% случаев [9].

Нерешенной также остается проблема внутриопухолевой гетерогенности, встречающейся в 40% случаев РМЖ и характеризующейся более низкими показателями безрецидивной выживаемости и эффективностью таргетной терапии трастузумабом. Все это обуславливает необходимость разработки новых дополнительных диагностических методик для оптимизации процесса диагностики у больных РМЖ [10].

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ДИАГНОСТИКЕ HER²-ПОЗИТИВНОГО РМЖ С ПРИМЕНЕНИЕМ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ КАРКАСНЫХ БЕЛКОВ

В последние годы для выявления злокачественных новообразований изучаются таргетные радионуклидные методы исследования. Они имеют ряд существенных преимуществ: неинвазивный харак-

тер исследования с возможностью проведения повторных исследований, оценка экспрессии маркера в динамике на фоне проводимого лечения, одновременная визуализация всего тела больного с оценкой экспрессии рецептора HER/neu в первичной опухоли и метастатических очагах [11], а также совершенствование диагностического оборудования, проявляющееся в разработке аппаратов, сочетающих модули для радионуклидных исследований и модули для анатомической визуализации выявленных метастатических очагов (компьютерная томография и магнитно-резонансная томография) [12].

В течение последнего десятилетия большую популярность приобретает новый класс «нацеливающих» модулей, получивших название «альтернативные каркасные белки» (АКБ), или скаффолды (scaffolds), и отвечающих всем требованиям для оптимальной доставки радионуклида к опухолевым клеткам [13]. К несомненным преимуществам таргетных молекул относятся значительно меньшие размеры по сравнению со стандартным антителом, что увеличивает проникновение вещества в опухоль; стабильная структура; дополнительная функционализация и экспрессия в бактериальной системе, обеспечивающие низкие затраты на производство; высокая термостабильность, способствующая длительному хранению препарата при комнатной температуре, а также возможность прямого химического синтеза [14]. На данный момент клиническую апробацию в диагностике HER2-позитивного РМЖ прошли три представителя скаффолдов: аффибоди, адапты и дарпины.

Аффибоди. Молекулы аффибоди представляют собой три плотно упакованные альфа-спирали, стабилизированные гидрофобным ядром. Они состоят из 58 аминокислот с молекулярной массой 6–7 кДа и являются протеинами, обладающими небольшими размерами. Наибольшее количество исследований по аффибоди основано на их варианте с высокой аффиностью к рецептору HER2/neu [15].

В I фазе клинического исследования препарата «¹¹¹In-ABY-025» (¹¹¹In, период полураспада 2,8 дней), включающей больных с местно-распространенным и метастатическим РМЖ: пять пациенток с гиперэкспрессией HER2/neu и две – без экспрессии рецептора. J. Sorensen и соавт. продемонстрирована безопасность использования данного соединения и возможность дифференцировки первичной опухоли и метастатических очагов в зависимости от статуса HER2/neu [16]. Однако данное исследование выявило ограниченную возможность визуализации очагов небольших размеров у HER2-позитивных пациенток, что, вероятно, было

связано с низким разрешением однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ/КТ). Полученные данные обусловили начало изучения препарата «⁶⁸Ga-ABY-025» (⁶⁸Ga, период полураспада 68 мин) уже для позитронной эмиссионной компьютерной томографии (ПЭТ/КТ).

I фаза клинического исследования препарата «⁶⁸Ga-ABY-025» продемонстрировала безопасность использования соединения у восьми больных метастатическим РМЖ, а также показала важность используемой дозировки препарата. Так, применение 78 мкг протеина приводило к статистически более высокому накоплению препарата в печени и почках по сравнению с аккумуляцией, полученной при использовании 427 мкг белка [17]. Изучение препарата «⁶⁸Ga-ABY-025» J. Sorensen и соавт. на 16 больных метастатическим РМЖ (12 с гиперэкспрессией HER2/neu, четыре – без) показало не только возможность визуализации метастазов в регионарные лимфатические узлы и удаленные органы и ткани во всех случаях, но и возможность их точного разделения в зависимости от экспрессии рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа [18].

Одной из наиболее ярких находок, выявленных в ходе данного исследования, являлось клиническое наблюдение больной РМЖ с HER2-негативной опухолью молочной железы и обнаруженного с помощью «⁶⁸Ga-ABY-025» метастаза в печень с гиперэкспрессией HER2/neu, что было подтверждено данными иммуногистохимического исследования биопсийного материала из выявленного очага (рис. 1).

При дополнительном анализе препарата «¹¹¹In-ABY-025» и «⁶⁸Ga-ABY-025» на 23 пациентках с метастатическим РМЖ D. Sandberg и соавт. также определили, что селезенка являлась лучшим референсным органом по всем модальностям, при этом соотношение опухоль/селезенка достигало точности 100% по разделению опухолевых узлов в зависимости от статуса HER2/neu через 4 ч после инъекции, по данным ПЭТ, и 24 ч – по данным ОФЭКТ [19].

ADAPT (ABD-Derived Affinity Proteins). Молекулы были разработаны с использованием 46-аминокислотного каркаса, полученного из альбуминсвязывающего домена, который спонтанно складывается в трехспиральную структуру и не зависит от дисульфидных мостиков [20]. Тропная к рецептору эпидермального фактора роста HER2/neu молекула ADAPT6 была выбрана из-за ее высокого сродства к нему (1 нМ) и быстрого выведения из кровотока в связи с низким связыванием с альбумином, что было отражено результатами доклинических исследований [21].

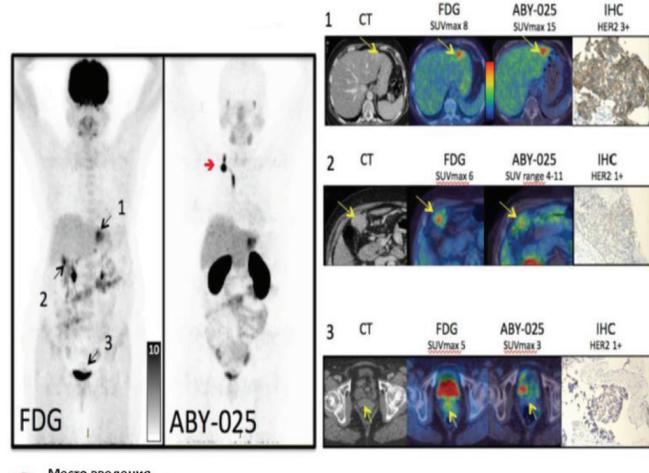


Рис. 1. Пациентка с HER2-негативной первичной опухолью молочной железы HER2-позитивным метастазом в левую долю печени по данным ПЭТ/КТ исследования с препаратом «⁶⁸Ga-ABY-025»

В I фазе клинических исследований препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» (^{99m}Tc, период полураспада 6,01 ч), включающей 22 больных РМЖ с различной экспрессией HER2/neu в первичной опухоли, изучались три дозировки протеина: 250, 500 и 1 000 мкг. По результатам исследования препарат продемонстрировал хорошую переносимость и отсутствие изменений со стороны жизненно важных органов. Лучшее распределение между опухолями с положительным и отрицательным статусами HER2/neu отмечалось через 2 ч после инъекции соединения в дозировке 500 мкг со средним значением опухоль/фон 37 ± 19 для HER2-позитивных опухолей по сравнению с 5 ± 2 для HER2-негативных опухолей ($p < 0,05$, U-критерий Манна – Уитни). Различие между группами на других временных отрезках было недостоверно. Соотношение опухоль/фон для HER2-позитивных опухолей молочной железы было значительно выше у пациентов, получивших дозу протеина 500 мкг по сравнению с 250 и 1 000 мкг ($p < 0,05$, U-критерий Манна – Уитни). Помимо этого, по данным исследования, была определена относительно низкая дозовая нагрузка на пациента при использовании 500 и 1 000 мкг протеина – $0,009 \pm 0,002$ и $0,010 \pm 0,003$ мЗв/МБк соответственно, что сопоставимо с данными, полученными при изучении других представителей АКБ (рис. 2) [22].

В описанном выше исследовании одна из больных РМЖ была включена с HER2-позитивным статусом опухоли по ИГХ биопсийного материала, однако после введения препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» было выявлено низкое соотношение опухоль/фон (1,33 через 2 ч после инъекции протеина в дозе 500 мкг).

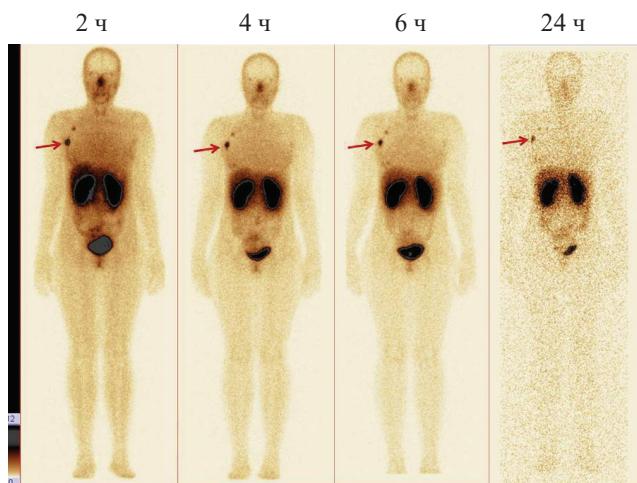


Рис. 2. Передние проекции планарной сцинтиграфии больной РМЖ с положительной экспрессией HER2/neu через 2, 4, 6 и 24 ч после инъекции 500 мкг препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» (стрелками указаны опухоль правой молочной железы)

При пересмотре ИГХ статус опухоли был изменен на 2+, а выполненный впоследствии FISH-анализ показал отсутствие амплификации гена ERBB2. По результатам комплекса исследований HER2-статус опухоли молочной железы был изменен на «отрицательный», а планируемая таргетная терапия отменена (рис. 3) [23].

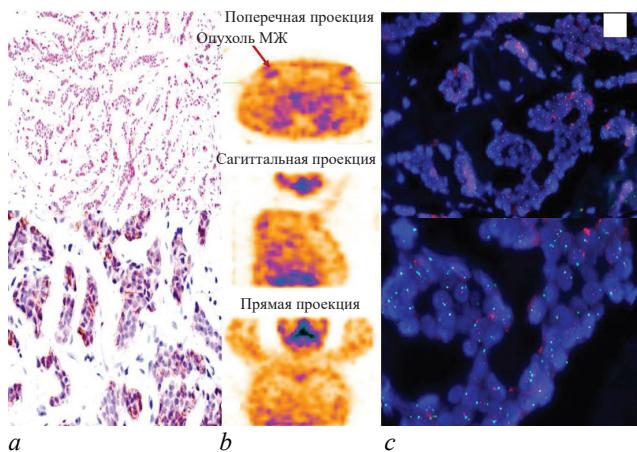


Рис. 3. Данные ИГХ, FISH-анализа и радионуклидного исследования с препаратом «^{99m}Tc-ADAPT6» в дозировке 500 мкг у больной РМЖ: *a* – данные ИГХ исследования биопсийного материала (экспрессия HER2/neu 2+); *b* – данные исследования с препаратом «^{99m}Tc-ADAPT6» (стрелкой указана опухоль правой молочной железы); *c* – данные FISH-анализа с отсутствием амплификации гена ERBB2 в биопсийном материале опухоли

Другим ярким клиническим примером использования препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» в дозировке 500 мкг является выявление дополнительных метастатических очагов у больной с HER2-позитивным РМЖ в

проекции 5-го ребра справа по срединно-ключичной линии, а также в проекции тел 8-го и 9-го грудных позвонков. Выявленные изменения не были диагностированы стандартными остеосцинтиграфией и компьютерной томографией органов грудной клетки, а подтверждены данными магнитно-резонансной томографии (рис. 4) [24].

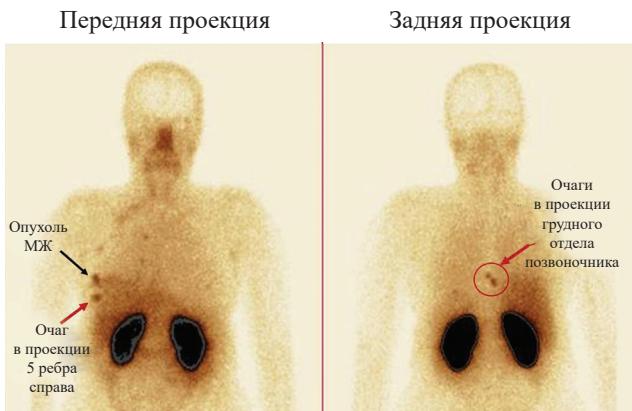


Рис. 4. Данные планарной сцинтиграфии скелета больной HER2-позитивным РМЖ через 2 ч после введения препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» (передняя и задняя проекции): черная стрелка – визуализация очагов патологической гиперфиксации радиоиндикатора в проекции первичной опухоли правой молочной железы; красные стрелки – очаги в проекции 5-го ребра справа по срединно-ключичной линии и тел 8-го и 9-го грудных позвонков

Дарпины (*Designed Ankyrin Repeat Proteins, DARpins*). Одни из представителей АКБ, которые были сконструированы на основе белков анкиринов. Анкирины участвуют в прикреплении мембранных белков к цитоскелету. Каркас дарпинов может включать 4–6 анкириновых доменов, каждый из которых содержит 33 аминокислоты; домены организованы как две антипараллельные α -спирали с β -поворотом между ними [25]. Поскольку молекулярная масса одного модуля чуть больше 3,5 кДа, а дарпины состоят из 4–6 модулей, их молекулярный вес колеблется от 14 до 21 кДа и составляет примерно одну десятую размера обычного антитела (IgG) или одну треть размера Fab [26].

I фаза клинических исследований препарата «^{99m}Tc-DARPinG3» выполнена на 28 больных РМЖ с различной экспрессией HER2/neu с использованием трех доз препарата: 1 000, 2 000 и 3 000 мкг. Пациентам выполнялись планарная сцинтиграфия в режиме Wholebody и ОФЭКТ органов грудной клетки через 2, 4, 6 и 24 ч после введения. Результаты показали отсутствие токсического воздействия препарата «^{99m}Tc-DARPinG3» на организм пациент-

тов за весь период наблюдения, быстрое его выведение с током крови, а также относительно низкую дозовую нагрузку на пациента при использовании 1 000, 2 000 и 3 000 мкг протеина ($0,011 \pm 0,001$; $0,012 \pm 0,006$ и $0,012 \pm 0,003$ мЗв/МБк соответственно) (рис. 5). Лучшее соотношение опухоль/фон отмечалось у больных с гиперэкспрессией HER2/neu через 2 и 4 ч после инъекции 1 000 и 2 000 мкг меченного протеина и через 2, 4 и 6 ч для подгруппы с использованием 3 000 мкг ($p < 0,05$, *U*-критерий Манна – Уитни). При этом наиболее эффективной дозировкой препарата, позволяющей визуализировать метастазы в печень, являлась доза протеина 3 000 мкг [27].

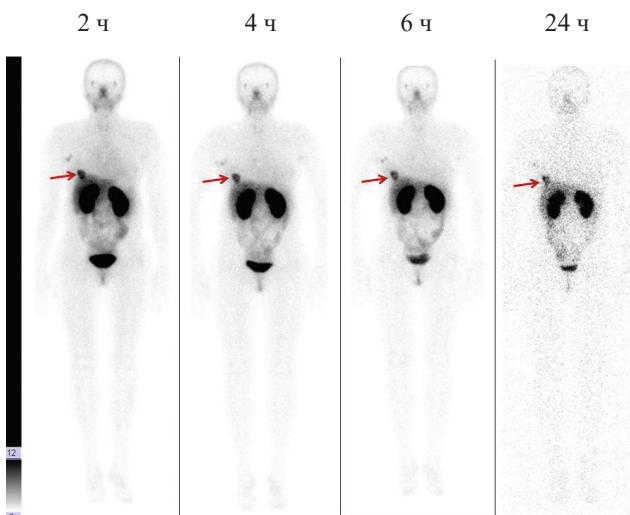


Рис. 5. Передние проекции планарной сцинтиграфии больной РМЖ с положительной экспрессией HER2/neu через 2, 4, 6 и 24 ч после инъекции 3 000 мкг препарата «^{99m}Tc-DARPinG3» (стрелками указана опухоль правой молочной железы)

Одна из пациенток с HER2-негативным РМЖ (HER2/neu 1+ по данным ИГХ биопсийного материала), включенных в исследование, после введения препарата «^{99m}Tc-DARPinG3» продемонстрировала высокое соотношение опухоль/фон (12,5 через 4 ч после введения 2 000 мкг протеина). При FISH-анализе операционного материала данной больной была выявлена амплификация гена *ERBB2* у 35% опухолевых клеток, а данные ИГХ определили гиперэкспрессию рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа. В результате статус опухоли пациентки был изменен на «положительный», таргетная терапия добавлена в планируемый объем системного лечения (рис. 6).

Похожий пример наблюдался у пациентки с HER2-негативной опухолью молочной железы по данным ИГХ-исследования, у которой после введе-

ния «^{99m}Tc-DARPinG3» также отмечалось высокое соотношение опухоль/фон (14,4 через 4 ч после введения 2 000 мкг протеина). По результатам FISH-анализа биопсийного материала была выявлена амплификация гена *ERBB2* и статус опухоли изменен на «положительный» (рис. 7) [28].

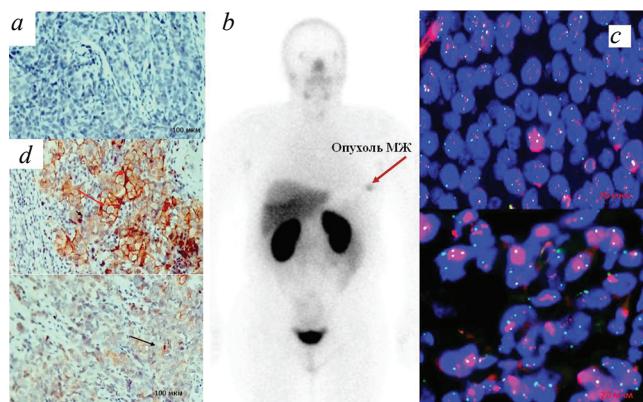


Рис. 6. Данные ИГХ, FISH-анализа и радионуклидного исследования с препаратом «^{99m}Tc-DARPinG3» в дозировке 2 000 мкг у больной РМЖ: *a* – данные ИГХ исследования биопсийного материала, демонстрирующие отрицательную экспрессию HER2/neu; *b* – данные исследования с препаратом «^{99m}Tc-DARPinG3» (стрелкой указана опухоль левой молочной железы); *c* – данные FISH-анализа с амплификацией гена *ERBB2* у 35% опухолевых клеток операционного материала; *d* – данные ИГХ, демонстрирующие гиперэкспрессию HER2/neu в операционном материале опухоли

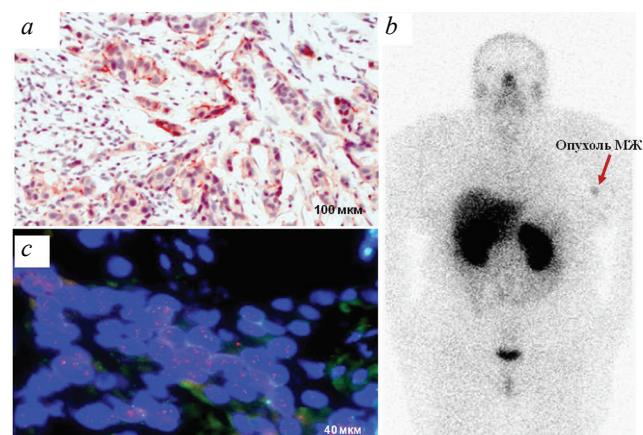


Рис. 7. Данные ИГХ, FISH-анализа и радионуклидного исследования с препаратом «^{99m}Tc-DARPinG3» в дозировке 2 000 мкг у больной РМЖ: *a* – данные ИГХ исследования биопсийного материала, демонстрирующие отрицательную экспрессию HER2/neu; *b* – данные исследования с препаратом «^{99m}Tc-DARPinG3» (стрелкой указана опухоль левой молочной железы); *c* – данные FISH-анализа с амплификацией гена *ERBB2* в опухолевой ткани биопсийного материала

ОБСУЖДЕНИЕ

HER2-позитивный РМЖ относится к подтипам с наиболее неблагоприятным прогнозом заболевания, требующим высокоспецифичного направленного лечения (таргетная терапия). К сожалению, существующие в настоящее время иммуногистохимическое исследование и FISH-анализ не являются оптимальными и не могут решить всех поставленных задач. К одному из вариантов оптимизации диагностического алгоритма HER2-позитивного РМЖ относится изучение радионуклидных методов визуализации с применением альтернативных каркасных протеинов, меченых различными радионуклидами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Продемонстрированные в настоящем обзоре результаты клинических исследований радиофармпрепаратов на основе меченых молекул аффибоди, адаптов и даргинов для ОФЭКТ и ПЭТ/КТ позволяют рассмотреть различные аспекты их применения в клинической практике, недоступные «традиционным» диагностическим методикам. В частности, наибольшую актуальность представляет возможность одномоментной оценки распространенности опухолевого процесса и молекулярных характеристик выявленных опухолевых очагов. Полученные в ходе выполненных клинических анализов данные, несомненно, свидетельствуют о перспективности данного метода исследования и необходимости его дальнейшего изучения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Han L., Li L., Wang N., Xiong Y., Li Y., Gu Y. Relationship of epidermal growth factor receptor expression with clinical symptoms and metastasis of invasive breast cancer. *Interferon Cytokine Res.* 2018;38(12):578–582. DOI: 10.1089/jir.2018.0085.
2. Zavyalova M., Vtorushin S., Krakhmal N., Savelieva O., Tashireva L., Kaigorodova E. et al. Clinicopathological features of non-specific invasive breast cancer according to its molecular subtypes. *Experimental Oncology.* 2016;38(2):122–127.
3. Pernas S., Tolaney S.M. HER2-positive breast cancer: new therapeutic frontiers and overcoming resistance. *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2019;11:1758835919833519. DOI: 10.1177/1758835919833519.
4. Babyshkina N., Malinovskaya E., Cherdynseva N., Patalyak S., Bragina O., Tarabanovskaya N. et al. Neoadjuvant chemotherapy for different molecular breast cancer subtypes: a retrospective study in Russian population. *Medical Oncology.* 2014;31(9):1–12. DOI: 10.1007/s12032-014-0165-7.
5. Wolff A.C., Hammond M.E.H., Allison K.H., Harvey B.E., Mangu P.B., Bartlett J.M. et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American society of clinical oncology/ College of American pathologist clinical practice guideline focused update. *Pathol. Lab. Med.* 2018;142(11):1364–1382. DOI: 10.5858/arpa.2018-0902-SA.
6. Tsai Y.F., Tseng L.M., Lien P.J., Hsu C., Lin Y., King K. et al. HER2 immunohistochemically scores provide prognostic information for patients with HER2-type invasive breast cancer. *Histopathology.* 2019;74(4):578–586. DOI: 10.1111/his.13801.
7. Ahn S., Woo J., Lee K., Park S.Y. Her2 status in breast cancer: changes in guidelines and complicating factors for interpretation. *J. Pathol. Transl. Med.* 2020;54(1):34–44. DOI: 10.4132/jptm.2019.11.03.
8. Agersborg S., Mixon C., Nguyen T., Aithal S., Sudarsanam S., Blocker F. et al. Immunohistochemistry and alternative FISH testing in breast cancer with HER2 equivocal amplification. *Breast Cancer Res. Treat.* 2018;170(2):321–328. DOI: 10.1007/s10549-018-4755-5.
9. Lower E.E., Khan S., Kennedy D., Baughman R.P. Discordance of the estrogen receptor and HER-2/neu in breast cancer from primary lesion to first and second metastatic site. *Breast Cancer – Targets and Therapy.* 2017;9:515–520. DOI: 10.2147/BCTT.S137709.
10. Griguolo G., Pascual T., Dieci M.V., Guarneri V., Prat A. Interaction of host immunity with HER2-targeted treatment and tumor heterogeneity in HER2-positive breast cancer. *J. Immunother. Cancer.* 2019;7(1):90. DOI: 10.1186/s40425-019-0548-6.
11. Tolmachev V., Orlova A., Sorensen J. The emerging role of radionuclide molecular imaging of HER2 expression in breast cancer. *Semin. Cancer Biol.* 2021;72:185–197. DOI: 10.1016/j.semcan.2020.10.005
12. Garousi J., Orlova A., Freid F.Y., Tolmachev V. Imaging using radiolabelled targeted proteins: radioimmunodetection and beyond. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry.* 2020;5(1):16. DOI: 10.1186/s41181-020-00094-w.
13. Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Ларкина М.С. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019;18(3):125–133. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-125-133.
14. Krasniqi A., D’Huyvetter M., Devoogdt N., Frejd F.Y., Sorensen J., Orlova A. et al. Same-day imaging using small proteins: clinical experience and translational prospects in oncology. *J. Nucl. Med.* 2018;59(6):885–891. DOI: 10.2967/jnumed.117.199901.
15. Tolmachev V., Gronroos T.J., Yim C.B., Garosi J., Yue Y., Grimm S. et al. Molecular design of radiocopper-labelled Afibody molecules. *Sci. Rep.* 2018;8(1):6542. DOI: 10.1038/s41598-018-24785-2.
16. Sorensen J., Sandberg D., Sandstrom M., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V. et al. First-in-human molecular imaging of HER2 expression in breast cancer metastases using the ¹¹¹In-ABY-025 afibody molecule. *J. Nucl. Med.* 2014;55(5):730–735. DOI: 10.2967/jnumed.113.131243.
17. Sandström M., Lindskog K., Velikyan I., Wennborg A., Feldwisch J., Sandberg D. et al. Biodistribution and radiation dosimetry of the anti-HER2 Afibody molecule 68Ga-ABY-025 in breast cancer patients. *J. Nucl. Med.* 2016;57(6):867–871. DOI: 10.2967/jnumed.115.169342.

18. Sörensen J., Velikyan I., Sandberg D., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V. et al. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [68Ga]ABY-025 affibody PET/CT. *Theranostics.* 2016;6(2):262–271. DOI: 10.7150/thno.13502.
19. Sandberg D., Tolmachev V., Velikyan I., Olofsson H., Wennborg A., Feldwisch J. et al. Intra-image referencing for simplified assessment of HER2-expression in breast cancer metastases using the Affibody molecule ABY-025 with PET and SPECT. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2017;44(8):1337–1346. DOI: 10.1007/s00259-017-3650-3.
20. Garousi J., Lindbo S., Borin J., von Witting E., Vorobyeva A., Orojeni M. et al. Comparative evaluation of dimeric and monomeric forms of ADAPT scaffold protein for targeting of HER2-expressing tumours. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2019;134:37–48. DOI: 10.1016/j.ejpb.2018.11.004.
21. Von Witting E., Garousi J., Lindbo S., Vorobyeva A., Altai M., Orojeni M. et al. Selection of the optimal macrocyclic chelators for labeling with ¹¹¹In and ⁶⁸Ga improves contrast of HER2 imaging using engineered scaffold protein ADAPT6. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2019;140:109–120. DOI: 10.1016/j.ejpb.2019.05.008.
22. Bragina O., Witting E., Garousi J., Zelchan R., Sandström M., Medvedeva A. et al. Phase I study of 99mTc-ADAPT6, a scaffold protein-based probe for visualization of HER2 expression in breast cancer. *J. Nucl. Med.* 2021;62(4):493–499. DOI: 10.2967/jnumed.120.248799.
23. Брагина О.Д., Чернов В.И., Гарбуков Е.Ю., Дорошенко А.В., Воробьева А.Г., Орлова А.М. и др. Возможности радионуклидной диагностики Her2-позитивного рака молочной железы с использованием меченных таргетных молекул: первый опыт клинического применения. *Бюллетень сибирской медицины.* 2021;20(1):23–30. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-1-23-30.
24. Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Фролова И.Г., Дудникова Е.А. и др. Оценка распространенности опухолевого процесса с применением радиофармпрепарата на основе меченных таргетных молекул у больной раком молочной железы с гиперэкспрессией Her2/neu (клиническое наблюдение). *Сибирский онкологический журнал.* 2021;20(5):170–178. DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-5-170-178.
25. Shilova O.N., Deyev S.M. DARPinS: Promising scaffolds for theranostics. *Acta Naturae.* 2019;11(4):42–53. DOI: 10.32607/20758251-2019-11-4-42-53.
26. Vorobyeva A., Schulga A., Konovalova E., Güler R., Löfbom J., Sandström M. et al. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of ^{99m}Tc-labeled DARPin G3. *Scientific Reports.* 2019;9(1):9405. DOI: 10.1038/s41598-019-45795-8.
27. Bragina O., Chernov V., Schulga A., Konovalova E., Garbukov E., Vorobyeva A. et al. Phase I trial of ^{99m}Tc-(HE)3-G3, a DARPin-based probe for imaging of HER2 expression in breast cancer. *Journal of Nuclear Medicine.* 2021. DOI: 10.2967/jnumed.121.262542.
28. Брагина О.Д., Деев С.М., Чернов В.И., Толмачев В.М. Эволюция таргетной радионуклидной диагностики HER2-позитивного рака молочной железы. *Acta Naturae.* 2022;14(2):4–15.

Вклад авторов

Брагина О.Д., Чернов В.И., Деев С.М., Толмачев В.М. – разработка концепции и дизайна или анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Брагина Ольга Дмитриевна – д-р мед. наук, врач-онколог, ст. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; ст. науч. сотрудник, Научно-исследовательский центр «Онкотерапии», НИ ТПУ, г. Томск, bragina_od@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5281-7758>

Чернов Владимир Иванович – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, chernov@tnimc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5524-9546>

Деев Сергей Михайлович – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, руководитель отделения молекулярной иммунологии, ИБХ РАН, г. Москва, deev_sm@tpu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3952-0631>

Толмачев Владимир Максимилианович – профессор, руководитель лаборатории иммунологии, генетики и патологии, Уppsальский университет, г. Уппсала; руководитель, Научно-исследовательский центр «Онкотерапии», НИ ТПУ, г. Томск, Vladimir.tolmachev@igp.uu.se, <https://orcid.org/0000-0002-6122-1734>

(✉) **Брагина Ольга Дмитриевна**, bragina_od@mail.ru

Поступила в редакцию 16.11.2021;
одобрена после рецензирования 14.12.2021;
принята к публикации 20.01.2022

УДК 616-008.9-021.6-02:616.12/.13]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-140-153>

Лучевые методы диагностики в оценке состоятельности коронарных шунтов

Веснина Ж.В., Гракова Е.В.

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

РЕЗЮМЕ

В обзоре представлено описание лучевых инструментов и методов, доступных в настоящее время, для получения тщательной и полной анатомической и функциональной оценки состоятельности различных коронарных шунтов, а также некоторые детали выполнения и клинической интерпретации результатов этих исследований.

Ключевые слова: аортокоронарное шунтирование, артериальные и венозные кондуиты, лучевые методы диагностики

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: Веснина Ж.В., Гракова Е.В. Лучевые методы диагностики в оценке состоятельности коронарных шунтов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):140–153. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-140-153>.

Diagnostic radiology methods for assessing coronary artery bypass graft viability

Vesnina Zh.V., Grakova E.V.

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

ABSTRACT

The review describes available modern radiological methods which are currently applied for a detailed and comprehensive anatomical and functional assessment of the viability of various coronary artery bypass grafts. In addition, it presents some aspects of the implementation of these methods and clinical interpretation of the results.

Keywords: coronary artery bypass grafting, arterial and venous conduits, diagnostic radiology methods

✉ Веснина Жанета Владимировна, zhvesnina@mail.ru

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: Vesnina Zh.V., Grakova E.V. Diagnostic radiology methods for assessing coronary artery bypass graft viability. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):140–153. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-140-153>.

ВВЕДЕНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности, затрагивая почти 20% лиц старше 65 лет [1], и это составляет 370 тыс. смертей в год [2]. Клинико-диагностические преимущества операции коронарного шунтирования (КШ) общепризнаны, поскольку хирургический метод позволяет достичь полной реваскуляризации у больных ИБС с многососудистым поражением и осуществляется в количестве почти 1 млн ежегодно [3]. Хотя 5-летняя выживаемость после АКШ составляет 75–80% [4, 5], почти у 20% больных развивается хроническая сердечная недостаточность (СН) в течение 2 лет после операции [6]. Коронарное шунтирование обеспечивает отличные кратко- и среднесрочные результаты, но отдаленные результаты в значительной степени зависят от показателей проходимости использованных сосудистых трансплантатов.

Венозные трансплантаты более подвержены развитию патологических изменений в связи с тем, что строение самого сосуда не рассчитано на высокое артериальное давление. Нарушение тонуса стенки, расширение сосуда, замедление кровотока в конечном итоге могут вызвать тромбоз шунта. Со временем венозный шunt может адаптироваться к артериальному кровотоку, но становится подверженным атеросклеротическому поражению [7, 8]. Использование артерий, близких по анатомическому строению к коронарным сосудам, дает гораздо лучший результат, однако и артерии отличаются по своим биологическим характеристикам друг от друга.

В настоящее время при операциях КШ все чаще применяются внутренние грудные (маммарные) артерии (ВГА) как наиболее жизнеспособные и имеющие ряд преимуществ. Впечатляющая долговременная проходимость левой ВГА в качестве шунта к левой передней нисходящей коронарной артерии (ЛВГА – ПНА) в сочетании с доказанной долгосрочной жизнеспособностью обусловило то, что данный кондукт стал золотым стандартом АКШ. Однако в настоящее время спектр используемых артериальных кондуктов расширился за пределы ВГА за счет включения в него правой желудочно-сальниковой

артерии (ЖСА), нижней эпигастральной артерии (нЭГА) и лучевой артерии (ЛА).

ВНУТРЕННИЕ ГРУДНЫЕ АРТЕРИИ

Основываясь на долгосрочных показателях проходимости, было показано, что ВГА являются отличным кондуктом для реваскуляризации миокарда по сравнению с трансплантатом подкожной вены (ТПВ). Частота развития атеросклероза в ВГА невелика даже у пациентов, перенесших КШ, с тяжелой формой ИБС [9].

Преимущества в плане продолжительности жизни пациентов, связанные с использованием ЛВГА в качестве шунта к левой ПНА, были доказаны в клинике Кливленда более 30 лет назад [10]. Улучшенный результат с использованием ВГА с высокой вероятностью обусловлен ее долгосрочным уровнем проходимости более 90% в течение 10 лет после операции [10]. Превосходную состоятельность ВГА, вероятно, можно объяснить ее специфическими морфологическими особенностями.

Артерия имеет прерывистый внутренний эластичный слой, относительно тонкую медиа и отсутствие значительного мышечного компонента, что объясняет ее сниженную склонность к спазму и развитию атеросклероза [11]. Более того, по сравнению со всеми остальными артериальными и венозными кондуктами, ВГА обладает способностью к увеличенной продукции противовоспалительных и вазоактивных молекул [12, 13]. Действительно, эндотелиальные клетки ВГА высвобождают больше простациклина [12] и оксида азота [13], чем таковые в ТПВ.

Самые высокие показатели проходимости были задокументированы, когда ВГА (либо *in situ*, либо в виде Y-образного или свободного трансплантата) подшивалась к левой коронарной артерии и ее ветвям [14]. Низкие показатели были задокументированы, когда ВГА использовалась для шунтирования правой коронарной артерии (вероятно, из-за несоответствия размеров и прогрессирования заболевания или из-за малого объема жизнеспособного миокарда) [14].

Отдельно следует остановиться на использовании естественных бифуркаций ВГА при их билатераль-

ном использовании для реваскуляризации миокарда. Только в одном рандомизированном исследовании сравнивали результаты между использованием для шунтирования отдельно одной из ВГА и обеих ее ветвей (билиатерально – БВГА). В исследование ART (Arterial Revascularization Trial) первичная точка – 10-летняя выживаемость и промежуточный анализ через 1 год (конечная точка «безопасности») показали отличные результаты при использовании обеих стратегий. Смертность, инсульт, инфаркт миокарда и повторная реваскуляризация составили менее 2,5% в сравниваемых группах [14].

Помимо исследования ART начатый более 10 лет назад систематический обзор подходящих когорт из почти 15 тыс. пациентов с АКШ с трансплантатами БВГА показал значительное снижение коэффициента риска (HR) смертности [3]. За последние 2 года два независимых метаанализа подтвердили этот вывод, основываясь не только на более крупных когортах пациентов, но и на более длительном наблюдении [15, 16].

Основная проблема с использованием трансплантатов БВГА состоит в повышенном риске осложнений раны грудины и развития медиастенита. Один из крупнейших метаанализов по данной проблеме показал, что добавление второго трансплантата ВГА к ВГА – ПНА значительно увеличивает возникновение стernalных осложнений, и этот риск еще выше у больных сахарным диабетом и у пациентов с легочными заболеваниями [17]. В исследовании ART осложнения, связанные с раной грудины, увеличились с 0,6% в группе с одной ВГА до 1,9% в группе БВГА [14].

Однако частота серьезных проблем с раной может быть значительно снижена благодаря разумному отбору пациентов и выбору техники выделения кондуктов. Следует рассмотреть возможность избегания БВГА у пациентов с определенными факторами риска, особенно если они имеют место одновременно (диабет, ожирение, респираторные проблемы), а также у пациентов, получающих стероиды или иммуносупрессорную терапию. Кроме того, в двух систематических обзорах сообщается, что «скелетизация» ВГА, в отличие от техники выделения лоскутом, значительно снижает глубинные инфекции раны грудины даже у пациентов с диабетом [17, 18].

ЛУЧЕВАЯ АРТЕРИЯ

Внедренная в коронарную хирургию в 1970-х гг. [19] лучевая артерия была « заново открыта» в начале 1990-х [20]. Опасения по поводу спазма сосуда, обусловленного мышечной природой стенки ЛА, уменьшились после демонстрации прогрессивного

моррофункционального ремоделирования артерии в направлении эластомышечного профиля после имплантации в коронарное кровообращение [21]. Крупнейшие ангиографические исследования сообщают о степени проходимости ЛА от 80 до 90% через 7–10 лет наблюдения [22]. По данным других авторов, через 2 года после операции частота окклюзий и стенозирования шунтов *a. radialis* составила 35 и 15% соответственно [23].

Степень стенозирования сосуда-мишени является ключевым фактором при определении проходимости ЛА. Существует общее мнение, что ЛА следует использовать только для обхода сосуда со стенозом > 70%, а также есть доказательства того, что 90%-й предел стеноза обеспечивает еще лучшую степень проходимости ЛА, особенно в правой коронарной системе [24, 25]. При этом место проксимального анастомоза и метод забора (открытый и эндоскопический) не влияют на показатели проходимости ЛА, а скелетизация артерии может привести к лучшим показателям проходимости [26].

Лучевая артерия является артериальным кондуктом, для которого имеется наибольшее количество доказательств преимущества, полученных по данным рентгеновской компьютерной томографии. Результаты использования ЛА сравнивали либо с ТПВ, либо с правой внутренней грудной артерией (ПВГА) в четырех рандомизированных контролируемых исследованиях (РКИ) [25, 27–29]. Ряд метаанализов, объединивших данные РКИ и крупных обсервационных наблюдений для сравнения ЛА и ТПВ [30–34], со средним временем наблюдения, выходящим за пределы первого послеоперационного года, показали значительные преимущества с точки зрения проходимости трансплантата из ЛА. Единственный метаанализ, включавший клинические исходы, выявил снижение сердечной смерти, частоты инфаркта миокарда и повторных коронарных процедур, а также лучшую проходимость трансплантата ЛА в отдаленный послеоперационный период [33].

Исследование RAPCO (Radial Artery Patency and Clinical Outcomes) не выявило различий в проходимости ЛА и ПВГА, а только незначительную тенденцию к лучшей выживаемости без сердечных событий в группе ЛА в течение 6 лет наблюдения [29]. Единственный сравнительный метаанализ с учетом клинических конечных точек показал сопоставимую смертность, но при этом снижение частоты сердечных событий (инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, ишемия) при использовании ЛА [31]. Однако метаанализ ангиографических исследований показал, что использование ПВГА было связано с незначительным снижением абсолютного риска (на

27%) поздней окклюзии трансплантата по сравнению с ЛА [34].

По сравнению с ПВГА лучевая артерия представляется более предпочтительным выбором для пациентов с риском послеоперационных осложнений со стороны грудины (диабет, ожирение, хроническое заболевание легких). Действительно, выделение ЛА чрезвычайно безопасно и хорошо переносится даже тяжелыми пациентами [31] и (в отличие от ПВГА) не влияет на васкуляризацию и заживление грудины [35, 36]. Кроме того, недавнее исследование RAPS (Radial Artery Patency Study), посвященное только больным сахарным диабетом, показало, что использование ЛА является очень результативным в плане профилактики окклюзии трансплантата [37]. Это делает использование данной артерии в качестве шунта у диабетиков особенно привлекательным.

Большинство исследователей относят к основным недостаткам лучевых шунтов отсутствие естественного кровоснабжения сосудистой стенки через *vasa vasorum*. В работе M. Gaudino и соавт. [38] показана склонность лучевых шунтов к спазму. Кроме того, отмечается выраженная пролиферативная реакция сосудистой стенки, приводящая к стенозированию и окклюзии шунтов уже в первый год после операции, причем назначение антагонистов кальция с целью предупреждения спазма *a. radialis* не привело к улучшению проходимости шунтов в первый год после АКШ [39].

ЖЕЛУДОЧНО-САЛЬНИКОВАЯ АРТЕРИЯ

J. Рут и соавт. [40] и H. Suma и соавт. [41] впервые независимо друг от друга сообщили о систематическом использовании трансплантата желудочно-сальниковой артерии для АКШ в 1987 г. С тех пор трансплантаты ЖСА получили широкое применение в клинической практике. Очень немногие кандидаты на АКШ имеют противопоказания к использованию ЖСА [42]; кондукт имеет низкий уровень тяжелого атеросклероза [43] и хорошую пропускную способность [44].

Биологический и физиологический профиль ЖСА в настоящее время тщательно изучен [45], и использование этой артерии не увеличивает peri-операционный риск [46]. Заболеваемость атеросклерозом в ЖСА встречается редко, однако, несколько чаще, чем в ВГА [43]. Наиболее благоприятной мишенью для трансплантата ЖСА *in situ* является дистальный отдел ПКА, но этот шunt можно использовать и для дистальной части системы огибающей артерии. Субокклюзия (> 90%) коронарной артерии-мишени важна для максимизации показателей проходимости, а также для предотвращения спазма

и возможной недостаточности из-за хронического конкурентного коронарного кровотока. Эта проблема официально признана в Руководстве ACCF/ANA 2011 г. по коронарному шунтированию, в котором артериальное шунтирование ПКА противопоказано (класс III) у пациентов с менее чем критическим (т.е. > 90%) стенозом нативного сосуда [47].

В одной из самых больших серий публикаций, касающихся использования ЖСА, опубликованных на сегодняшний день, совокупная степень проходимости артерии составила 97,1% через 1 мес, 92,3% через 1 год, 85,5% через 5 лет, 80,9% через 7 лет и 66,5% через 10 лет после операции [48]. Этот относительно низкий уровень проходимости в поздние сроки улучшился благодаря использованию скелетированного трансплантата ЖСА только для шунтирования сосуда со стенозом > 90%. Используя этот подход, T. Suzuki с соавт. [49] сообщили о 97,8; 94,7 и 90,2% совокупных показателей проходимости в раннем послеоперационном периоде и через 5 и 8 лет после операции соответственно.

В ряде исследований установлено, что использование ЖСА вместо ТПВ для трансплантации ПКА у пациентов с БВГА в левую коронарную систему приводит к значительному увеличению долгосрочной выживаемости [50, 51]. Тем не менее другие исследования не подтвердили этот вывод, и метаанализ рентгеноконтрастных ангиографий, сравнивающий все кондукты, используемые в коронарной хирургии, показал, что ЖСА связана с самым высоким риском функциональной и полной окклюзии трансплантата [34]. Следует отметить, что в большинстве опубликованных серий сообщается об использовании ЖСА в качестве педикулярного («на ножке»), а не скелетированного трансплантата; было показано, что метод скелетизации при отборе артерии значительно улучшает ее проходимость [49].

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ДОЛГОСРОЧНУЮ ПРОХОДИМОСТЬ ТРАНСПЛАНТАТА

Конкуренция кровотока – важный фактор, влияющий на артериальную морфологию и проходимость кондукта. String sign – это атрофическое изменение артериального проводника, и это явление происходит из-за конкурентного потока при шунтировании только умеренно стенозированных коронарных артерий (КА). Было показано, что диаметр трансплантата из ВГА уменьшается, если стеноз нативной коронарной артерии меньше критичного [52]. В желудочно-сальниковой артерии показатели проходимости,

по-видимому, снижаются за счет именно конкурентного потока. H. Suma и соавт. [53] установили, что 10-летняя проходимость ЖСА составила 62,5%, и одной из основных причин поздней окклюзии трансплантата явился анастомоз с некритическиstenозированной КА. Взаимосвязь между проходимостью ТПВ и стенозом шунтированной КА вызывает споры, однако конкурентный поток может быть незначительным фактором, влияющим на проходимость ТПВ.

Считается, что напряжение сдвига стенки играет важную роль в развитии атеросклероза. T. Shimizu и соавт. [54] обнаружили, что скорости сдвига ВГА были выше по сравнению с ТПВ, из чего было сделано предположение, что эти различия могут иметь значение для развития дегенеративного заболевания трансплантата и влиять на длительность проходимости кондукита. Действительно, эндотелиальные клетки в ВГА высвобождают больше простацилина [12] и оксида азота [55], чем в ТПВ. Влияние конкуренции потоков на напряжение сдвига в коронарном шунте неизвестно. Большая скорость потока и меньший диаметр сосуда увеличивают напряжение сдвига.

G. Tinica и соавт. [56] провели исследование с целью выявления морфологических и патофизиологических факторов, связанных с длительной проходимостью трансплантатов, используемых при АКШ. Были проанализированы результаты компьютерно-томографической оценки проходимости 340 трансплантатов через $139,78 \pm 36,64$ мес после АКШ у 127 пациентов. Проходимость трансплантата варьировала в зависимости от типа сосуда и территории реваскуляризации. Максимальная проходимость была получена для ЛА (80,65%) для области, кровоснабжаемой ПКА, ПВГА (92,86%) – для передне-боковой области и ТПВ (82,54%) – для территории огибающей артерии.

Левая ВГА в качестве шунта к ПНА окклюзировалась в 13 (7,93%) случаях, из них 7 – из-за конкурентного кровотока. Влияние длины трансплантата на показатели проходимости после индексации по высоте было незначительным. Степень стеноза нативного (шунтируемого) сосуда влияла на показатели проходимости артериального трансплантата с отношением шансов (OR) окклюзии 3,02 при анастомозе с сосудами со стенозом < 90%. Диаметр целевого сосуда также влиял на показатели проходимости с OR окклюзии 2,63 для ТПВ [95%-й доверительный интервал (95% CI) 1,32–2,98; $p = 0,0041$] и 2,31 для артериальных трансплантатов [95% CI 1,53–3,19; $p = 0,0001$] при анастомозе с целевыми сосудами с просветом $\leq 1,5$ мм.

Мало изучено значение времени прохождения потока (ВПП) в трансплантатах, анастомозированных

с хронически окклюзированными коронарными сосудами (ХОС). В исследовании H. Oshima и соавт. [57] были установлены пороговые значения ВПП для выявления недостаточности обходных трансплантатов, анастомозированных с ХОС, чтобы прояснить взаимосвязь между ранним отказом трансплантата и степенью коллатерального кровообращения/региональным движением стенки миокарда, кровоснабжаемой ХОС. Мультивариантный регрессионный анализ и анализ рабочих характеристик артерии-реципиента выявили следующие предикторы ранней несостоятельности трансплантата: значение среднего потока (Q_{mean}) $< 11,5$ мл/мин для артериальных кондуктов, значение индекса пульсации (PI) $> 5,85$ и акинетическое/дискинетическое движение стенки на территории ХОС для ТПВ.

Таким образом, морфологические параметры, такие как тип трансплантата, область реваскуляризации, диаметр нативного сосуда и степень стеноза, являются важными факторами, обуславливающими долгосрочную проходимость кондукита.

МЕТОДЫ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ КОРОНАРНЫХ ШУНТОВ. РАДИОНУКЛИДНЫЕ МЕТОДЫ И МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ

Согласно текущим рекомендациям, несмотря на доказательства развития патологии трансплантата, почти у каждого пятого пациента уже в раннем постоперационном периоде не рекомендуется проводить стресс-тестирования и анатомические диагностические процедуры для оценки проходимости шунтов у бессимптомных пациентов в течение 5 лет после операции АКШ [58]. Кроме того, гемодинамическую значимость стеноза шунта не всегда можно точно определить по данным коронарной ангиографии [59, 60].

Следовательно, важное значение для клинической оценки имеют различные диагностические стратегии (инвазивные или неинвазивные), которые могут дополнительно характеризовать гемодинамические последствия поражения и идентифицировать лиц, подверженных риску смерти и сердечной недостаточности после успешного АКШ. В данной ситуации важную роль могут играть лучевые методы неинвазивной диагностики, в том числе ядерной медицины.

РАДИОНУКЛИДНЫЕ МЕТОДЫ

Известно, что нагрузочная перфузия сцинтиграфия миокарда (ПСМ) методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) –

это хорошо зарекомендовавший себя неинвазивный визуализирующий способ оценки коронарного кровотока у пациентов с подозрением на или установленным хроническим коронарным синдромом (ХКС). В дополнение к оценке региональной перфузии миокарда, электрокардиографическая синхронизация позволяет проводить оценку параметров функции левого желудочка (ЛЖ), т.е. фракции выброса и других показателей [61, 62].

Так, в исследовании F. Ortiz и соавт. [63] через 1 год после КШ пациентам проводили нагрузочную (стресс-тестирование с физической нагрузкой) перфузационную ОФЭКТ миокарда для определения прогностических критериев неблагоприятного исхода (сочетание смерти и застойной сердечной недостаточности). Было показано, что три отдельных результата стресс-теста предсказывали появление первичной конечной точки: неспособность достичь третьей стадии протокола Брюса (OR 7,3; 95% CI 2,4–22,1; $p < 0,001$), фракция выброса ЛЖ < 45% (OR 4,0; 95% CI 1,1–15,3; $p = 0,041$) и средне-большой размер стресс-индукционного дефекта перфузии (OR 2,31; 95% CI 1,1–1,5; $p = 0,04$). Эти результаты являются дополнительными и наиболее убедительными среди пациентов, прошедших тестирование с физической нагрузкой (HR 10,6; 95% CI 3,6–30,6; $p < 0,001$).

Тяжелая стресс-индукционная ишемическая дисфункция ЛЖ может быть обнаружена также на ОФЭКТ-ПСМ с помощью неперфузионных маркеров, таких как транзиторная ишемическая дилатация (ТИД) ЛЖ [64]. Последняя считается мощным маркером тяжелого ХКС и предиктором будущих сердечных событий, даже когда перфузия миокарда окажется нормальной [65].

S.S. Gultekin и соавт. [66] обследовали 104 пациента, у которых после недавней коронарной реваскуляризации рецидивировали симптомы ИБС: 62 пациента перенесли чрескожную ангиопластику (75 артерий) и 42 – АКШ (104 артерии). Всем им провели стресс-ОФЭКТ-ПСМ и повторную коронарную ангиографию. Показатели перфузии миокарда и ТИД коррелировали с наличием значительной обструктивной ИБС (стеноз КА > 70%) (рис.). ОФЭКТ-ПСМ выявила индуцируемую ишемию у 38 пациентов (36,5%) и ТИД > 1,20 у 49 пациентов (47%). Последующая коронарография (через 22 ± 7 дней после ОФЭКТ) выявила значительную обструкцию КА у 44 пациентов (42%). Чувствительность ОФЭКТ-ПСМ в выявлении обструктивной ИБС составила 61%, но значительно возросла до 93% при добавлении ТИД в качестве диагностического критерия ($p < 0,0001$).

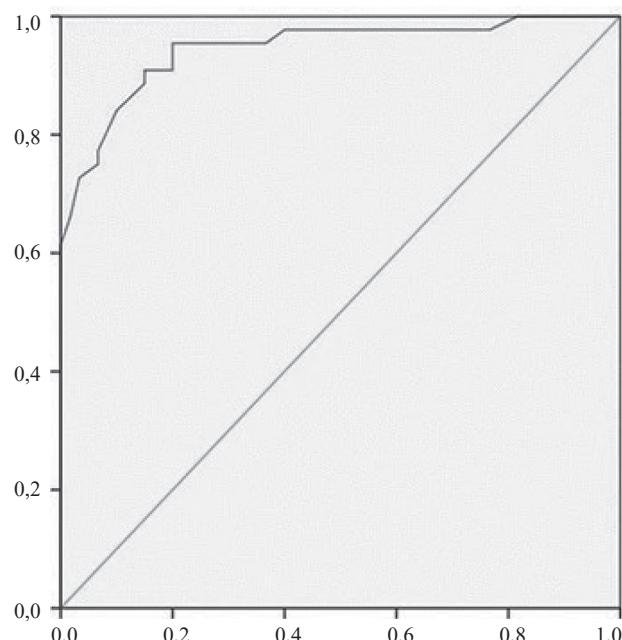


Рисунок. Кривая ROC-анализа отношения объема ЛЖ в состоянии стресса и покоя у пациентов с предшествующей коронарной реваскуляризацией для выявления обструктивной (стеноз > 70%) ИБС [66]

M. Kawasaji и соавт. [67] сравнили пропускную способность трансплантатов ВГА и подкожной вены в условиях физической нагрузки с помощью радионуклидной ангиокардиографии. В соответствии с типом шунтирующего трансплантата к левой ПНА 52 пациента были разделены на две группы: первую группу составили 27 пациентов с трансплантатом ВГА, а вторую – 25 пациентов с ТПВ. Трансплантаты подкожной вены были использованы для шунтирования правой и огибающей КА. При выполнении физической нагрузки перед операцией значения глобальной и региональной фракции выброса в обеих группах снизились одинаково. После операции общая фракция выброса, измеренная в первой и второй группах, значительно увеличилась: с 54 ± 2 до $57 \pm 2\%$ и с 54 ± 1 до $60 \pm 2\%$ соответственно, фракция выброса передне-перегородочной области – с 29 ± 1 до $32 \pm 2\%$ и с 29 ± 1 до $35 \pm 1\%$ соответственно, а фракция апикального выброса возросла с 75 ± 3 до $82 \pm 2\%$ и с 77 ± 2 до $86 \pm 2\%$ соответственно.

Различий в увеличении общей и региональной фракций выброса, вызванном физической нагрузкой, между первой и второй группами не обнаружено. У шести пациентов в первой группе выявлены нарушения движения стенки в передне-перегородочном и (или) апикальном сегментах, вызванные физической нагрузкой. Напротив, у пациентов во второй группе не было гипокинезов стенки

в указанных сегментах миокарда ЛЖ ($p < 0,05$, первая группа vs вторая).

Результаты этого исследования показывают, что трансплантаты ВГА реагируют на повышенную потребность в кровотоке при физической нагрузке практически так же как ТПВ. Тем не менее представляется, что у пациентов с трансплантатом ВГА имеется несколько больший потенциал при недостаточном кровотоке, о чем свидетельствуют данные обследования небольшой группы пациентов с аномалиями движения стенок, вызванными нагрузкой.

Таким образом, методы радионуклидной визуализации позволяют выявить пациентов с риском серьезных сердечно-сосудистых осложнений, включая сердечную недостаточность, для последующей идентификации несостоятельности коронарных шунтов с помощью коронарной ангиографии в различные сроки после АКШ.

МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ

Магнитно-резонансная томография сердца (СМРТ) является точным диагностическим инструментом для выявления ишемической болезни сердца. Метод предлагает как функциональные исследования, так и характеристики тканей для количественной оценки ишемии и инфаркта миокарда. Многочисленные исследования продемонстрировали высокую диагностическую точность оценки перфузии миокарда с болясным введением аденоцина [68–72] с более высоким пространственным разрешением по сравнению с методами радионуклидной визуализации. Тем не менее только в небольшом числе исследований использовали стресс-СМРТ у пациентов после коронарного шунтирования; при этом они продемонстрировали хорошую чувствительность и специфичность в выявлении значимых ($> 50\%$) стенозов в шунтах и нативных КА [73–75].

В частности, W.L.F. Bedaux и соавт. [75] оценили значение определяемого с помощью СМРТ потока в трансплантате и резерва кровотока для дифференциации значимого стенозирования венозного трансплантата от гемодинамически незначимого. У 21 пациента, которым была показана рентгеноангиография в связи с жалобами на рецидивирующие боли в грудной клетке после АКШ, провели оценку состояния венозных трансплантатов ($n = 40$) методом СМРТ. Была выполнена трехмерная контраст-усиленная МРТ-ангиография с последующим изменением потока в трансплантате в состоянии покоя и во время гиперемии, вызванной фармакологической нагрузкой. Резерв потока рассчитывали, только если скорость потока в покое превышала 20 мл/мин. Ана-

лиз проводился по четырем категориям стенозирования, определенным по рентгеновской ангиографии: окклюзированные трансплантаты ($n = 3$), трансплантаты со стенозом $> 50\%$ ($n = 19$), трансплантаты со стенозом $< 50\%$ с нарушенным потоком ($n = 8$) и кондуиты со стенозом $< 50\%$ и нормальным потоком ($n = 10$).

КТ-ангиография показала окклюзию трех трансплантатов из 40. В девяти из 37 трансплантатов базальный кровоток был < 20 мл/мин, и все они демонстрировали значительный стеноз при рентгеновской ангиографии. У трансплантатов с потоком покоя > 20 мл/мин ($n = 28$) резерв потока достоверно различался между трансплантатами без стеноза и трансплантатами со значительным стенозом или с нарушенным потоком ($2,5 \pm 0,7$ против $1,8 \pm 0,9$; $p = 0,04$). Алгоритм, сочетающий базальный объемный поток < 20 мл/мин и резерв потока трансплантата менее 2, имел чувствительность и специфичность 78 и 80% соответственно для выявления трансплантатов со значительным стенозом или с нарушенным кровотоком.

В исследовании L.P. Salm и соавт. [76] было проведено прямое сравнение ОФЭКТ и СМРТ в оценке гемодинамической значимости ангиографически подтвержденных изменений в шунтирующих трансплантатах. У 25 пациентов посредством ангиографии, перфузионной ОФЭКТ и определения резерва скорости коронарного кровотока с помощью СМРТ оценили функцию 57 артериальных и венозных трансплантатов. На основе результатов ангиографии и ОФЭКТ были выделены четыре группы кондуитов: 1) отсутствие значительного стеноза ($< 50\%$), нормальная перфузия; 2) значительный стеноз ($\geq 50\%$), аномальная перфузия; 3) значительный стеноз, нормальная перфузия (отсутствие гемодинамической значимости); 4) отсутствие значительного стеноза, аномальная перфузия (предполагающая миокардососудистое заболевание).

Полная оценка была получена для 46 трансплантатов. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография и СМРТ дали аналогичную информацию в 37 из 46 трансплантатов (80%), что свидетельствует о хорошей согласованности методов (кappa = 0,61; $p < 0,001$). Восемь трансплантатов кровоснабжали участки миокарда с наличием рубцовой ткани. Когда согласованность между ОФЭКТ и СМРТ была ограничена шунтами для кровоснабжения жизнеспособного миокарда, она улучшилась до 84% (кappa = 0,68). Сочетание ангиографии с ОФЭКТ классифицировало 14 поражений в первой группе, 23 – во второй, шесть – в третьей и три – в четвертой. Согласованность ОФЭКТ и СМРТ для каждой группы составила 86, 78, 100 и 33% соответственно.

Таким образом, наличие и доступность такого неинвазивного теста, как сердечно-сосудистая магнитно-резонансная томография, позволяющая исключить значительный стеноз трансплантатов и коронарных артерий, может быть полезным инструментом скрининга при последующем наблюдении за пациентами после АКШ.

ДОППЛЕРОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Как уже было отмечено, более высокая степень проходимости артериальных кондуктов по сравнению с венозными объясняется гистологическими характеристиками, различиями в восприимчивости сосудов к эндогенным агонистам и большей способностью эндотелиальных клеток артерий секретировать эндогенные дилататоры [11, 77, 78]. В то же время существует немного данных, описывающих адаптацию этих трансплантатов к увеличению потребности в кровотоке миокарда, например, во время нагрузки. Сохраненная эндотелиальная функция в артериальных трансплантатах должна способствовать их хорошим гемодинамическим показателям, позволяя им увеличивать свои размеры при усилении кровотока [77, 79]. Хорошо известно, что артериальные трансплантаты *in situ* имеют меньший диаметр и меньшую исходную пропускную способность, чем венозные трансплантаты [80], что может ограничить любое увеличение кровотока. Однако лишь единичные исследования посвящены сравнительной гемодинамической оценке двух типов кондуктов [67, 81, 82].

Метод количественной ангиографии в сочетании с внутрисосудистым допплеровским анализом скорости, предложенный J.W. Doucette и соавт. [83], позволяет провести точное измерение абсолютного кровотока и может быть использован для изучения адаптации сосудов к увеличению потребности миокарда в кислороде. В исследованиях с использованием импульсной допплеровской эхокардиографии сообщалось о значительно более высокой пиковой скорости потока в дистальном трансплантате ВГА по сравнению с дистальным ТПВ [82]. Таким образом, динамика потока, по-видимому, различается в этих двух типах шунтов, но ни в одном сообщении эти различия подробно не рассматривались. Имеется и ряд других неинвазивных допплеровских эхокардиографических оценок коронарных шунтов [84, 85], однако они ограничены исследованием потока либо в проксимальном [84], либо в дистальном участке [85] трансплантата ВГА.

Недавно разработанный внутрисосудистый интродьюсер с допплеровским датчиком (ДВИ) для

анализа фазовой скорости потока в трансплантатах может проходить через стенозирующие поражения КА и использоваться для измерения скоростей потока дистальнее по отношению к стенозу [86, 87]. С помощью этого метода селективная канюляция шунтирующего трансплантата во время катетеризации сердца позволяет регистрировать фазовые скорости потока как в трансплантате, так и в нативной коронарной артерии, дистальнее наложения анастомоза.

O. Gurné и соавт. [88] провели исследование, чтобы оценить *in vivo* механизмы, с помощью которых различные коронарные шунты реагируют во время увеличения потребности в кровотоке, вызванного кардиостимуляцией (ЭКС), индуцирующей тахикардию. Авторы сравнили выделенные «на ножке» и свободные артериальные кондукты (ЛВГА и нЭГА), а также и венозные трансплантаты в ранний и отдаленный периоды после операции шунтирования. Сорок три шунта (13 ЭГА, 15 ВГА, 15 ТПВ), исследованных в ранние сроки (9 ± 3 дней) после реваскуляризации, сравнивали с 41 трансплантатом (15 ЭГА, 11 ВГА, 15 ТПВ), которые оценивали в отдаленный период после операции (среднее значение 23 мес, диапазон от 6 до 168 мес) с помощью количественной ангиографии и внутрисосудистого допплеровского анализа скорости во время кардиостимуляции предсердий. Контролем служили 17 нормальных КА.

Базовый поток трансплантата имел тенденцию к снижению в поздние сроки после операции по сравнению с ранним периодом (41 ± 16 и 45 ± 21 мл/мин, недостоверно). Кровоток увеличивался во время ЭКС в среднем на $30 \pm 16\%$ сразу после операции, что меньше чем в поздние сроки ($+46 \pm 18\%$, $p < 0,001$) и меньше, чем в нормальных КА ($+54 \pm 27\%$, $p < 0,001$ vs «ранние» шунты; недостоверно vs «поздние» шунты). Разница между венозными и артериальными трансплантатами не было. Во время кардиостимуляции в ранние сроки после операции на артериальных и венозных трансплантатах не наблюдалось значительной вазодилатации. В поздние сроки после операции значительная вазодилатация выявлялась только в артериальных трансплантатах от $2,41 \pm 0,37$ до $2,53 \pm 0,41$ мм (+5,1% относительно исходного уровня, $p < 0,001$). В ранние сроки после операции и в венозных трансплантатах в отдаленные сроки увеличение кровотока было полностью связано с увеличением скорости. В более «поздних» артериальных трансплантатах относительный вклад увеличения скорости в увеличение потока во время стимуляции был ниже ($70 \pm 22\%$), чем в венозных трансплантатах ($102 \pm 11\%$, $p < 0,001$) и аналогичен нормальным коронарным артериям ($68 \pm 28\%$).

Авторы пришли к заключению, что как в ранние, так и поздние сроки после операции артериальные и венозные трансплантаты увеличивают свой поток во время ЭКС. Ранние артериальные и венозные трансплантаты увеличивают кровоток только за счет увеличения скорости. В поздние сроки после операции артериальные трансплантаты действуют как физиологические каналы и увеличивают кровоток также как нормальные коронарные артерии, т.е. благодаря увеличению скорости и калибра, опосредованного наличием эндотелиального резерва.

Как уже указывалось выше, диаметр трансплантата из ВГА и ЖСА уменьшается, если стеноз нативной КА меньше критического [52, 53]. Это явление связывают с конкурентным кровотоком по умеренно стенозированным КА. В исследовании T. Shimizu и соавт. [54] было проведено сравнение напряжения сдвига как значимого фактора, влияющего на проходимость трансплантата, между артериальным кондуитом и ТПВ после операции КШ. Был обследован 101 пациент с 40 ВГА, 27 ЖСА и 34 ТПВ с помощью ДВИ во время послеоперационной ангиографии. Объем потока трансплантата и напряжение сдвига были рассчитаны на основе данных о скорости и диаметре. Исследуемые трансплантаты классифицированы по степени нативного стеноза коронарных артерий: группа L имела стеноз от 50 до 75%, а группа H – более 75%. Группа H состояла из 25 ВГА, 17 ЖСА и 21 ТПВ, в то время как группа L – из 15 ВГА, 10 ЖСА и 13 ТПВ.

В группе H объем потока трансплантата достоверно не различался между ВГА (34 ± 11 мл/мин), ЖСА (36 ± 16 мл/мин) и ТПВ (41 ± 15 мл/мин), а напряжение сдвига трансплантата достоверно (ВГА vs ЖСА, $p = 0,0001$; ЖСА vs ТПВ, $p = 0,01$) различалось между ВГА ($16,0 \pm 4,8$ Дин/см 2), ЖСА ($9,1 \pm 3,2$ Дин/см 2) и ТПВ ($4,8 \pm 1,6$ Дин/см 2). В группе L объем потока был ниже ($p < 0,001$) в ВГА (18 ± 6 мл/мин) и ЖСА (13 ± 8 мл/мин), чем в ТПВ (35 ± 16 мл/мин), а напряжение сдвига было значительно ($p < 0,001$) больше в ВГА ($13,7 \pm 4,9$ Дин/см 2), чем в ЖСА ($5,6 \pm 2,0$ Дин/см 2) или ТПВ ($4,6 \pm 2,0$ Дин/см 2). По мнению авторов, полученные данные свидетельствуют о том, что превосходящее напряжение сдвига в ВГА сохраняется, несмотря на уменьшение объема потока из-за конкуренции. Более низкое напряжение сдвига ЖСА при промежуточном стенозе может быть связано с развитием несостоятельности кондуита.

Имеются сообщения, согласно которым послеоперационная пропускная способность трансплантатов ВГА к левой ПНА ограничена по сравнению с таковой у ТПВ [67]. Поэтому целью исследования

T. Akasaka и соавт. [89] явилась оценка динамики кровотока и пропускной способности указанных кондуитов к ПНА с помощью ДВИ.

Фазовые записи скорости потока были получены в средней части шунтирующего трансплантата и в нативной левой ПНА с использованием 0,018-дюймового (0,046 см) 12 МГц допплеровского проводника у 53 пациентов: 27 пациентов с трансплантатом ВГА (16 с «новым» трансплантатом, оцененным через 1 мес после операции, и 11 со «старым», оцененным через 1 год) и 26 пациентов с ТПВ (13 с «новым» трансплантатом, оцененным через 1 мес после операции, и 13 со «старым», оцененным через 1 год). Все пациенты были обследованы в исходном состоянии покоя и во время гиперемии, вызванной внутривенной инфузией дипиридамола в дозе 0,56 мг/кг массы тела в течение 4 мин.

Непосредственно в ПНА систолическая и диастолическая пиковые скорости, средняя по времени мгновенная спектральная пиковая скорость (усредненная по времени пиковая скорость), диаметр сосуда и рассчитанный объем потока существенно не различались между четырьмя группами трансплантатов. Усредненная по времени пиковая скорость была значительно выше для новых, чем для старых артериальных трансплантатов или для новых или старых венозных трансплантатов (27 ± 9 против 19 ± 6 , 11 ± 5 и 12 ± 6 см/с соответственно, $p < 0,01$). Однако поскольку диаметр новых артериальных трансплантатов был значительно меньше, чем у других трех трансплантатов ($2,4 \pm 0,1$ против $2,9 \pm 0,2$ [$p < 0,05$], $3,6 \pm 0,6$ [$p < 0,01$] и $3,4 \pm 0,5$ мм) [$p < 0,01$] соответственно), разницы в расчетных объемах потока в состоянии покоя (62 ± 17 против 58 ± 15 , 61 ± 18 и 58 ± 19 мл/мин соответственно, недостоверно) между новыми артериальными трансплантатами и другими трансплантатами обнаружить не удалось.

Хотя максимальная усредненная по времени максимальная скорость во время гиперемии была значительно больше у новых, чем у старых артериальных трансплантатов или новых или старых венозных трансплантатов (47 ± 17 против 40 ± 7 , 31 ± 8 и 34 ± 12 см/с соответственно, $p < 0,01$), запас потока новых артериальных трансплантатов оказался значительно меньше, чем у других трех групп ($1,8 \pm 0,3$ против $2,6 \pm 0,3$, $2,8 \pm 0,5$ и $3,0 \pm 0,6$ соответственно, $p < 0,01$), поскольку исходная усредненная по времени пиковая скорость этих новых трансплантатов была намного выше, чем у других групп.

Таким образом, внутренний поток трансплантата из ВГА в ранние сроки после операции характеризуется более высокой скоростью покоя, чем поток ТПВ. Эта высокая скорость поддерживает объем по-

тока в исходном состоянии в качестве компенсации за меньший диаметр. Хотя резерв кровотока существенно не различается между новыми и старыми венозными трансплантатами, резерв для кондуктов ВГА значительно уменьшается вскоре после операции шунтирования. Эта ограниченная пропускная способность улучшается в позднем послеоперационном периоде благодаря увеличению диаметра и снижению скорости потока по сравнению с исходными уровнями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рентгеновская ангиография считается стандартной процедурой для оценки проходимости шунтов коронарных артерий, поскольку она обеспечивает отличную визуализацию трансплантата, количественную информацию о степени просвета, наличия обструкции и обеспечивает, таким образом, показания к повторной реваскуляризации. Однако гемодинамическая значимость стеноза не может быть точно определена по коронарной ангиограмме. Поэтому доступность и высокая информативность других методов лучевой диагностики может быть полезным инструментом скрининга на любом этапе наблюдения за пациентами после аортокоронарного шунтирования.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Centers for disease control and prevention. Prevalence of coronary heart disease – United States, 2006–2010. *MMWR*. 2011;60(40):1377–1381.
- Center for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics. Underlying Cause of Death 1999–2013 on CDC WONDER Online Database, released 2015. Data are from the Multiple Cause of Death Files, 1999–2013, as compiled from data provided by the 57 vital statistics jurisdictions through the Vital Statistics Cooperative Program.
- Taggart D.P., D'Amico R., Altman D.G. Effect of arterial revascularisation on survival: a systematic review of studies comparing bilateral and single internal mammary arteries. *Lancet*. 2001;358(9285):870–875. DOI: 10.1016/S0140-6736(01)06069-X.
- Shahian D.M., O'Brien S.M., Sheng S., Grover F.L., Mayer J.E., Jacobs J.P. et al. Predictors of long-term survival after coronary artery bypass grafting surgery: results from the Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery Database (the ASCERT study). *Circulation*. 2012;125(12):1491–1500. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.066902.
- Wu C., Camacho F.T., Wechsler A.S., Lahey S., Culliford A.T., Jordan D. et al. Risk score for predicting long-term mortality after coronary artery bypass graft surgery. *Circulation*. 2012;125(20):2423–2430. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.055939.
- Moreyra A.E., Deng Y., Wilson A.C., Cosgrove N.M., Kostis W.J., Kostis J.B. Incidence and trends of heart failure admissions after coronary artery bypass grafting surgery. *European Journal of Heart Failure*. 2013;15(1):46–53. DOI: 10.1093/eurjhf/hfs154.
- Lopes R.D., Mehta R.H., Hafley G.E., Williams J.B., Mack M.J., Peterson E.D. et al. Relationship between vein graft failure and subsequent clinical outcomes after coronary artery bypass surgery. *Circulation*. 2012;125(6):749–756. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.040311.
- Murad H. Saphenous vein graft stenosis. *Arq. Bras. Cardiol*. 2020;115(3):545–546. DOI: 10.36660/abc.20200633.
- Goldman S., Zadina K., Moritz T., Ovitt Th., Sethi G., Copeland J.G. et al. Long-term patency of saphenous vein and left internal mammary artery grafts after coronary artery bypass surgery: results from a department of veterans affairs cooperative study. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2004;44(11):2149–2156. DOI: 10.1016/j.jacc.2004.08.064.
- Loop F.D., Lytle B.W., Cosgrove D.M., Stewart R.W., Goormastic M., Williams G.W. et al. Influence of the internal-mammary-artery graft on 10-year survival and other cardiac events. *N. Engl. J. Med.* 1986;314(1):1–6. DOI: 10.1056/NEJM198601023140101.
- Otsuka F., Yahagi K., Sakakura K., Virmani R. Why is the mammary artery so special and what protects it from atherosclerosis? *Ann. Cardiothorac. Surg.* 2013;2(4):519–526. DOI: 10.3978/j.issn.2225-319X.2013.07.06.
- Bonatti J., Dichtl W., Dworzak E.A., Antretter H., Unger F., Puschendorf B. et al. Stimulated prostacyclin release by conduits used for coronary artery bypass grafting. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1998;46(2):59–62. DOI: 10.1055/s-2007-1010190.
- Broeders M.A., Doevedans P.A., Maessen J.G., van Gorsel E., Egbrink M.G., Daemen M.J. et al. The human internal thoracic artery releases more nitric oxide in response to vascular endothelial growth factor than the human saphenous vein. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2001;122(2):305–309. DOI: 10.1067/mtc.2001.113602.
- Taggart D.P., Altman D.G., Gray A.M., Lees B., Nugara F., Yu L. et al. Randomized trial to compare bilateral vs. single internal mammary coronary artery bypass grafting: 1-year results of the Arterial Revascularisation Trial (ART). *Eur. Heart J*. 2010;31(20):2470–2481. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq318.
- Weiss A.J., Zhao S., Tian D.H., Taggart D.P., Yan T.D. A meta-analysis comparing bilateral internal mammary artery with left internal mammary artery for coronary artery bypass grafting. *Ann. Cardiothorac. Surg.* 2013;2(4):390–400. DOI: 10.3978/j.issn.2225-319X.2013.07.16.
- Yi G., Shine B., Rehman S.M., Altman D.G., Taggart D.P. Effect of bilateral internal mammary artery on long-term survival: a meta-analysis approach. *Circulation*. 2014;130(7):539–545. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.004255.
- Dai C., Lu Z., Zhu H., Xue S., Lian F. Bilateral internal mammary artery grafting and risk of sternal wound infection: evidence from observational studies. *Ann. Thorac. Surg.* 2013;95(6):1938–1945. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2012.12.038.
- Deo S.V., Shah I.K., Dunlay S.M., Erwin P.J., Locker C., Altarabsheh S.E. et al. Bilateral internal thoracic artery harvest and deep sternal wound infection in diabetic patients. *Ann. Thorac. Surg.* 2013;95(3):862–869. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2012.11.068.

19. Carpenter A., Guermonprez J.L., Deloche A., Frechette C., DuBost C. The aorta-to-coronary radial artery bypass graft: a technique avoiding pathological changes in grafts. *Ann. Thorac. Surg.* 1973;16(2):111–121. DOI: 10.1016/s0003-4975(10)65825-0.
20. Acar C., Jebara V.A., Portoghesi M., Beyssen B., Pagny J.Y., Grare P. et al. Revival of the radial artery for coronary artery bypass grafting. *Ann. Thorac. Surg.* 1992;54(4):652–659. DOI: 10.1016/0003-4975(92)91007-v.
21. Gaudino M., Prati F., Caradonna E., Trani C., Burzotta F., Schiavoni G. et al. Implantation in the coronary circulation induces morphofunctional transformation of radial grafts from muscular to elastomuscular. *Circulation.* 2005;112(Suppl.9):1208–1211. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.512889.
22. Tatoulis J., Buxton B.F., Fuller J.A., Meswani M., Theodore S., Powar N., Wynne R. Longterm patency of 1108 radial arterial-coronary angiograms over 10 years. *Ann. Thorac. Surg.* 2009;88(1):23–29. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2009.03.086.
23. Khot U., Friedman D., Petterson G., Smedira N.G., Li J., Ellis S.G. Radial artery bypass grafts have an increased occurrence of angiographically severe stenosis and occlusion compared with left internal mammary arteries and saphenous vein grafts. *Circulation.* 2004;109(17):2086–2091. DOI: 10.1161/01.CIR.0000127570.20508.5C.
24. Deb S., Cohen E.A., Singh S.K., Une D., Laupacis A., Fennes S.E. Radial artery and saphenous vein patency more than 5 years after coronary artery bypass surgery: results from RAPS (Radial Artery Patency Study). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012;60(1):28–35. DOI: 10.1016/j.jacc.2012.03.037.
25. Gaudino M., Alessandrini F., Pragliola C., Cellini C., Glieca F., Luciani N. et al. Effect of target artery location and severity of stenosis on mid-term patency of aorta-anastomosed vs. internal thoracic artery anastomosed radial artery grafts. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2004;25(3):424–428. DOI: 10.1016/j.ejcts.2003.11.027.
26. Gaudino M., Crea F., Cammertoni F., Mazza A., Toesca A., Massetti M. Technical issues in the use of the radial artery as a coronary artery bypass conduit. *Ann. Thorac. Surg.* 2014;98(6):2247–2254. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2014.07.039.
27. Goldman S., Sethi G.K., Holman W., Thai H., et al. Radial artery grafts vs saphenous vein grafts in coronary artery bypass surgery: a randomized trial. *JAMA.* 2011;305(2):167–174. DOI: 10.1001/jama.2010.1976.
28. Collins P., Webb C.M., Chong C.F., Moat N.E. Radial artery versus saphenous vein patency randomized trial: five year angiographic follow-up. *Circulation.* 2008;117(22):2859–2864. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.736215.
29. Hayward P.A., Buxton B.F. Mid-term results of the Radial Artery Patency and Clinical Outcomes randomized trial. *Ann. Cardiothorac. Surg.* 2013;2(4):458–466. DOI: 10.3978/j.issn.2225-319X.2013.07.18.
30. Benedetto U., Angeloni E., Refice S., Sinatra R. Radial artery versus saphenous vein graft patency: meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2010;139(1):229–231. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2009.05.038.
31. Hu X., Zhao Q. Systematic comparison of the effectiveness of radial artery and saphenous vein or right internal thoracic artery coronary bypass grafts in non-left anterior descending coronary arteries. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2011;12(4):273–279. DOI: 10.1631/jzus.B1000241.
32. Cao C., Manganas C., Horton M., Bannon P., Munkholm-Larsen S., Ang Su.C. et al. Angiographic outcomes of radial artery versus saphenous vein in coronary artery bypass graft surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2013;146(2):255–261. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2012.07.014.
33. Zhang H., Wang Z.W., Wu H.B., Hu X.P., Zhou Z., Xu P. Radial artery graft vs. saphenous vein graft for coronary artery bypass surgery: which conduit offers better efficacy? *Herz.* 2014;39(4):458–465. DOI: 10.1007/s00059-013-3848-5.
34. Benedetto U., Raja S.G., Albanese A., Amrani M., Biondi-Zoccali G., Frati G. Searching for the second best graft for coronary artery bypass surgery: a network meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2015;47(1):59–65. DOI: 10.1093/ejcts/ezu111.
35. Tranbaugh R.F., Dimitrova K.R., Lucido D.J., Hoffman D.M., Dincheva G.R., Geller C.M. et al. The second best arterial graft: a propensity analysis of the radial artery versus the free right internal thoracic artery to bypass the circumflex coronary artery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2014;147(1):133–140. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2013.08.040.
36. Hoffmann D.M., Dimitrova K.R., Lucido D.J., Dincheva G.R., Geller C.M., Balaram S.K. et al. Optimal conduit for diabetic patients: propensity analysis of radial and right internal thoracic arteries. *Ann. Thorac. Surg.* 2014;98(1):30–36. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2014.03.044.
37. Deb S., Singh S.K., Moussa F., Tsubota H., Une D., Kiss A. et al. The long-term impact of diabetes on graft patency after coronary artery bypass grafting surgery: a substudy of the multicenter Radial Artery Patency Study. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2014;148(4):1246–1253. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2014.06.057.
38. Gaudino M., Gileca F., Luciani N., Alessandrini F., Possati G. Clinical and angiographic effects of chronic calcium channel blocker therapy continued beyond first postoperative year in patients with radial artery grafts: results of a prospective randomized investigation. *Circulation.* 2001;104(12Suppl.1): 64. DOI: 10.1161/hc37t1.094819.
39. Patel A., Asopa S., Dunning J. Should patients with radial artery conduit have post-operative calcium channel blockers? *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2006;5(3):251–257. DOI: 10.1510/icvts.2006.129262.
40. Pym J., Brown P.M., Charrette E.J., Parker J.O., West R.O. Gastroepiploic-coronary anastomosis: a viable alternative bypass graft. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1987;94(2):256–259.
41. Suma H., Fukumoto H., Takeuchi A. Coronary artery bypass grafting by utilizing in situ right gastroepiploic artery: basic study and clinical application. *Ann. Thorac. Surg.* 1987;44(4):394–397. DOI: 10.1016/s0003-4975(10)63799-x.
42. Saito T., Suma H., Terada Y., Wanibuchi Y., Fukuda S., Furuta S. Availability of the in situ right gastroepiploic artery for coronary artery bypass. *Ann. Thorac. Surg.* 1992;53(2):266–268. DOI: 10.1016/0003-4975(92)91330-c.
43. Suma H., Takanashi R. Arteriosclerosis of the gastroepiploic and internal thoracic arteries. *Ann. Thorac. Surg.* 1990;50(3):413–416. DOI: 10.1016/0003-4975(90)90485-o.

44. Ochiai M., Ohno M., Taguchi J., Hara K., Suma H., Isshiki T. et al. of human gastroepiploic arteries to vasoactive substances: comparison with responses of internal mammary arteries and saphenous veins. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1992;104(2):453–458.
45. Takayama T., Suma H., Wanibuchi Y., Tohda E., Marsunaka T., Yamashita S. Physiological and pharmacological responses of arterial graft flow after coronary artery bypass grafting measured with an implantable ultrasonic Doppler miniprobe. *Circulation.* 1992;86(Suppl.5):217–223.
46. Suma H., Wanibuchi Y., Furuta S., Takeuchi A. Does use of gastroepiploic artery graft increase surgical risk? *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1991;101(1):121–125.
47. Hillis D.L., Smith P.K., Anderson J.L., Bittl J.A. et al. 2011 ACCF/AHA guideline for coronary artery bypass graft surgery: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, and Society of Thoracic Surgeons. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011;58(24):e123–210. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.08.009.
48. Suma H., Tanabe H., Takahashi A., Horii T., Isomura T., Hirose H. et al. Twenty years experience with the gastroepiploic artery graft for CABG. *Circulation.* 2007;116(Suppl.11): 188–191. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.678813.
49. Suzuki T., Asai T., Nota H., Kuroyanagi S., Kinoshita T., Takashima N. et al. Early and long-term patency of in situ skeletonized gastroepiploic artery after off-pump coronary artery bypass graft surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 2013;96(1):90–95. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2013.04.018.
50. Glineur D., D'hoore W., Price J., Dorméus S., de Kerchove L., Dion R. et al. Survival benefit of multiple arterial grafting in a 25-year single-institutional experience: the importance of the third arterial graft. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2012;42(2):284–290. DOI: 10.1093/ejcts/ezr302.
51. Suzuki T., Asai T., Matsabayashi K., Kambara A., Kinoshita T., Takashima N. et al. In off-pump surgery, skeletonized gastroepiploic artery is superior to saphenous vein in patients with bilateral internal thoracic arterial grafts. *Ann. Thorac. Surg.* 2011;91(4):1159–1164. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2010.12.031.
52. Shimizu T., Hirayama T., Suesada H., Ikeda K., Ito S., Ishimaru S. Effect of flow competition on internal thoracic artery graft: postoperative velocimetric and angiographic study. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2000;120(3):459–465. DOI: 10.1067/mtc.2000.108166.
53. Suma H., Isomura T., Horii T., Sato T. Late angiographic result of using the right gastroepiploic artery as a graft. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2000;120(3):496–498. DOI: 10.1067/mtc.2000.108690.
54. Shimizu T., Ito Sh., Kikuchi Y., Misaka M., Hirayama T., Ishimaru Sh. et al. Arterial conduit shear stress following bypass grafting for intermediate coronary artery stenosis: a comparative study with saphenous vein grafts. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* 2004;25(4):578–584. DOI: 10.1016/j.ejcts.2003.12.039.
55. Broeders M.A., Doevedans P.A., Maessen J.G., van Gorsel E., Egbrink M.G., Daemen M.J. et al. The human internal thoracic artery releases more nitric oxide in response to vascular endothelial growth factor than the human saphenous vein. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2001;122(2):305–309. DOI: 10.1067/mtc.2001.113602.
56. Tinica G., Chisto R.O., Enache M., Constantin M.M.L., Cioociu M., Furnica C. Long-term graft patency after coronary artery bypass grafting: Effects of morphological and pathophysiological factors. *Anatol. J. Cardiol.* 2018;20(5):275–282. DOI: 10.14744/AnatolJCardiol.2018.51447.
57. Oshimaa H., Tokudaa Y., Arakia Y., Ishii H., Muroharab T., Ozakic Y. et al. Predictors of early graft failure after coronary artery bypass grafting for chronic total occlusion. *Interactive Cardiovasc. and Thoracic Surgery.* 2016;23(1):142–149. DOI: 10.1093/icvts/ivw084.
58. Wolk M.J., Bailey S.R., Doherty J.U., Douglas P.S., Hendl R.C., Kramer C.M. et al. American College of Cardiology Foundation Appropriate Use Criteria Task Force. ACCF/AHA/ASE/ASNC/HFSA/HRS/SCAI/SCCT/SCMR/STS 2013 multimodality appropriate use criteria for the detection and risk assessment of stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology Foundation Appropriate Use Criteria Task Force, American Heart Association, American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Failure Society of America, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Cardiovascular Computed Tomography, Society for Cardiovascular Magnetic Resonance, and Society of Thoracic Surgeons. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;63(4):380–406. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.11.009.
59. White C.W., Wright C.B., Doty D.B., Hiratzka L.F., Eastham C.L., Harrison D.G. et al. Does visual interpretation of the coronary arteriogram predict the physiologic importance of a coronary stenosis? *N. Engl. J. Med.* 1984;310(13):819–824. DOI: 10.1056/NEJM198403293101304.
60. Topol E.J., Nissen S.E. Our preoccupation with coronary luminology. The dissociation between clinical and angiographic findings in ischemic heart disease. *Circulation.* 1995;92(8):2333–2342. DOI: 10.1161/01.cir.92.8.2333.
61. Hesse B., Tägil K., Cuocolo A., Anagnostopoulos C., Bardiés M., Bax J. et al. EANM/ESC procedural guidelines for myocardial perfusion imaging in nuclear cardiology. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2005;32(7):855–897. DOI: 10.1007/s00259-005-1779-y.
62. Strauss H.W., Miller D.D., Wittry M.D., Cerqueira M.D., Garcia E.V., Iskandrian A.S. et al. Procedure guideline for myocardial perfusion imaging 3.3. *J. Nucl. Med. Technol.* 2008;36(3):155–161. DOI: 10.2967/jnmt.108.056465.
63. Ortiz F., Mbai M., Adabag S., Garcia S., Nguyen J., Goldman S. et al. Utility of nuclear stress imaging in predicting long-term outcomes one-year post CABG surgery. *J. Nucl. Cardiol.* 2018;27(6):1970–1978. DOI: 10.1007/s12350-018-01469-y.
64. Xu Y., Arsanjani R., Clond M., Hyun M., Lemley M. Jr., Fish M. et al. Transient ischemic dilation for coronary artery disease in quantitative analysis of same-day sestamibi myocardial perfusion SPECT. *J. Nucl. Cardiol.* 2012;19(3):465–473. DOI: 10.1007/s12350-012-9527-8.
65. Abidov A., Bax J.J., Hayes S.W., Hachamovitch R., Cohen I., Gerlach J. et al. Transient ischemic dilation ratio of

- the left ventricle is a significant predictor of future cardiac events in patients with otherwise normal myocardial perfusion SPECT. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003;42(10):1818–1825. DOI: 10.1016/j.jacc.2003.07.010.
66. Gultekin S.S., Sadic M., Bilgin M., Koca G., Acikel S., Yeter E. et al. The value of transient ischemic dilation for detecting restenosis after coronary artery revascularization. *Journal of Nuclear Cardiology.* 2018;25(2):586–592. DOI: 10.1007/s12350-016-0607-z.
67. Kawasuji M., Tsujiguchi H., Tedoriya T., Taki J., Iwa T. Evaluation of postoperative flow capacity of internal mammary artery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1990;99(4):696–702.
68. Nandalur K.R., Dwamena B.A., Choudhri A.F., Nandalur M.R., Carlos R.C. Diagnostic performance of stress cardiac magnetic resonance imaging in the detection of coronary artery disease: a meta-analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007;50(14):1343–1353. DOI: 10.1016/j.jacc.2007.06.030.
69. Chih S., Macdonald P.S., Feneley M.P., Law M., Graham R.M., McCrohon J.A. Reproducibility of adenosine stress cardiovascular magnetic resonance in multi-vessel symptomatic coronary artery disease. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.* 2010;12(1):42. DOI: 10.1186/1532-429X-12-42.
70. De Jong M.C., Genders T.S., van Geuns R.J., Moelker A., Hunink M.G. Diagnostic performance of stress myocardial perfusion imaging for coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur. Radiol.* 2012;22(9):1881–1895. DOI: 10.1007/s00330-012-2434-1.
71. Kwong R.Y., Ge Y., Steel K., Bingham S., Abdullah S., Fujikura K. et al. Cardiac magnetic resonance stress perfusion imaging for evaluation of patients with chest pain. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019;74(14):1741–1755. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.07.074.
72. Van Assen M., Kuijpers D.J., Schwitter J. MRI perfusion in patients with stable chest-pain. *Br. J. Radiol.* 2020;93(1113):20190881. DOI: 10.1259/bjr.20190881.
73. Klein C., Nagel E., Gebker R., Kelle S., Schnackenburg B., Graf K. et al. Magnetic resonance adenosine perfusion imaging in patients after coronary artery bypass graft surgery. *JACC.* 2009;2(4):437–445. DOI: 10.1016/j.jcmg.2008.12.016.
74. Bernhardt P., Spiess J., Levenson B., Pilz G., Hofling B., Hombach V. et al. Combined assessment of myocardial perfusion and late gadolinium enhancement in patients after percutaneous coronary intervention or bypass grafts: a multicenter study of an integrated cardiovascular magnetic resonance protocol. *JACC.* 2009;2(11):1292–1300. DOI: 10.1016/j.jcmg.2009.05.011.
75. Bedaux W.L.F., Hofman M.B.M., Vyt S.L.A., Bronzwaer J.G.F., Visser C.A., van Rossum A.C. Assessment of coronary artery bypass graft disease using cardiovascular magnetic resonance determination of flow reserve. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002;40(10):1848–1855. DOI: 10.1016/s0735-1097(02)02491-9.
76. Salm L.P., Bax J.J., Vliegen H.W., Langerak S.E., Dibbets P., Jukema J.W. et al. Functional significance of stenoses in coronary artery bypass grafts. evaluation by single-photon emission computed tomography perfusion imaging, cardiovascular magnetic resonance, and angiography. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004;44(9):1877–1882. DOI: 10.1016/j.jacc.2004.07.048.
77. Hanet C., Schroeder E., Michel X., Cosyns J., Dion R., Verhelst R. et al. Flow-mediated vasomotor response to tachycardia of the human internal mammary artery and saphenous vein grafts late following bypass surgery. *Circulation.* 1991;84(5Suppl.):268–274.
78. Gurné O., Chenu P., Polidori C., Louagie Y., Buche M., Haxhe J.P. et al. Functional evaluation of internal mammary artery bypass grafts in the early and late postoperative period. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995;25(5):1120–1128. DOI: 10.1016/0735-1097(94)00538-2.
79. Gurné O., Chenu P., Buche M., Jamart J., Louagie Y., Eucher P. et al. Flow-mediated vasodilation during pacing of the free epigastric artery bypass graft early and late postoperatively. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996;27(2):415–420. DOI: 10.1016/0735-1097(95)00453-x.
80. Loop F.D., Thomas J.D. Hypoperfusion after arterial bypass grafting. *Ann. Thorac. Surg.* 1993;56(4):812–813. DOI: 10.1016/0003-4975(93)90337-h.
81. Fujiwara T., Kajiya F., Kanazawa S., Matsuoka S., Wada Y., Hiramatsu O. et al. Comparison of blood-flow velocity waveforms in different coronary artery bypass grafts: sequential saphenous vein grafts and internal mammary artery grafts. *Circulation.* 1988;78(5Pt1):1210–1217. DOI: 10.1161/01.cir.78.5.1210.
82. Fusejima K., Takahara Y., Sudo Y., Murayama H., Masuda Y., Inagaki Y. Comparison of coronary hemodynamics in patients with internal mammary artery and saphenous vein coronary artery bypass grafts: a noninvasive approach using combined two-dimensional and Doppler echocardiography. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1990;15(1):131–139. DOI: 10.1016/0735-1097(90)90188-u.
83. Doucette J.W., Corl D., Payne H., Flynn A.E., Goto M., Nassi M. et al. Validation of a Doppler guidewire for intravascular measurement of coronary artery flow velocity. *Circulation.* 1992;85(5):1899–1911. DOI: 10.1161/01.cir.85.5.1899.
84. De Bono D.P., Samani N.J., Spytl T.J., Hartshorne T., Thrush A.J., Evans D.H. Transcutaneous ultrasound measurement of blood-flow in internal mammary artery to coronary artery grafts. *Lancet.* 1992;339(8790):379–381. DOI: 10.1016/0140-6736(92)90076-f.
85. Takayama T., Suma H., Wanibuchi Y., Tohda E., Matsunaka T., Yamashita S. Physiological and pharmacological responses of arterial graft flow after coronary artery bypass grafting measured with an implantable ultrasonic Doppler miniprobe. *Circulation.* 1992;86(5Suppl.):217–223.
86. Ofili E., Kern M.J., Tatinei S., Deligonul U., Aguirre F., Serota H. et al. Detection of coronary collateral flow by a Doppler-tipped guide wire during coronary angioplasty. *Am. Heart J.* 1991;122(1Pt):221–225. DOI: 10.1016/0002-8703(91)90780-l.
87. Segal J., Kern M.J., Scott N.A., King S.B. 3rd, Doucette J.W., Heuser R.R. et al. Alterations of phasic coronary artery flow velocity in humans during percutaneous coronary angioplasty. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1992;20(2):276–286. DOI: 10.1016/0735-1097(92)90091-z.
88. Gurné O., Chenu P., Buche M., Louagie Y., Eucher P., Marchandise B. et al. Adaptive mechanisms of arterial and venous coronary bypass grafts to an increase in flow demand. *Heart.* 1999;82(3):336–342. DOI: 10.1136/hrt.82.3.336.

-
89. Akasaka T., Yoshikawa J., Yoshida K., Maeda K., Hozumi T., Nasu M. et al. Flow capacity of internal mammary artery grafts: early restriction and later improvement assessed by doppler guide wire. Comparison with saphenous vein grafts. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995;25(3):640–47. DOI: 10.1016/0735-1097(94)00448-Y.
-

Информация об авторах

Веснина Жанета Владимировна – д-р мед. наук, зав. лабораторией радионуклидных методов исследования, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, zhvesnina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9238-6814>

Гракова Елена Викторовна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, gev@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4019-3735>

(✉) **Веснина Жанета Владимировна**, zhvesnina@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2021;
одобрена после рецензирования 29.12.2021;
принята к публикации 20.01.2022

УДК 616-008.9-021.6-02:616.12/.13]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-154-165>

Современные стратегии таргетной терапии фиброза печени

Гарбузенко Д.В.

Южно-Уральский государственный медицинский университет (ЮУГМУ)
Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

РЕЗЮМЕ

Учитывая, что фиброз печени (ФП) является неблагоприятным событием естественного течения хронических заболеваний печени (ХЗП), скорейшее внедрение и широкое применение методов антифибротической терапии являются актуальной проблемой гепатологии. Цель обзора – описать современные подходы к таргетной терапии ФП.

Для поиска научных статей применялись база данных PubMed, поисковая система Google Scholar, Кокрановские систематические обзоры, научная электронная библиотека eLIBRARY.RU, а также пристатейные списки литературы. Соответствующие цели обзора публикации отбирались за период с 1998 по 2021 г. по терминам «фиброз печени», «патогенез», «лечение». Критерии включения ограничивались таргетной терапией ФП.

Несмотря на растущее число доказательств обратимости ФП, в настоящее время пока не существует каких-либо эффективных или одобренных для клинического применения схем его специфической терапии. Однако, принимая во внимание актуальность вопроса, научные поиски в этом направлении необходимы. Были изучены многочисленные лекарственные средства с хорошим профилем безопасности, которые хотя и предлагались для других целей, способны оказывать позитивное влияние на ФП. Кроме того, ряд отличных от фармакотерапии новаторских подходов вселяют оптимизм относительно успешности решения данной проблемы. Очевидно, что необходимы исследования, сосредоточенные на хорошо охарактеризованных группах пациентов с подтвержденными гистологическими, эластографическими, клиническими и радиологическими показателями. Это достаточно сложная задача, поскольку ключевым моментом будет стратификация риска на основе этнической принадлежности, этиологии и клинического статуса и для достоверной оценки потребуются очень большие размеры выборок. Тем не менее ее решение позволит повысить эффективность лечения пациентов с ХЗП, улучшит прогноз и качество их жизни, а также существенно уменьшит необходимость в трансплантации печени, потребность в которой во всем мире остается чрезвычайно высокой.

Ключевые слова: обзор, фиброз печени, патогенез, лечение

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Гарбузенко Д.В. Современные стратегии таргетной терапии фиброза печени. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):154–165. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-154-165>.

Current strategies for targeted therapy of liver fibrosis

Garbuzenko D.V.

South Ural State Medical University (SUSMU)
64, Vorovskogo Str., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation

ABSTRACT

Liver fibrosis (LF) is an unfavorable event in the natural course of chronic liver diseases (CLD), therefore, early implementation and widespread use of antifibrotic therapy methods is a pressing issue in hepatology. The aim of the review was to describe current approaches to targeted therapy of LF.

PubMed database, Google Scholar search engine, Cochrane Database of Systematic Reviews, eLIBRARY.RU scientific electronic library, as well as reference lists of articles were used to search for scientific articles. The publications that corresponded to the aim of the study were selected for the period from 1998 to 2021 by the terms “liver fibrosis”, “pathogenesis”, and “treatment”. Inclusion criteria were restricted to targeted therapy of LF.

Despite the growing evidence for reversibility of LF, there are currently no effective or clinically approved regimens for its specific therapy. However, taking into account the relevance of the issue, scientific research in this area is necessary. Multiple drugs with a good safety profile have been studied, which, though intended for other purposes, can have a positive effect on LF. In addition, a number of innovative approaches that differ from pharmacotherapy inspire optimism about finding a solution to this problem. It is obvious that studies focused on well-characterized groups of patients with confirmed histologic, elastography, clinical, and radiological parameters are required. This is a challenging task, since the key point will be stratification of risk based on ethnicity, etiology, and clinical status, and very large samples will be required for a reliable assessment. Nevertheless, the solution will increase efficiency of treatment for patients with CLD, improve their prognosis and quality of life, and significantly reduce the need for liver transplantation, a demand for which remains extremely high worldwide.

Keywords: overview, liver fibrosis, pathogenesis, treatment

Conflict of interest. The author declares the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The author states that he received no funding for the study.

For citation: Garbuzenko D.V. Current strategies for targeted therapy of liver fibrosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):154–165. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-154-165>.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно хронические заболевания печени (ХЗП) являются причиной более 2 млн смертей во всем мире, что вместе с тяжелым бременем инвалидности и обращаемости за медицинской помощью делает проблему чрезвычайно актуальной. Среди наиболее частых этиологических факторов выделяют HBV и HCV инфекцию, алкоголизм, метаболические нарушения. Ключевым этапом их естественного течения служит фиброз печени (ФП), который рассматривается как патологическая восстановительная реакция на хроническое повреждение. Диффузное избыточное отложение и аномальное распределение внеклеточного матрикса (ВКМ) в дальнейшем приводят к развитию цирроза печени (ЦП), тяжесть клинических проявлений которого связана, прежде всего, с печеночной недостаточностью и портальной гипертензией, а также возникновением характерных для

них осложнений, сопровождающихся высокой летальностью [1].

Растущее число доказательств обратимости ФП, идентификация основных источников и медиаторов его прогрессирования, а также достижения в неинвазивной оценке этого патологического процесса способствовали энтузиазму в разработке нацеленных на него методов лечения. Пока не существует какой-либо эффективной или одобренной для клинического применения специфической терапии ФП. Тем не менее, принимая во внимание актуальность вопроса, научные поиски в этом направлении необходимы. Безусловно, они должны следовать рекомендациям, принятym в 2014 г. при поддержке Американской ассоциации по изучению заболеваний печени (AASLD) на конференции по разработке клинических испытаний антрафибротической терапии ХЗП, суть которых сводится к идентификации связанных с ее проведением потенциальных непред-

сказуемых последствий и (или) неблагоприятных исходов [2].

С учетом этого были изучены многочисленные лекарственные средства с хорошим профилем безопасности, которые хотя и предлагались для других целей, оказывали позитивное влияние на ФП. Кроме того, ряд отличных от фармакотерапии новаторских подходов вселяют оптимизм относительно успешности решения данной проблемы.

В настоящее время установлено, что этиопатогенетическое лечение заболеваний, естественное течение которых сопровождается ФП, является единственным способом не только его профилактики, но и реверсии гистологических нарушений с восстановлением структуры и функции печени до нормального состояния [3]. Помимо этого, среди получивших развитие стратегий таргетной терапии ФП можно выделить следующие:

1) воздействие на фиброгенез печени и уменьшение синтеза ВКМ:

- редукция воспалительного и иммунного ответа;
- влияние на связывание лиганда с рецептором и внутриклеточную передачу сигналов;
- индукция апоптоза, дезактивация и иммунный клиренс активированных звездчатых клеток печени (ЗКП);
- прямое подавление синтеза коллагена;

2) стимуляция регенерации печени и инициирование регрессии ФП:

- активизация деградации ВКМ;
- трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [4].

ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ФИБРОГЕНЕЗ ПЕЧЕНИ И УМЕНЬШЕНИЕ СИНТЕЗА ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Редукция воспалительного и иммунного ответа

Воспалительный ответ способствует переходу ЗКП из статического в активированное и пролиферативное состояние, что вызывает отложение ВКМ и в то же время нарушает иммунную функцию печени, еще больше усугубляя повреждение гепатоцитов. Следовательно, подавление воспалительного и иммунного ответа является важным подходом в лечении ФП.

Поскольку трансформирующий фактор роста (TGF)- β является основным профиброгенным цитокином, при участии которого неподвижные ЗКП трансдифференцируются в принимающие непосредственное участие в образовании ВКМ миофибробласты, кажется очевидным, что подавление его сверхэкспрессии и активности может быть многообещающей целью антифибротической терапии [5].

Так, J. George и соавт. [6] сообщили, что антагонист рецептора TGF- β («растворимый рецептор»), который состоит из содержащего внеклеточную часть рецептора TGF- β II типа (T β RII) химерного IgG, является эффективным ингибитором экспериментального фиброгенеза печени у крыс.

Было показано, что ингибитор сериновой протеазы *камостат мезилат* подавлял продукцию TGF- β и блокировал активацию ЗКП *in vitro*, а в эксперименте на крысях заметно ослабляя повышение уровней TGF- β и плазмина в печени, активацию ЗКП и уменьшал выраженность ФП без явных системных или местных побочных эффектов [7].

Химиопрофилактический препарат против рака *олтипраз* в эксперименте на животных инактивировал ЗКП и подавлял экспрессию TGF- β 1 [8]. В двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании фазы 2 с участием 83 пациентов с ФП/ЦП у принимавших олтипраз в дозе 60 мг 2 раза/сут к 24-й нед наблюдалась тенденция к снижению площади депонирования коллагена в печени и сывороточных уровней TGF- β 1 [9].

Эффективность *тенофовира*, одного из основных препаратов для лечения декомпенсированного HBV-ассоциированного ЦП, связана с его способностью предотвращать прогрессирование и вызывать регрессию ФП за счет сборки TGF- β 1/SMAD3 и NF-kB/NLRP3 инфламмасомных сигнальных путей в результате усиления экспрессии NS5ATP9, а также с участием в дифференцировке, активации и пролиферации ЗКП [10].

Многочисленные исследования на животных показали, что активация тромбоцитов, являющихся источником профиброгенных цитокинов и факторов роста, таких как TGF- β 1, тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и эпидермальный фактор роста, способствует развитию и прогрессированию ФП [11]. В то же время *антитромбоцитарные агенты* демонстрируют противоположные эффекты, что было подтверждено в систематическом обзоре и метаанализе четырех исследований, включающем в общей сложности 3 141 пациента [12].

В-галактозидсвязывающий белок *галектин-3* обладает многочисленными аутокринными и паракринными свойствами. Он ответствен за активацию нейтрофилов, лаброцитов и Т-лимфоцитов, регуляцию клеточной адгезии, запуск апоптоза и ангиогенеза. В зависимости от типа клеток и баланса между экстрацеллюлярным и интрацеллюлярным содержанием, галектин-3 может как ингибировать, так и индуцировать рост и дифференциацию клеток. Играя важную роль в защите организма от патогенов, галектин-3 усиливает провоспалительные сигналы, его хемо-

таксические свойства по отношению к макрофагам и моноцитам способствуют адгезии нейтрофилов, высвобождению провоспалительных факторов, в частности лейкоцитов и лаброцитов, кроме того, он индуцирует фагоцитоз. В доклинических исследованиях на крысах отмечалось, что ингибитор галектина-3 GR-MD-02 уменьшает отложение коллагена и приводит к регрессии ФП и реверсии ЦП [13]. Первое рандомизированное клиническое испытание фазы 1, в котором участвовали пациенты с гистологически подтвержденным неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) и распространенным ФП, продемонстрировало его безопасность и хорошую переносимость [14].

Установлено, что пероральный ингибитор панкапаспазы эмриказан (IDN-6556) уменьшает апоптоз гепатоцитов, воспаление и ФП у животных с моделью ЦП, а также ослабляет чрезмерную активность каспазы и сывороточный уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ) у пациентов с хроническим гепатитом С и неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП). Его влияние на функцию печени было изучено в многоцентровом рандомизированном контролируемом исследовании (РКИ), включающем 86 больных ЦП (Child–Turcotte–Pugh (CTP) класса А и В, средний балл 6,9; MELD – 11–18 баллов (в среднем 12,8); 38% алкогольной этиологии, 29% HCV и 23% НАСГ).

Пациенты были случайным образом разделены на группы, получавшие плацебо ($n = 42$) или эмриказан (25 мг, $n = 44$) 2 раза/сут в течение 3 мес. Затем субъекты получали эмриказан (25 мг) в открытом режиме 2 раза/сут в течение 3 мес. Через 3 мес приема эмрикасана наблюдалось значительное снижение среднего балла шкал MELD ($p = 0,003$) и CTP ($p = 0,003$) у субъектов с изначально высокими баллами шкалы MELD (15 или более), повышенным уровнем международного нормализованного отношения (МНО) (95%-й доверительный интервал (95%-й ДИ): от -0,2882 до -0,0866) и общего билирубина (95%-й ДИ: от -1,5069 до -0,0823) по сравнению с плацебо. Не было существенных различий между группами, получавшими эмриказан и плацебо по среднему баллу MELD ($p = 0,466$) или по шкале CTP ($p = 0,124$) в целом. Сывороточные уровни полноразмерного цитокератина 18 ($p = 0,02$) и каспазы ($p < 0,001$), но не расщепленного цитокератина 18 ($p = 0,092$), значительно снизились через 3 мес в группе получавших эмриказан по сравнению с плацебо. Препарат хорошо переносился, а побочные эффекты были сбалансированы между группами [15].

Иные результаты были получены в двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании, в котором прием эмрикасана (5 мг/сут в среднем 43 нед или 25 мг/сут в среднем 42 нед) не

уменьшал количество случаев декомпенсации или не улучшал функцию печени у пациентов со связанным с НАСГ декомпенсированным ЦП ($n = 217$) [16].

На моделях *in vitro* и *in vivo* показано положительное влияние на функцию печени и ФП китайского лекарственного препарата на травах *Gan Shen Fu Fang* (GSFF), состоящего из сальвианоловой кислоты В и глициризината диаммония. У крыс с частичным лигированием желчных протоков GSFF после 3 нед лечения ослаблял инфильтрацию воспалительных клеток и снижал синтез провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли (TNF α) и интерлейкина (ИЛ)-1 β) и NF- κ B, а также фосфорилирование ERK. *In vitro* GSFF подавлял жизнеспособность клеток ЗКП-T6 и экспрессию α -гладкомышечного актина (α -SMA) в них. Кроме того, он уменьшал синтез коллагена I типа [17].

За счет ослабления эффектов реактивных форм кислорода (ROS) и предотвращения повреждения гепатоцитов антиоксиданты могут являться потенциальными антивибротическими средствами при условии их непосредственной доставки в патологический очаг [18].

В частности, *S*-аденозил-*L*-метионин показал способность уменьшать ROS и ингибировать активацию ЗКП как у крыс с моделью ФП [19], так и в клинических испытаниях. В долгосрочном рандомизированном плацебо-контролируемом двойном слепом многоцентровом клиническом исследовании у пациентов с алкогольным ЦП он улучшал выживаемость и отдалял необходимость трансплантации печени [20]. Подавление индуцируемых TGF- β 1 ROS и NADPH-оксидазы 4 является возможной терапевтической мишенью *полиен фосфатидилхолина* для ослабления активации ЗКП. Однако его эффективность у пациентов с алкогольной болезнью печени при приеме в течение двух лет была незначительной [21].

Хотя витамин Е является прототипом антиоксиданта и способен индуцировать сильное антистеатогепатитное действие, в выполненнном A.J. Sanyal и соавт. [22] большом РКИ положительного влияния на выраженную ФП он не оказывал. Флавоноид с антиоксидантными, антифиброгенными, противовоспалительными и противораковыми свойствами *нарингенин* может препятствовать вызванному различными агентами повреждению печени, что связано с подавлением окислительного стресса и сигнального пути TGF β , а также предотвращением трансдифференцировки ЗКП и снижением синтеза коллагена. Другие эффекты, включая ингибирование сигнальных путей МАРК, TLR и неканонических путей TGF β , дополнительно приводят к уменьшению синтеза и депонирования внеклеточного матрикса. Кроме того, нарингенин продемонстрировал благотворное влияние на

НАЖБП за счет регуляции липидного обмена, модуляции синтеза и окисления липидов и холестерина. Он безопасен, но обладает низкой биодоступностью и высоким кишечным метаболизмом [23].

Очевидное антифибротическое обоснование имеет применение противовоспалительных препаратов, в частности кортикостероидов [24]. Однако обусловленное ими подавление фиброгенеза бывает неполным, что не позволяет предотвратить развитие ФП [25]. Другой патогенетической стратегией является нейтрализация провоспалительных цитокинов, например TNF α , воздействием направленных против него соединений, таких как инфликсимаб, этанерцепт и пентоксифиллин [26].

Влияние на связывание лиганда с рецептором и внутриклеточную передачу сигналов

Идентификация экспрессируемых ЗКП мембранных и ядерных рецепторов выявила новые мишени для антифибротической терапии, которые включают ренин-ангиотензиновую систему, нейротрансмиттеры, эндотелин-1 и их рецепторы, рецепторные тирозинкиназы и другие рецепторы, а также внутриклеточную передачу сигналов с участием ядерных рецепторов семейств PPARs, FXR, PXR, LXR и др. [27].

Известно, что важным игроком при фиброгенезе печени является ангиотензин II, синтез которого ЗКП увеличивается в результате повышенной экспрессии ангиотензин-превращающего фермента [28]. Оральный прием ингибитора ангиотензина II лозартана (50 мг/сут) в течение 18 мес пациентами с хроническим гепатитом С снижал экспрессию NADPH-оксидазы и фиброгенных генов коллагена I типа, матриксной металлопротеиназы (ММП)-2 и урокиназы [29]. Положительное влияние блокады ангиотензина II на фиброгенез печени у пациентов с хроническим гепатитом С была также обнаружена в ретроспективном исследовании К.Е. Corey и соавт. [30].

Было описано разрешение НАСГ в результате блокады важных триггеров воспаления и ФП хемокиновых рецепторов CCR2/CCR5 их антагонистом ценик rivirokком [31].

В последние годы ряд многоцелевых ингибиторов aberrантной активности рецепторных и нерецепторных тирозинкиназ, включая сорафениб, эрлотиниб, иматиниб, сунитиниб, нилотиниб, бриваниб и ваталаниб, были исследованы в качестве потенциальных лекарственных средств для лечения ФП. Среди них наиболее изучен сорафениб – первый препарат системного действия, который продемонстрировал позитивное влияние на выживаемость при запущенной гепатоцеллюлярной карциноме [32]. У животных с различными моделями ЦП он также действовал на

некоторые патогенетические звенья фиброгенеза и ангиогенеза печени, блокируя расположенные на поверхности ЗКП рецепторы с тирозинкиназной активностью, экспрессия которых, особенно VEGFR и PDGFR, повышена. Как показали исследования, его положительные эффекты обусловлены:

- подавлением пролиферации и стимуляцией апоптоза активированных ЗКП;
- ингибированием циклин D1 и CDK-4 с одновременным повышением выраженности Fas, Fas-L, каспазы 3 и уменьшением соотношения Bcl-2 к Bax;
- увеличением отношения ММП к тканевым ингибиторам матриксных металлопротеиназ (ТИМП), а также снижением синтеза коллагена ЗКП;
- торможением фосфорилирования ERK, Akt и рибосомной протеинкиназы S6 с молекулярной массой 70 кДа (p70S6K);
- нарушением молекулярной триады: Круппель-подобный фактор 6 – ангиопоэтин первого типа – фибронектин [33].

Количество расположенных в ЗКП PPAR γ во время их активации и прогрессирования ФП уменьшается, тогда как стимуляция сверхэкспрессии PPAR γ приводит к снижению продукции коллагена и повышению металлопротеиназной активности ЗКП. Хорошо изученные у пациентов с НАСГ синтетические лиганды PPAR γ тиазолидиндоны, включая пиоглитазон и розиглитазон, показали позитивное влияние на стеатоз, некровоспаление, баллонную дистрофию гепатоцитов и ФП, хотя в долгосрочной перспективе это может нивелироваться побочными эффектами [34].

В экспериментах на животных показано, что транскреционная активность PPAR α в гепатоцитах при НАСГ предотвращает прогрессирование стеатоза и ФП за счет воздействия на связанные с метаболизмом липидов гены [35]. Тем не менее, хотя использование их агониста фенофибрата у пациентов с НАЖБП в дозе 200 мг/сут на протяжении 48 нед было безопасным, улучшало метаболический синдром, сывороточный уровень глюкозы и функциональные пробы печени, эффекта на гистологию печени практически не оказывало [36].

Предварительные данные об агонистах PPAR α/γ (глигазарах) выявили их положительное влияние на липидный профиль, артериальное давление, атеросклероз и воспаление. Сверхэкспрессия PPAR β/δ предотвращала ожирение и снижала запасы липидов в сердечных клетках, а стимуляция элафибронором PPAR α/δ вызывала разрешение НАСГ без ухудшения ФП [37]. Пан-агонист PPAR $\alpha/\gamma/\delta$ ланифибронор на доклинических моделях декомпенсированного ЦП способствовал уменьшению выраженности ФП и портальной гипертензии [38].

Промежуточный анализ исследования фазы 3 (REGENERATE) показал способность агониста ядерного рецептора FXR обетихолевой кислоты в результате ингибирования активации ЗКП статистически значимо улучшать гистологию печени у пациентов с НАСГ [39]. Другой агонист FXR *тропифексор* в эксперименте на мышах с способствовал регрессии сформировавшегося ФП, снижал показатели шкалы NAS (от англ. NAFLD fibrosis score), уровень триглицеридов в печени и экспрессию профилогенетических генов [40]. В настоящее время проводятся клинические испытания для оценки безопасности, переносимости и эффективности различных доз этого препарата у пациентов с НАСГ [41].

Мощный агонист FXR EDP-305 у мышей с моделью ФП значительно улучшал гистологические нарушения в печени, в частности, уменьшал отложение в ней коллагена [42]. У крыс с моделью НАСГ комбинированное применение агониста FXR 1INT747 и ингибитора ангиотензина II лозартана синергетически подавляло фиброгенез печени, обращая вспять дисфункцию кишечного барьера и ингибируя пролиферацию активированных ЗКП [43].

Роль ключевого регулятора липогенеза и модулятора иммунной системы ядерного рецептора LXR в фиброгенезе печени еще исследуется. S.W. Beaven и соавт. [44] в экспериментах *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали, что лиганды LXR подавляют активацию ЗКП и экспрессию фиброгенетических генов. Кроме того, *Lxra β* (-/-) мыши показали гиперсекрецию медиаторов воспаления и повышенную восприимчивость к ФП. Тем не менее на сегодняшний день целесообразность использования агонистов LXR в качестве потенциальных антифибротических агентов из-за гепатотоксичности и индукции липогенеза *de novo* остается под сомнением [45].

Индукция апоптоза, дезактивации и иммунного клиренса активированных звездчатых клеток печени

Апоптоз активированных ЗКП, их дезактивация или прямое уменьшение количества за счет иммунного клиренса в настоящее время рассматриваются в качестве важного подхода при лечении ФП. Установлено, что медикаментозный апоптоз активированных ЗКП может быть достигнут в результате ингибирования NF-кВ с помощью *фраксетина* (7,8-дигидрокси-6-метоксикумарина) [46] и 4-гидрокси-2(3Н)-бензоксазолона [47]; модуляции альтернативного сплайсинга *Bcl-x* антисмысловым олигонуклеотидом [48] и селективной STAT1-зависимой индукции синтетическим противовирусным препаратом *рилтивирином*, который также способен

вызвать STAT3- зависимую пролиферацию гепатоцитов и регенерацию печени [49].

На моделях *in vivo* и *in vitro* показано, что низкомолекулярный селективный ингибитор киназы ASK1 *селонсертиб* подавлял активацию ЗКП, уменьшал выработку коллагена, индукцию воспалительных цитокиновых путей и окислительный стресс [50]. Вместе с тем последующие клинические испытания фазы 2 и 3 не выявили убедительных данных относительно его положительного влияния на ФП у пациентов с НАСГ [51, 52].

Являясь важной частью врожденного иммунитета, инвариантные естественные Т-киллеры (iNKT) могут убивать активированные ЗКП. Однако попав в печень, они посредством экспрессии ИЛ-4 и ИЛ-13 также вызывают пролиферацию клеточной линии гепатоцитов МИНА и активацию клеток линии LX-2 ЗКП, способствуя прогрессированию ФП [53]. Таким образом, понимание баланса iNKT в регуляции ЗКП у пациентов с ХЗП может помочь в разработке новых антифибротических методов лечения.

Содержащийся в корне растения *Circuta longa* полифенол *куркумин* является хорошо известным гепатопротектором. В эксперименте на крысах он ослаблял CCL4-индуцированное повреждение печени, окислительный стресс и ФП; восстанавливал активность ММП-2 и ММП-9; возвращал к норме уровни белков NF-кВ, ИЛ-1, ИЛ-10, TGF β , фактора роста соединительной ткани (CTGF), Col-I, ММП-13 и SMAD7; снижал фосфорилирование JNK и SMAD3, а также уменьшал уровни белка и мРНК α -SMA и SMAD3. Кроме того, куркумин нормализовал пути GSH и NF-кВ, JNK-SMAD3 и TGF- β -SMAD3, что приводило к редукции количества активированных ЗКП и способствовало антифибротическому эффекту [54].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании 70 страдающих ЦП пациентов были разделены на две группы: получавших в течение 3 мес куркумин в дозе 1 000 мг/сут ($n = 35$) и плацебо ($n = 35$). На завершающем этапе принимающие куркумин ($n = 29$) имели снижение показателей шкал MELD (i) (от $15,55 \pm 3,78$ до $12,41 \pm 3,07$; $p < 0,001$), MELD (от $15,31 \pm 3,07$ до $12,03 \pm 2,79$; $p < 0,001$), MELD-Na (от $15,97 \pm 4,02$ до $13,55 \pm 3,51$; $p = 0,001$) и СТР (от $7,17 \pm 1,54$ до $6,72 \pm 1,31$; $p = 0,051$). В то же время в группе плацебо ($n = 31$) они значительно увеличились (во всех случаях $p < 0,001$) [55].

Прямое подавление синтеза коллагена

Еще одной заманчивой стратегией лечения ФП является прямое воздействие на синтез коллагена. Так, в многоцентровом открытом исследовании, включа-

ющем 281 пациента с ХЗП различной этиологии и прогрессирующим ФП, была изучена безопасность и эффективность 12-месячного применения иммuno-супрессора *пирфенидона* (600 мг 2 раза/сут) в сочетании со стандартным лечением. Результаты показали, что у 35% получавших его пациентов наблюдалось значительное уменьшение выраженности ФП и у 29,7% – улучшение показателей шкалы СТР. Их сывороточные уровни АЛТ и аспартатаминотрансферазы (АСТ) снизились на 40,6 и 43,3% соответственно. Кроме того, они имели более низкие сывороточные уровни TGF- β 1 по сравнению с лечившимися только по стандартной схеме [56].

Растительный алкалоид *колхицин* ингибирует полимеризацию микротрубочек и, тем самым, препятствует секреции коллагена. В РКИ с участием 38 больных было изучено влияние колхицина на ФП различной этиологии. Пациентам, включенным в группу А ($n = 21$), препарат назначался в дозе 1 мг/сут. Не получавшие его составили группу Б ($n = 17$). Спустя 12 мес средние сывороточные уровни альбумина увеличились только в группе А ($p < 0,05$). После 12 мес лечения в группе А средние показатели сывороточного биомаркера ФП РШПНР существенно не изменились, а спустя 24 мес снизились у семи пациентов ($p < 0,05$). Значимых гистологических изменений по шкале Knodell в обеих группах через 12 мес наблюдения обнаружено не было [57].

Эффективность и безопасность колхицина были оценены в Кокрановском метаанализе, объединяющем результаты 14 РКИ и включающем в общей сложности 1 150 пациентов с ФП алкогольной, вирусной, а также неустановленной этиологии. Не было выявлено существенного влияния колхицина на общую летальность (отношение шансов (OR) 0,90; 95%-й ДИ 0,63–1,29), связанную с печенью смертность (OR 1,05; 95%-й ДИ 0,61–1,80), осложнения (OR 1,01; 95%-й ДИ 0,63–1,62), печеночные биохимические и гистологические показатели (OR 1,02; 95%-й ДИ 0,58–1,79). Кроме того, его назначение сопровождалось повышенным риском нежелательных явлений (OR 4,92; 95%-й ДИ 2,66–9,10; $p < 0,001$) [58].

СТИМУЛЯЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ И ИНИЦИРОВАНИЕ РЕГРЕССИИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

Активизация деградации внеклеточного матрикса

Учитывая, что ММП и ТИМП играют центральную роль в развитии ФП, а баланс между ними важен для гомеостаза компонентов ВКМ, ожидается, что они станут новыми терапевтическими мише-

нями при лечении ХЗП [59]. Усилить деградацию ВКМ может повышение активности разрушающих его ферментов, а также введение их с помощью генной терапии. Например, в экспериментах на крысах с различными моделями ЦП ослабление ФП было связано с повышенной регуляцией ММП-1, ММП-8, вызванной трансфекцией их генов [60].

В экспериментальном исследовании О. Ohayon и соавт. [61] обработка цирротически измененной печени крыс мультипотентным антифиброгенным препаратом *галофугиноном* и последующая гидродинамическая трансфекция человеческого VEGF-165 приводили к повышенной экспрессии мРНК разлагающего гепарансульфат фермента гепараназы. Печень этих крыс обладала улучшенной способностью к регенерации после 70%-й частичной гепатэктомии. Кроме того, *in vitro* галофугинон стимулировал экспрессию мРНК гепараназы и фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) в ЗКП.

В эксперименте на мышах была показана способность *полапрецинка* за счет ингибирования экспрессии ТИМП ослаблять ФП на поздних стадиях НАСГ [62]. Во время фиброгенеза печени лизилоксидазо-подобный белок 2 (LOXL2) опосредует сшивание коллагена I типа и стабилизацию ВКМ, а также независимо способствует дифференцировке печеночных фиброгенных клеток-предшественников. На моделях *in vitro* и *in vivo* было установлено, что блокада этих двух конвергентных профиброзных путей посредством терапевтического ингибирования LOXL2 моноклональным антителом AB0023 ослабляет ФП и приводит к его регрессии [63].

В открытом пилотном клиническом исследовании фазы 2а была изучена безопасность и эффективность моноклонального антитела против LOXL2 *симтузумаба* у пациентов с прогрессирующими ХЗП, вызванными HCV, HIV инфекциями и HCV/HIV коинфекцией. Препарат назначался в дозе 700 мг внутривенно каждые 2 нед в течение 22 нед. Лечение переносилось хорошо, но существенных изменений в выраженности морфологических признаков ФП, а также значений градиента печеночного венозного давления выявлено не было [64].

Установлено, что иммunoсупрессор *пирфенидон* может достаточно хорошо снижать экспрессию белка HSP47 и посредством регуляции активности сигнального пути TGF β , ингибировать пролиферацию ЗКП, уменьшать аномальное накопление коллагена I и III типов, а также подавлять экспрессию коллагена II типа, ТИМП-1 и ММП-2. Его эффективность была изучена у 28 пациентов с хронической HCV-инфекцией, которые получали препарат в дозе 1 200 мг/сут в течение 24 мес. Шестеро больных выбыли после

12 мес терапии. В конце лечения степень некровоспаления снизилась в среднем на 3,2 балла у 82% пациентов ($p < 0,05$), а стадия ФП по шкале Ishak – в среднем на 2 балла у 67% пациентов ($p < 0,05$). Статоз печени уменьшился у 61% пациентов. Редукция сывороточных уровней ИЛ-6 и TGF- β 1 наблюдалась у 93 и 67% пациентов соответственно ($p < 0,05$), в то время как TNF α – у 47% пациентов. Сывороточные уровни АЛТ и АСТ имели тенденцию к нормализации у 81% пациентов. Уровни мРНК антифиброгенных каннабиноидных рецепторов 2-го типа в печени увеличились у 86%, а экспрессия каннабиноидных рецепторов 1-го типа снизилась у 29% пациентов. У всех больных отмечалось как повышение качества жизни, так и улучшение показателей функции печени по шкале CTP [65]. Несмотря на обнадеживающие результаты, все еще существуют опасения по поводу связанных с пирфенидоном потенциальных побочных эффектов и нежелательных последствий [66].

Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток

Важным и многообещающим подходом в лечении ФП является трансплантация МСК. Эти мультипотентные фибробластоподобные клетки характеризуются экспрессией поверхностных антигенов CD73, CD90 и CD105, отсутствием экспрессии CD45, CD34, CD14, Cd11b, CD19, CD79a и HLA-DR, адгезией к пластику и способностью дифференцироваться в остеокласты, хондроциты, адипоциты, а также гепатоциты. Крупнейшим источником МСК служит костный мозг. Кроме того, они могут быть получены из жировой ткани, ткани пуповины, амниотической жидкости, грудного молока, синовиальной оболочки, плацентарных клеток, пульпы зуба, легких и печени (как у взрослых, так и у плода).

Помимо иммуномодулирующего действия на Т-клетки, В-клетки и макрофаги, МСК оказывают антифибротические эффекты как посредством иммуномодуляции, так и путем прямого ингибирования пролиферации активированных ЗКП, повышения активности ММП и подавления синтеза ВКМ [67]. Они также способствуют увеличению пролиферации и редукции апоптоза гепатоцитов, росту экспрессии некоторых противовоспалительных и антифиброзных цитокинов с потенциальными гепатотропными свойствами, включая гепатоцитарный фактор роста (HGF), VEGF, основной фактор роста фибробластов (bFGF), плацентарный фактор роста (PIGF), моноцитарный хемоатрактантный протеин-1, фактор стволовых клеток (SCF)-1, хемокин SDF-1, CD135 или fms-подобную тирозинкиназу 3 (Flt-3), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий

фактор (GM-CSF) и многочисленные ИЛ [68]. В добавок стимулированная МСК экспансия гепатоцитов из увеличенной популяции печеночных клеток-предшественников приводит не только к уменьшению выраженности ФП, но и регенерации печени [69].

Выбор для трансплантации МСК объясняется их доступностью и низкой иммуногенностью. Кроме того, из-за несоматического происхождения с ними меньше этических проблем, а сама процедура считается безопасной и широко оценена в клинических условиях при различных заболеваниях, показав многообещающие результаты [70]. На терапевтическую эффективность МСК влияют многие факторы, в частности метод культивирования, стратегия и пути доставки. 3D-культура считается наиболее подходящим и близким физиологическим микроокружением для роста клеток. Существует множество способов трехмерного культивирования для формирования сфероидов МСК, такие как висячая капля, магнитная левитация, культура хитозановых мембран, микрогравитационный биореактор и врачающаяся культура [71].

При ХЗП можно использовать как прямые (воротная вена, печеночная артерия), так и опосредованные пути доставки МСК, например внутриселезеночный, внутрибрюшинный, через периферические вены, а также посредством экстракорпоральной системы поддержки печени. Очевидно, что прямая доставка обеспечивает более высокое их удержание [72]. Однако у больных с декомпенсированным ЦП она может быть связана с повышенным риском ассоциированных с портальной гипертензией кровотечений [73].

Предварительные экспериментальные данные вселяют оптимизм относительно перспектив этого метода при лечении ФП, тогда как результаты клинических испытаний пока еще неоднозначны и требуют дальнейшей оценки [67]. Например, в проспективном исследовании, включающем 90 пациентов с декомпенсированным ЦП, трансплантация МСК костного мозга одновременно в воротную и периферическую вену (соотношение 1 : 1) спустя 2 нед приводила к статистически значимому улучшению сывороточных уровней альбумина, билирубина и МНО. Этот эффект продолжался у перенесших одну процедуру в течение 6 мес, а при повторном сеансе через 4 мес после первого – на протяжении 12 мес. К концу исследования 36,7 и 66,7% пациентов соответственно имели уменьшение асцита, кроме того, отмечалось улучшение функционального резерва печени по шкалам CTP и MELD. О безопасности процедуры свидетельствовала низкая частота осложнений [74].

В многоцентровом рандомизированном открытом исследовании фазы 2, включающем 72 пациен-

та с подтвержденным биопсией алкогольным ЦП, одноразовые или двукратные инъекции в печеночную артерию 5×10^7 МСК костного мозга через 6 мес приводили, соответственно, к 25%-му и 37%-му уменьшению доли коллагена ($p < 0,001$) и улучшению показателей функции печени по шкале СТР ($p < 0,05$) [75].

В РКИ, включающем 40 пациентов с HCV-индуцированным декомпенсированным ЦП, после инфузии МСК костного мозга через периферические вены в 54% случаев наблюдалась нормализация сывороточных ферментов и улучшение белково-синтетической функции печени. Спустя 3 мес после трансплантации значения сывороточных биомаркеров ФП РИПСР и РИПНР снизились с $9,4 \pm 4,2$ до $8,1 \pm 2,6$ и с 440 ± 189 до 388 ± 102 соответственно ($p = 0,7$) [76].

Напротив, в РКИ с участием 27 пациентов с декомпенсированным ЦП, абсолютные изменения показателей шкал СТР и MELD, сывороточных уровней альбумина, аминотрансфераз и МНО у перенесших инфузию МСК костного мозга через периферические вены и получавших плацебо через 12 мес наблюдения существенно не различались [77].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на актуальность проблемы, следует отметить, что прежде чем антифибротическая терапия будет являться стандартом лечения заболеваний, естественное течение которых сопровождается ФП, необходимы исследования, сосредоточенные на хорошо охарактеризованных группах пациентов с подтвержденными гистологическими, эластографическими, клиническими и радиологическими данными. Это достаточно сложная задача, поскольку ключевым моментом будет стратификация риска на основе этнической принадлежности, этиологии и клинического статуса и для достоверной оценки потребуются очень большие размеры выборок. Тем не менее ее решение позволит повысить эффективность лечения пациентов с ХЭП, улучшит прогноз и качество их жизни, а также существенно уменьшит необходимость в трансплантации печени, потребность в которой во всем мире остается чрезвычайно высокой.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Moon A.M., Singal A.G., Tapper E.B. Contemporary epidemiology of chronic liver disease and cirrhosis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2020;18(12):2650–2666. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.060.
- Torok N.J., Dranoff J.A., Schuppan D., Friedman S.L. Strategies and endpoints of antifibrotic drug trials: Summary and recommendations from the AASLD Emerging Trends Conference, Chicago, June 2014. *Hepatology*. 2015;62(2):627–634. DOI: 10.1002/hep.27720.
- Jung Y.K., Yim H.J. Reversal of liver cirrhosis: current evidence and expectations. *Korean J. Intern. Med.* 2017;32(2):213–218. DOI: 10.3904/kjim.2016.268.
- Chang Y., Li H. Hepatic antifibrotic pharmacotherapy: Are we approaching success? *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2020;8(2):222–229. DOI: 10.14218/JCTH.2020.00026.
- Dewidar B., Meyer C., Dooley S., Meindl-Beinker A.N. TGF-β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis-updated 2019. *Cells*. 2019;8(11):1419. DOI: 10.3390/cells8111419.
- George J., Roulot D., Koteliansky V.E., Bissell D.M. In vivo inhibition of rat stellate cell activation by soluble transforming growth factor beta type II receptor: a potential new therapy for hepatic fibrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999;96(22):12719–12724. DOI: 10.1073/pnas.96.22.12719.
- Okuno M., Akita K., Moriwaki H., Kawada N., Ikeda K., Kaneda K. et al. Prevention of rat hepatic fibrosis by the protease inhibitor, camostat mesilate, via reduced generation of active TGF-beta. *Gastroenterology*. 2001;120(7):1784–1800. DOI: 10.1053/gast.2001.24832.
- Kang K.W., Kim Y.G., Cho M.K., Bae S.K., Kim C.W., Lee M.G. et al. Oltipraz regenerates cirrhotic liver through CCAAT/enhancer binding protein-mediated stellate cell inactivation. *FASEB J.* 2002;16(14):1988–1990. DOI: 10.1096/fj.02-0406fje.
- Kim S.G., Kim Y.M., Choi J.Y., Han J.Y., Jang J.W. et al. Oltipraz therapy in patients with liver fibrosis or cirrhosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial. *J. Pharm. Pharmacol.* 2011;63(5):627–635. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2011.01259.x.
- Zhao J., Han M., Zhou L., Liang P., Wang Y., Feng S. et al. TAF and TDF attenuate liver fibrosis through NS5ATP9, TGFβ1/Smad3, and NF-κB/NLRP3 inflammasome signaling pathways. *Hepatol. Int.* 2020;14(1):145–160. DOI: 10.1007/s12072-019-09997-6.
- Friedman S.L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol. Rev.* 2008;88(1):125–172. DOI: 10.1152/physrev.00013.2007.
- Iqbal U., Dennis B.B., Li A.A., Cholankeril G., Kim D., Khan M.A. et al. Use of anti-platelet agents in the prevention of hepatic fibrosis in patients at risk for chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Hepatol. Int.* 2019;13(1):84–90. DOI: 10.1007/s12072-018-9918-2.
- Traber P.G., Chou H., Zomer E., Hong F., Klyosov A., Fiel M.I. et al. Regression of fibrosis and reversal of cirrhosis in rats by galectin inhibitors in thioacetamide-induced liver disease. *PLoS One*. 2013;8(10):e75361. DOI: 10.1371/journal.pone.0075361.
- Harrison S.A., Marri S.R., Chalasani N., Kohli R., Aronstein W., Thompson G.A. et al. Randomised clinical study: GR-MD-02, a galectin-3 inhibitor, vs. placebo in patients having non-alcoholic steatohepatitis with advanced fibrosis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2016;44(11-12):1183–1198. DOI: 10.1111/apt.13816.
- Frenette C.T., Morelli G., Schiffman M.L., Frederick R.T., Rubin R.A., Fallon M.B. et al. Emricasan improves liver function in patients with cirrhosis and high model for end-stage liver disease scores compared with placebo. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2019;17(4):774–783. DOI: 10.1016/j.cgh.2018.06.012.

16. Frenette C., Kayali Z., Mena E., Mantry P.S., Lucas K.J., Neff G. et al. IDN-6556-17 Study Investigators. Emricasan to prevent new decompensation in patients with NASH-related decompensated cirrhosis. *J. Hepatol.* 2021;74(2):274–282. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.09.029.
17. Du Q.H., Zhang C.J., Li W.H., Mu Y., Xu Y., Lowe S. et al. Gan Shen Fu Fang ameliorates liver fibrosis *in vitro* and *in vivo* by inhibiting the inflammatory response and extracellular signal-regulated kinase phosphorylation. *World J. Gastroenterol.* 2020;26(21):2810–2820. DOI: 10.3748/wjg.v26.i21.2810.
18. Kawada N., Seki S., Inoue M., Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology*. 1998;27(5):1265–1274. DOI: 10.1002/hep.510270512.
19. Karra A., Thompson K.J., McKillop I.H., Clemens M.G., Schrum L.W. S-adenosyl-L-methionine attenuates oxidative stress and hepatic stellate cell activation in an ethanol-LPS-induced fibrotic rat model. *Shock*. 2008;30(2):197–205. DOI: 10.1097/shk.0b013e318160f417.
20. Martínez-Chantar M.L., García-Trevijano E.R., Latasa M.U., Pérez-Mato I., Sánchez del Pino M.M., Corrales F.J. et al. Importance of a deficiency in S-adenosyl-L-methionine synthesis in the pathogenesis of liver injury. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002;76(5):1177S–1182S. DOI: 10.1093/ajcn/76/5.1177S.
21. Lieber C.S., Weiss D.G., Groszmann R., Paronetto F., Schenker S. Veterans Affairs Cooperative Study 391 Group. II. Veterans Affairs Cooperative Study of polyenylphosphatidylcholine in alcoholic liver disease. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2003;27(11):1765–1772. DOI: 10.1097/01.ALC.0000093743.03049.80.
22. Sanyal A.J., Chalasani N., Kowdley K.V., McCullough A., Diehl A.M., Bass N.M. et al. NASH CRN. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N. Engl. J. Med.* 2010;362(18):1675–1685. DOI: 10.1056/NEJMoa0907929.
23. Hernández-Aquino E., Muriel P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms. *World J. Gastroenterol.* 2018;24(16):1679–1707. DOI: 10.3748/wjg.v24.i16.1679.
24. Mack C.L., Adams D., Assis D.N., Kerkar N., Manns M.P., Mayo M.J. et al. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis in Adults and Children: 2019 Practice Guidance and Guidelines From the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2020;72(2):671–722. DOI: 10.1002/hep.31065.
25. Albanis E., Friedman S.L. Hepatic fibrosis. Pathogenesis and principles of therapy. *Clin. Liver Dis.* 2001;5(2):315–334. DOI: 10.1016/s1089-3261(05)70168-9.
26. Lebrec D., Thabut D., Oberti F., Perarnau J.M., Condat B., Barraud H. et al. Pentoxifylline does not decrease short-term mortality but does reduce complications in patients with advanced cirrhosis. *Gastroenterology*. 2010;138(5):1755–1762. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.040.
27. Cohen-Naftaly M., Friedman S.L. Current status of novel antifibrotic therapies in patients with chronic liver disease. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2011;4(6):391–417. DOI: 10.1177/1756283X11413002.
28. Lugo-Baruqui A., Muñoz-Valle J.F., Arévalo-Gallegos S., Armendáriz-Borunda J. Role of angiotensin II in liver fibrosis-induced portal hypertension and therapeutic implications. *Hepatol. Res.* 2010;40(1):95–104. DOI: 10.1111/j.1872-034X.2009.00581.x.
29. Colmenero J., Bataller R., Sancho-Bru P., Domínguez M., Moreno M., Forns X. et al. Effects of losartan on hepatic expression of nonphagocytic NADPH oxidase and fibrogenic genes in patients with chronic hepatitis C. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2009;297(4):G726–734. DOI: 10.1152/ajpgi.00162.2009.
30. Corey K.E., Shah N., Misraji J., Abu Dayyeh B.K., Zheng H., Bhan A.K. et al. The effect of angiotensin-blocking agents on liver fibrosis in patients with hepatitis C. *Liver Int.* 2009;29(5):748–753. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.01973.x.
31. Krenkel O., Puengel T., Govaere O., Abdallah A.T., Mossanen J.C., Kohlhepp M., Liepelt A. et al. Therapeutic inhibition of inflammatory monocyte recruitment reduces steatohepatitis and liver fibrosis. *Hepatology*. 2018;67(4):1270–1283. DOI: 10.1002/hep.29544.
32. Raoul J.L., Kudo M., Finn R.S., Edeline J., Reig M., Galle P.R. Systemic therapy for intermediate and advanced hepatocellular carcinoma: Sorafenib and beyond. *Cancer Treat. Rev.* 2018;68:16–24. DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.05.006.
33. Garbuzenko D.V., Arefyev N.O., Kazachkov E.L. Antiangiogenic therapy for portal hypertension in liver cirrhosis: Current progress and perspectives. *World J. Gastroenterol.* 2018;24(33):3738–3748. DOI: 10.3748/wjg.v24.i33.3738.
34. Santoro R., Mangia A. Progress in promising anti-fibrotic therapies. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2019;13(12):1145–1152. DOI: 10.1080/17474124.2019.1688659.
35. Pawlak M., Baugé E., Bourguet W., De Bosscher K., Laloyer F., Tailleux A. et al. The transpressive activity of peroxisome proliferator-activated receptor alpha is necessary and sufficient to prevent liver fibrosis in mice. *Hepatology*. 2014;60(5):1593–1606. DOI: 10.1002/hep.27297.
36. Fernández-Miranda C., Pérez-Carreras M., Colina F., López-Alonso G., Vargas C., Solís-Herruzo J.A. A pilot trial of fenofibrate for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig. Liver Dis.* 2008;40(3):200–205. DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.002.
37. Derosa G., Sahebkar A., Maffioli P. The role of various peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands in clinical practice. *J. Cell Physiol.* 2018;233(1):153–161. DOI: 10.1002/jcp.25804.
38. Boyer-Díaz Z., Aristu-Zabalza P., Andrés-Rozas M., Robert C., Ortega-Ribera M., Fernández-Iglesias A. et al. Pan-PPAR agonist lanifibrat improves portal hypertension and hepatic fibrosis in experimental advanced chronic liver disease. *J. Hepatol.* 2021;74(5):1188–1199. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.11.045.
39. Younossi Z.M., Ratziu V., Loomba R., Rinella M., Anstee Q.M., Goodman Z. et al. REGENERATE Study Investigators. Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2019;394(10215):2184–2196. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)33041-7.
40. Hernandez E.D., Zheng L., Kim Y., Fang B., Liu B., Valdez R.A. et al. Tropifexor-mediated abrogation of steatohepatitis and

- fibrosis is associated with the antioxidative gene expression profile in rodents. *Hepatol. Commun.* 2019;3(8):1085–1097. DOI: 10.1002/hep4.1368.
41. Pedrosa M., Seyedkazemi S., Francque S., Sanyal A., Rinella M., Charlton M. et al. A randomized, double blind, multicenter, phase 2b study to evaluate the safety and efficacy of a combination of tropifexor and cenicriviroc in patients with nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis: Study design of the TANDEM trial. *Contemp. Clin. Trials.* 2020;88:105889. DOI: 10.1016/j.cct.2019.105889.
 42. An P., Wei G., Huang P., Li W., Qi X., Lin Y. et al. A novel non-bile acid FXR agonist EDP-305 potently suppresses liver injury and fibrosis without worsening of ductular reaction. *Liver Int.* 2020;40(7):1655–1669. DOI: 10.1111/liv.14490.
 43. Namisaki T., Moriya K., Kitade M., Takeda K., Kaji K., Okura Y. et al. Effect of combined farnesoid X receptor agonist and angiotensin II type 1 receptor blocker on hepatic fibrosis. *Hepatol. Commun.* 2017;1(9):928–945. DOI: 10.1002/hep4.1104.
 44. Beaven S.W., Wroblewski K., Wang J., Hong C., Bensinger S., Tsukamoto H. et al. Liver X receptor signaling is a determinant of stellate cell activation and susceptibility to fibrotic liver disease. *Gastroenterology.* 2011;140(3):1052–1062. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.053.
 45. Schultz J.R., Tu H., Luk A., Repa J.J., Medina J.C., Li L. et al. Role of LXR_Rs in control of lipogenesis. *Genes. Dev.* 2000;14(22):2831–2838. DOI: 10.1101/gad.850400.
 46. Wu B., Wang R., Li S., Wang Y., Song F., Gu Y. et al. Antifibrotic effects of Fraxetin on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by targeting NF-κB/IκBα, MAPKs and Bcl-2/Bax pathways. *Pharmacol. Rep.* 2019;71(3):409–416. DOI: 10.1016/j.pharep.2019.01.008.
 47. Sun X., Huang X., Zhu X., Liu L., Mo S., Wang H. et al. HBOA ameliorates CCl₄-induced liver fibrosis through inhibiting TGF-β1/Smads, NF-κB and ERK signaling pathways. *Biomed. Pharmacother.* 2019;115:108901. DOI: 10.1016/j.bioph.2019.108901.
 48. Wu L., Mao C., Ming X. Modulation of Bcl-x alternative splicing induces apoptosis of human hepatic stellate cells. *Biomed. Res. Int.* 2016;2016:7478650. DOI: 10.1155/2016/7478650.
 49. Martí-Rodrigo A., Alegre F., Moragrega Á.B., García-García F., Martí-Rodrigo P., Fernández-Iglesias A. et al. Rilpivirine attenuates liver fibrosis through selective STAT1-mediated apoptosis in hepatic stellate cells. *Gut.* 2020;69(5):920–932. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-318372.
 50. Xiang M., Wang P.X., Wang A.B., Zhang X.J., Zhang Y., Zhang P. et al. Targeting hepatic TRAF1-ASK1 signaling to improve inflammation, insulin resistance, and hepatic steatosis. *J. Hepatol.* 2016;64(6):1365–1377. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.02.002.
 51. Loomba R., Lawitz E., Mantry P.S., Jayakumar S., Caldwell S.H., Arnold H. et al. GS-US-384-1497 Investigators. The ASK1 inhibitor selonsertib in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a randomized, phase 2 trial. *Hepatology.* 2018;67(2):549–559. DOI: 10.1002/hep.29514.
 52. Harrison S.A., Wong V.W., Okanoue T., Bzowej N., Vuppalanchi R., Younes Z. et al. STELLAR-3 and STELLAR-4 Investigators. Selonsertib for patients with bridging fibrosis or compensated cirrhosis due to NASH: Results from randomized phase III STELLAR trials. *J. Hepatol.* 2020;73(1):26–39. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.02.027.
 53. Wei X., Qian J., Yao W., Chen L., Guan H., Chen Y. et al. Hyperactivated peripheral invariant natural killer T cells correlate with the progression of HBV-relative liver cirrhosis. *Scand. J. Immunol.* 2019;90(2):e12775. DOI: 10.1111/sji.12775.
 54. Hernández-Aquino E., Quezada-Ramírez M.A., Silva-Olivares A., Ramos-Tovar E., Flores-Beltrán R.E., Segovia J. et al. Curcumin downregulates Smad pathways and reduces hepatic stellate cells activation in experimental fibrosis. *Ann. Hepatol.* 2020;19(5):497–506. DOI: 10.1016/j.aohep.2020.05.006.
 55. Nouri-Vaskeh M., Malek Mahdavi A., Afshan H., Alizadeh L., Zarei M. Effect of curcumin supplementation on disease severity in patients with liver cirrhosis: A randomized controlled trial. *Phytother. Res.* 2020;34(6):1446–1454. DOI: 10.1002/ptr.6620.
 56. Poo J.L., Torre A., Aguilar-Ramírez J.R., Cruz M., Mejía-Cuán L., Cerdá E. et al. Benefits of prolonged-release pirfenidone plus standard of care treatment in patients with advanced liver fibrosis: PROMETEO study. *Hepatol. Int.* 2020;14(5):817–827. DOI: 10.1007/s12072-020-10069-3.
 57. Nikolaidis N., Kountouras J., Giouleme O., Tzarou V., Chatzizisi O., Patsiaoura K. et al. Colchicine treatment of liver fibrosis. *Hepatogastroenterology.* 2006;53(68):281–285.
 58. Rambaldi A., Gluud C. Colchicine for alcoholic and non-alcoholic liver fibrosis and cirrhosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2001;(3):CD002148. DOI: 10.1002/14651858.CD002148.
 59. Chang Y., Li H. Hepatic antifibrotic pharmacotherapy: Are we approaching success? *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2020;8(2):222–229. DOI: 10.14218/JCTH.2020.00026.
 60. Siller-López F., Sandoval A., Salgado S., Salazar A., Bueno M., García J. et al. Treatment with human metalloproteinase-8 gene delivery ameliorates experimental rat liver cirrhosis. *Gastroenterology.* 2004;126(4):1122–1133. DOI: 10.1053/j.gastro.2003.12.045.
 61. Ohayon O., Mawasi N., Pevzner A., Tryvitz A., Gildor T., Pines M. et al. Halofuginone upregulates the expression of heparanase in thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Lab. Invest.* 2008;88(6):627–633. DOI: 10.1038/labinvest.2008.30.
 62. Sugino H., Kumagai N., Watanabe S., Toda K., Takeuchi O., Tsunematsu S. et al. Polaprezinc attenuates liver fibrosis in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008;23(12):1909–1916. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05393.x.
 63. Ikenaga N., Peng Z.W., Vaid K.A., Liu S.B., Yoshida S., Sverdlov D.Y. et al. Selective targeting of lysyl oxidase-like 2 (LOXL2) suppresses hepatic fibrosis progression and accelerates its reversal. *Gut.* 2017;66(9):1697–1708. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312473.
 64. Meissner E.G., McLaughlin M., Matthews L., Gharib A.M., Wood B.J., Levy E. et al. Simtuzumab treatment of advanced liver fibrosis in HIV and HCV-infected adults: results of a 6-month open-label safety trial. *Liver Int.* 2016;36(12):1783–1792. DOI: 10.1111/liv.13177.
 65. Flores-Contreras L., Sandoval-Rodríguez A.S., Mená-Enriquez M.G., Lucano-Landeros S., Arellano-Olivera I., Alvarez-Álvarez A. et al. Treatment with pirfenidone for two

- years decreases fibrosis, cytokine levels and enhances CB2 gene expression in patients with chronic hepatitis C. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:131. DOI: 10.1186/1471-230X-14-131.
66. Verma N., Kumar P., Mitra S., Taneja S., Dhooria S., Das A. et al. Drug idiosyncrasy due to pirfenidone presenting as acute liver failure: Case report and mini-review of the literature. *Hepatol. Commun.* 2017;2(2):142–147. DOI: 10.1002/hep4.1133.
67. Al-Dhamin Z., Liu L.D., Li D.D., Zhang S.Y., Dong S.M., Nan Y.M. Therapeutic efficiency of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for liver fibrosis: a systematic review of *in vivo* studies. *World J. Gastroenterol.* 2020;26(47):7444–7469. DOI: 10.3748/wjg.v26.i47.7444.
68. Vainshtein J.M., Kabarriti R., Mehta K.J., Roy-Chowdhury J., Guha C. Bone marrow-derived stromal cell therapy in cirrhosis: clinical evidence, cellular mechanisms, and implications for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014;89(4):786–803. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.02.017.
69. Breitkopf-Heinlein K., Syn W.K. Harnessing liver progenitors in the treatment of liver fibrosis: a step in the right direction? *Gut.* 2020;69(6):975–976. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320203.
70. Kim G., Eom Y.W., Baik S.K., Shin Y., Lim Y.L., Kim M.Y. et al. Therapeutic Effects of Mesenchymal Stem Cells for Patients with Chronic Liver Diseases: Systematic Review and Meta-analysis. *J. Korean Med. Sci.* 2015;30(10):1405–1415. DOI: 10.3346/jkms.2015.30.10.1405.
71. Jiang B., Yan L., Miao Z., Li E., Wong K.H., Xu R.H. Spheroidal formation preserves human stem cells for prolonged time under ambient conditions for facile storage and transporation. *Biomaterials.* 2017;133:275–286. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.03.050.
72. Ullah M., Liu D.D., Thakor A.S. Mesenchymal Stromal cell homing: mechanisms and strategies for improvement. *iScience.* 2019;15:421–438. DOI: 10.1016/j.isci.2019.05.004.
73. Salama H., Zekri A.R., Zern M., Bahnassy A., Loutfy S., Shalaby S. et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in 48 patients with end-stage chronic liver diseases. *Cell Transplant.* 2010;19(11):1475–1486. DOI: 10.3727/096368910X514314.
74. Zekri A.R., Salama H., Medhat E., Musa S., Abdel-Haleem H., Ahmed O.S. et al. The impact of repeated autologous infusion of haematopoietic stem cells in patients with liver insufficiency. *Stem Cell Res. Ther.* 2015;6(1):118. DOI: 10.1186/s13287-015-0106-1.
75. Suk K.T., Yoon J.H., Kim M.Y., Kim C.W., Kim J.K., Park H. et al. Transplantation with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: Phase 2 trial. *Hepatology.* 2016;64(6):2185–2197. DOI: 10.1002/hep.28693.
76. Salama H., Zekri A.R., Medhat E., Al Alim S.A., Ahmed O.S., Bahnassy A.A. et al. Peripheral vein infusion of autologous mesenchymal stem cells in Egyptian HCV-positive patients with end-stage liver disease. *Stem Cell Res. Ther.* 2014;5(3):70. DOI: 10.1186/scrt459.
77. Mohamadnejad M., Alimoghaddam K., Bagheri M., Ashrafi M., Abdollahzadeh L., Akhlaghpour S. et al. Randomized placebo-controlled trial of mesenchymal stem cell transplantation in decompensated cirrhosis. *Liver Int.* 2013;33(10):1490–1496. DOI: 10.1111/liv.12228.

Информация об авторах

Гарбузенко Дмитрий Викторович – д-р мед. наук, профессор, кафедра факультетской хирургии, ЮУГМУ, г. Челябинск, garb@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9809-8015>

(✉) Гарбузенко Дмитрий Викторович, garb@inbox.ru

Поступила в редакцию 09.06.2021;
одобрена после рецензирования 15.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616-008.9-021.6-02:616.12/.13]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-166-180>

Патоген-специфическая молекулярная визуализация и методы молекулярного тестирования в прогнозе осложненного течения синдрома диабетической стопы, риска ампутаций и выживаемости пациентов

Зоркальцев М.А., Завадовская В.Д., Саприня Т.В., Замышевская М.А., Удодов В.Д., Шестаков А.В., Михайлова А.А., Лойко Ю.Н., Мусина Н.Н.

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

РЕЗЮМЕ

Цель настоящего обзора – расширение информации об актуальных направлениях в диагностике осложненного течения синдрома диабетической стопы (СДС), частого и тяжелого осложнения сахарного диабета, включая высокотехнологические методы медицинской визуализации и инструментально-лабораторные предикторы осложненного течения и риска ампутаций при СДС.

Представлен аналитический обзор современных публикаций за последние 5 лет по диагностическим и терапевтическим направлениям; систематизированы и обобщены, а также подвергнуты аналитической оценке пилотные данные, касающиеся использования высокотехнологических методов медицинской визуализации, оценки микробиоты кожи и язвенных дефектов при СДС, методов молекулярного тестирования с точки зрения прогноза риска ампутаций и выживаемости пациентов с СДС и эффективности применения систем биосенсорирования.

Дана экспертная оценка возможностей патоген-специфической молекулярной визуализации с использованием современных технологий позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) и высокоэнергетических радионуклидов при бактериальной инфекции для понимания ее патогенеза, минимизации диагностических проблем, улучшения антимикробного лечения и для решения фундаментальных и прикладных аспектов СДС. Систематизированы литературные данные об оценке перфузии стоп у больных сахарным диабетом с различной степенью ишемии конечностей методами гибридных технологий (ОФЭКТ/КТ и ПЭТ/КТ) и новых модальностей магнитно-резонансной томографии, что способствует новому пониманию ответной реакции на реваскуляризацию, хирургическое шунтирование и стимулирование ангиогенеза в пределах ишемизированной ткани, а также потенциально – и для заживления язвы стопы.

Статья направлена на обоснование мультидисциплинарного подхода при СДС, а также выбор, развитие и внедрение инновационных стратегий диагностических модальностей в установлении патологических процессов при СДС, выбор адекватного метода лечения и мониторирования результатов терапии в рамках развития персонифицированной медицины.

Ключевые слова: сахарный диабет, синдром диабетической стопы, остеомиелит, ангиосома, перфузия, микробиота, молекулярная визуализация

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-115-50333.

✉ Зоркальцев Максим Александрович, Zorkaltsev@mail.ru

Для цитирования: Зоркальцев М.А., Завадовская В.Д., Саприня Т.В., Замышевская М.А., Удодов В.Д., Шестаков А.В., Михайлова А.А., Лойко Ю.Н., Мусина Н.Н. Патоген-специфическая молекулярная визуализация и методы молекулярного тестирования в прогнозе осложненного течения синдрома диабетической стопы, риска ампутаций и выживаемости пациентов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):166–180. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-166-180>.

Pathogen-specific molecular imaging and molecular testing methods in the prognosis of the complicated course of diabetic foot syndrome, the risk of amputation, and patient survival

Zorkaltsev M.A., Zavadovskaya V.D., Saprina T.V., Zamyshevskaya M.A., Udodov V.D., Shestakov A.V., Mikhailova A.A., Loyko Yu.N., Musina N.N.

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

ABSTRACT

The aim of this review was to provide extended information on current trends in the diagnosis of complicated diabetic foot syndrome (DFS), the most frequent and severe complication of diabetes mellitus, including high-tech medical imaging methods and instrumental and laboratory predictors of the complicated course and risk of amputation in DFS.

The article provides an analytical review of modern publications over the past 5 years on diagnosis and therapy. Pilot data on the use of high-tech medical imaging methods, assessment of skin microbiota and ulcers in DFS, molecular testing methods in terms of predicting the amputation risk and survival of patients with DFS, as well as the effectiveness of biosensing systems have been systematized, summarized, and subjected to analytical evaluation.

The review provides an expert assessment of the capabilities of pathogen-specific molecular imaging using modern positron emission tomography (PET), single-photon emission computed tomography (SPECT), and high-energy radionuclides in bacterial infection to understand its pathogenesis, minimize diagnostic problems, improve antimicrobial treatment, and address fundamental and applied aspects of DFS. Literature data on the assessment of foot perfusion in diabetic patients with varying degrees of limb ischemia by hybrid technologies (SPECT / CT and PET / CT) and new modalities of magnetic resonance imaging (MRI) are also systematized, which contributes to new understanding of the response to revascularization, surgical shunting, and stimulation of angiogenesis within ischemic tissue, as well as potentially to healing of foot ulcers.

The review is aimed at substantiating a multidisciplinary approach in DFS, selection, development, and implementation of innovative strategies for diagnostic modalities to identify diabetic foot pathologies, and choice of an adequate method for treating and monitoring the results of therapy in the context of personalized medicine.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic foot syndrome, osteomyelitis, angiosome, perfusion, microbiota, molecular imaging

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 RFBR grant within the research project No. 20-115-50333.

For citation: Zorkaltsev M.A., Zavadovskaya V.D., Saprina T.V., Zamyshevskaya M.A., Udodov V.D., Shestakov A.V., Mikhailova A.A., Loyko Yu.N., Musina N.N. Pathogen-specific molecular imaging and molecular testing methods in the prognosis of the complicated course of diabetic foot syndrome, the risk of amputation, and patient survival. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):166–180. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-166-180>.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема синдрома диабетической стопы (СДС), являющегося наиболее частым и тяжелым осложнением сахарного диабета (СД) в результате высокого процента постампутационных летальных исходов, остается критической и требует применения мультидисциплинарного подхода для мониторинга и прогнозирования терапевтического ответа. Целью настоящего обзора явилась расширенная информация об актуальных направлениях в диагностике осложненного течения СДС, включая высокотехнологические методы медицинской визуализации и инструментально-лабораторные предикторы осложненного течения и риска ампутаций при СДС.

Основное проявление СДС – трофические язвы или другие гнойно-деструктивные процессы, начинаяющиеся с покровных тканей, тем не менее, причина и патогенетические механизмы фенотипически схожих проявлений СДС могут быть совершенно разными. Это затрудняет выбор адекватных терапевтических стратегий (консервативных, хирургических и их сочетания) и осложняет, утяжеляя, прогноз данного осложнения СД, увеличивая частоту неудовлетворительных исходов, количество ампутаций нижних конечностей и постампутационных летальных исходов.

Основными патогенетическими механизмами развития СДС являются развитие диабетических макроангиопатии, микроангиопатии, нейропатии, при осложненных формах – присоединение микробно-воспалительных процессов в мягких тканях и костных структурах стоп. Усложняют выбор правильного лечения имеющаяся у ряда больных фоновая патология по отношению к основным механизмам формирования СДС – поражение суставов, хроническая венозная недостаточность, синдром крепешковой (радикулярной) боли и т.д. Чрезвычайно актуально в этих условиях выделять ведущие патогенетические механизмы формирования СДС, оценивать вклад фоновой патологии, при этом очень важным направлением является разработка и валидизация патогенетически обоснованных новых методов лучевой диагностики, методов молекулярной диагностики, биосенсирования.

СОВРЕМЕННЫЕ ЛУЧЕВЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Магнитно-резонансная диагностика при СДС

Магнитно-резонансная томография (МРТ) большинством авторов рассматривается в качестве золотого стандарта лучевой диагностики осложненного течения СДС [1–3]. Технические возможности МРТ последних лет позволяют использовать данный ме-

тод при СДС в двух основных направлениях: для визуализации структурных изменений тканей стоп и для оценки сосудистого русла путем контрастной и бесконтрастной МР-ангиографии. Важным преимуществом МРТ, согласно недавнему обзору С.А. Ruiz-Bedoya и соавт. (2019), является распознавание отека костного мозга с точной анатомической локализацией на ранней стадии – через 3–5 дней от начала инфекционного процесса [4].

МР-семиотика поражений стоп при СД подробно описана в литературных источниках последних лет. Так, по данным D.H. Massel и соавт. (2020), МРТ имеет высокую чувствительность в диагностике остеомиелита (ОМ) стоп в связи с типичными изменениями сигнальных характеристик и позволяет точно локализовать гнойные осложнения, оценить их распространность и клинический риск осложнений [5]. Недавние публикации свидетельствуют о возможности использования определенных МР-симптомов в качестве предикторов гнойно-деструктивных осложнений при СДС. Так, отек костного мозга и прилегающая на данном уровне язва подкожной жировой клетчатки глубиной более 50% являются однозначными предикторами развития ОМ стоп [6, 7].

Более того, Y.H. Jang и соавт. (2020) по результатам мультифакторного анализа данных МРТ был выделен новый паттерн развития осложнений СДС – «сливной» сниженный сигнал костного мозга на Т1-ВИ на протяжении всего костного фрагмента либо «вкрапления» неизмененного костного мозга на фоне «тонкой/ретикулярной сетки» [7].

На сегодняшний день Н.М. Kotecha и соавт. (2020) рассматривается возможность применения нативной МРТ в отделениях неотложной помощи у больных СДС в виде сокращенного протокола исследования (сагиттальное Т2-ВИ FMPIR-изображение и коронарное Т1-ВИ), продолжающегося в среднем 8 мин [8]. Применение МРТ у пациентов с СДС для планирования объема оперативных вмешательств обосновано рядом авторов. Данные M. Jvaga и соавт. (2016) свидетельствуют о достоверной ассоциации предоперационной МРТ со снижением послеоперационной смертности [9, 10]. Об актуальности повторной МРТ для оценки результатов лечения у пациентов репродуктивного возраста с СДС сообщают C. Lauri и соавт. (2018) [11].

Вместе с тем D. Duryea и соавт. (2017) отмечают, что при высоких показателях чувствительности, положительной и отрицательной предсказательной способности МРТ в диагностике гнойных осложнений специфичность метода не столь высока, что обусловлено сложностями дифференциальной диагностики асептического и воспалительного отека

костного мозга [5, 7]. Таким образом, дифференциальный диагноз патологических изменений стоп остается частой клинической проблемой у пациентов с диабетом [12].

Контрастная и бесконтрастная МР-ангиография при СДС

Важное значение в оценке анатомии и патологии сосудов стоп придается контрастной МР-ангиографии (кМРА). Преимущества кМРА перед цифровой субтракционной ангиографией (СА) у больных СДС состоят в визуализации большего числа стенозированных сосудов и одновременной отчетливой визуализации воспалительных осложнений – ОМ, абсцессов мягких тканей и свищей [13]. Однако кМРА уступает СА в оценке дистально расположенных сосудов, а также в ситуации критической ишемии. Тем не менее существует ряд публикаций о приоритетном использовании данной методики перед проведением процедур реваскуляризации у пациентов с ишемической или смешанной формами СДС и отказе в зарубежных медицинских центрах от применения рентгеновских методик [12].

Предоперационная кМРА оценивает проходимость артерий, наличие диффузной кальцификации дистальных сосудов и микроаневризм, состояние коллатерального кровотока и целевые сосуды для хирургического шунтирования [14]. Контрастная магнитно-резонансная ангиография также применяется для оценки уровня активности при остром течении стопы Шарко и мониторинга реакции на лечение с прогнозированием времени заживления раневых дефектов [1, 3]. Показатели диагностической эффективности кМРА превосходят показатели КТ-ангиографии и дуплексного ультразвукового сканирования сосудов стоп при СДС [13].

МР-ангиографическая семиотика осложненного течения СДС достаточно изучена на сегодняшний день. Так, в работах M. Zamyshanskaya и соавт. (2016) представлены данные о МР-визуализации кровоснабжения стоп при наличии внутрикостного гнойного воспалительного процесса, острой диабетической остеоартропатии, артерио-венозного шунтирования, описан характер распределения контрастного агента при повышении сосудистой проницаемости в зонах воспаления [15].

Достаточно подробно описана количественная оценка динамического контрастного усиления [13, 16]. Так, D. Liao и соавт. (2018), используя расширенную линейную модель Тафтса, провели оценку трех количественных параметров кМРА: константы переноса – Ktrans, показателя скорости контраста – Kep, а также фракции объема внеклеточного внек-

судистого пространства – Ve [16]. Указанные параметры показали статистическую значимость в дифференциальной диагностике стопы Шарко и ОМ при СДС, однако ограниченное количество пациентов и особенности постпроцессорной обработки не позволяют на данном этапе судить о возможности широкого применения количественной оценки МР-ангиографических данных в клинической практике.

Технологический прогресс сделал возможным проведение не только контрастных, но и бесконтрастных исследований сосудов периферических отделов нижних конечностей, которые основаны либо на увеличении, либо на уменьшении сигнала от тока крови. Так, в публикации N. Zhang и соавт. (2016) сделан вывод о возможности применения бесконтрастной МРА как безопасного и надежного скринингового инструмента для оценки состояния артерий стоп у пациентов с СД [17].

Однократная МРА с интервалом покоя (QISS) – это методика двумерной сбалансированной стационарной свободной прецессии, синхронизированная с электрокардиографией, имеющая преимущества и демонстрирующая высокую точность по сравнению с КТ-ангиографией и кМРА в диагностике критической ишемии нижних конечностей при СДС. Вариация данной модальности – QISS-МРА с маркировкой спинов артериальной крови (ASL) – это родственный метод, обладающий потенциалом для визуализации сосудов стоп из-за теоретически улучшенного подавления фона.

Так, A. Lam и соавт. (2020) подробно описали применение QISS-МРА и QISS ASL-МРА у пациентов с критической ишемией на фоне СДС, что не проводилось в более ранних исследованиях [18]. Авторы позиционируют указанные неконтрастные МР-методики как быстрые, относительно простые и вместе с тем высокоэффективные способы визуализации, нечувствительные к движениям пациента, пульсовой волне и особенностям кровотока, применимые в том числе при наличии выраженной диабетической нефропатии со снижением СКФ. При этом QISS-МРА рассматривается в качестве метода визуализации таргетных для выполнения шунтирования и реваскуляризации сосудов стоп. Применение более мощных аппаратов МРТ (3Т) и усовершенствование ряда технических аспектов могут улучшить данную МР-неконтрастную методику и способствовать ее внедрению в клиническую практику.

Диффузно-взвешенная МРТ при СДС

В период 2017–2020 гг. появились зарубежные публикации о применении диффузионно-взвешенной МРТ для выявления воспалительного процесса при СДС [12, 19, 20]. В публикации A.A.K. Abdel

Razek и S. Samir (2017) указано, что одним из преимуществ данной методики является возможность количественной оценки сигнала от измененных тканей стопы путем вычисления измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) [19]. Показатели ИКД в области пораженной кости достоверно выше при острой диабетической нейроартропатии по сравнению с таковыми при ОМ. Так, диабетическая остеоартропатия связана с отеком костного мозга с относительно меньшим содержанием воспалительных клеток и более высокими значениями ИКД, а ОМ – с наличием микроорганизмов, воспалительных и отмерших клеток, следовательно, с последующей ограниченной диффузией и более низкими значениями ИКД. Однако диффузионно-взвешенная МРТ методика не исключает полностью сочетания остеоартропатии и ОМ, особенно на ранней стадии воспаления и при подостром течении нейроартропатии, что снижает показатели диагностической эффективности методики [19].

Использование МР-томографов напряженностью 3Т с новыми техническими аспектами, направленными на подавление перфузионных эффектов, могут повысить точность расчетов ИКД, способствуя улучшению качественной и количественной характеристики диффузионно-взвешенных изображений СДС [12]. При этом вопрос применения методики диффузионно-взвешенных изображений в клинической практике поднимать на данном этапе рано в связи с отсутствием стандартизации вычисления ИКД, субъективностью интерпретации полученных значений, техническими возможностями МР-оборудования, что требует более масштабного исследования либо метаанализа использования диффузионно-взвешенной МРТ при СДС.

Радионуклидная диагностика при СДС

Среди методов радионуклидной диагностики сцинтиграфия с меченными лейкоцитами расценивается как золотой стандарт лучевой диагностики ОМ при СДС с использованием в качестве радиоактивных меток 99m Tc-НМРАО и In111-оксима [1, 21]. Европейским обществом ядерной медицины (EANM) в 2018 г. с целью стандартизации процедуры мечения лейкоцитов были разработаны протоколы исследования и критерии интерпретации результатов метода, заключающиеся в сравнительной характеристике различной степени гиперфиксации радиофармпрепараторов (РФП) в различные контрольные точки (через 1, 3 и 20 ч) в зависимости наличия септического или асептического воспаления [22].

Сопутствующая остеоартропатия Шарко, приводящая к гиперфиксации РФП за счет повышенной

гемопоэтической активности костного мозга, вторичного по отношению к хроническому воспалению, способствует более низкой специфичности метода. Чтобы преодолеть это ограничение, предлагается выполнять дополнительно сцинтиграфию костного мозга с использованием наноколлоидов [11]. В случае использования двойной методики описаны два диагностических критерия ОМ при артропатии Шарко: захват меченых лейкоцитов без соответствующей активности на изображениях при сцинтиграфии костного мозга и пространственно неконгруэнтное распределение двух РФП [11, 23].

Основными причинами снижения специфичности данной методики являются низкое анатомическое пространственное разрешение, гиперфиксация меченых лейкоцитов в месте асептического воспаления в стопе Шарко и лейкопения [24]. Повысить специфичность сцинтиграфии с меченными лейкоцитами может сочетанное применение указанного метода с модальностью, высокоинформативной в плане изображения анатомических структур.

Влияние длительного лечения антибиотиками на чувствительность сцинтиграфии с меченными лейкоцитами все еще является предметом дискуссий. Судя по предварительным данным, допускается использование радиоактивно меченых лейкоцитов через 2 нед после окончания терапии даже при наличии ложнотрицательных результатов [1, 22].

В качестве альтернативы меченым лейкоцитам было предложено использовать моноклональные антитела (MoAbs) или фрагменты антител (Fab), направленных против специфических антигенов, экспрессируемые активированными гранулоцитами. Однако роль антител и Fab фрагментов в оценке осложненного течения СДС широко не изучена, стандартизованных протоколов сбора и интерпретации результатов исследований нет [11]. Новейшие исследования проведены для разработки высокоспецифичных биомолекул и новых агентов, поскольку бактериальная молекулярная визуализация может предоставить уникальную возможность для мониторинга лечения пациентов с СДС, осложненным инфекционными процессами.

В настоящее время у данной категории пациентов, согласно A.O. Ankrum и соавт. (2018), оцениваются результаты использования ряда изотопных индикаторов, например 18 F-FDS, 99m Tc-UBI 29-41, 68 Ga-NOTA-UBI, которые не требуют манипуляций с кровью и способны дифференцировать воспалительные и инфекционные процессы с высокой специфичностью [25]. Однако чувствительность этих агентов требует дальнейшей оценки и подтверждения в более крупных клинических испытаниях, особенно

при хронических инфекциях с более низкой бактериальной нагрузкой [4].

Сцинтиграфия с меченными антибиотиками, такими как ^{99m}Tc -ципрофлоксацин, может обеспечить индикацию инфекционного процесса и дифференцировать септическое и асептическое воспаление, однако данный РФП имеет более низкие показатели диагностической эффективности по сравнению с РФП с меченными лейкоцитами, что, вероятно, связано с неспецифическим механизмом накопления. В 2019 г. группа исследователей во главе с N. Ahmed опубликовали результаты мечения ^{99m}Tc -цефтизоксима – цефалоспорина третьего поколения с широким, по сравнению с ципрофлоксацином, спектром действия [24].

J. Vouillarmet и соавт. (2017) сообщают об использовании однофотонной эмиссионной компьютерной томографии/компьютерной томографии (ОФЭКТ/КТ) с меченными лейкоцитами для прогнозирования ремиссии после 6- или 12-недельного курса антибиотикотерапии в случае безоперационного лечения ОМ стоп при СД [26]. Однако W.J. Jeffcoate, основывая свои выводы на ряде публикаций 2016–2017 гг. о сравнении эффективности клинического и инструментального мониторингов состояния пациентов с осложненным течением СДС, резюмирует, что применение данной гибридной методики может быть переоценено, а сам метод не оказывает большого влияния на повседневную клиническую практику [27].

По данным R. Ahluwalia и соавт. (2020), ОФЭКТ/КТ – полезный метод функциональной и структурной визуализации не только при подозрении на ОМ стопы, но и при подозрении на стопу Шарко [28]. Однако требуется более широкий и проспективный подход к изучению ОФЭКТ/КТ как метода выявления предикторов формирования стопы Шарко, особенно с учетом преимуществ перед МРТ в оценке структурных изменений, а также у пациентов, которым МРТ противопоказана [1].

Позитронно-эмиссионная томография при СДС

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с ^{18}F -фордезоксиглюкозой (^{18}F -ФДГ) обеспечивает неинвазивное трехмерное изображение с более высокими пространственно-временным разрешением и чувствительностью по сравнению с ОФЭКТ и МРТ, а умеренная гипергликемия не влияет на диагностические характеристики ^{18}F -ФДГ [2, 29]. Недостатком метода является низкая специфичность. Кроме того, усвоение глюкозы может оставаться нарушенным в течение 3–4 мес после операции или травмы [4].

C. Ruiz-Bedoya и соавт. (2019) отмечают, что молекулярная визуализация класса бактерий в месте

инфекции способствует выбору соответствующей эмпирической антимикробной терапии [4]. Препарат, подобный ^{18}F -фордезоксисорбитолу (^{18}F -ФДС), избирательно нацеленный на группу бактерий Enterobacteriaceae, можно использовать в сочетании с маркером визуализации широкого спектра действия (например, ^{11}C -парааминобензойная кислота) для ПЭТ-индикации инфекции и дифференциации грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Учитывая преимущества ПЭТ перед визуализацией ОФЭКТ, рекомендуется изучить и разработать ПЭТ-эквиваленты индикаторов, потенциальных для визуализации инфекционных агентов. Использование радиометаллов, таких как ^{68}Ga , предлагает больше возможностей для мечения, особенно пептидов. Радионуклиды с более длительным периодом полураспада, такие как ^{64}Cu и ^{89}Zr , также могут стать хорошей альтернативой для мечения пептидов, которые в настоящее время маркируются ^{68}Ga . Эти относительно более длительно действующие радионуклиды обеспечивают отсроченную визуализацию, являющуюся требованием для индикации инфекций, в том числе при СДС. Радиоиммунотерапия антибиотиками с использованием наночастиц, меченых новыми радионуклидами для доставки лекарственного препарата, может сократить продолжительность антибиотикотерапии и воздействовать на резистентные микроорганизмы [25].

Согласно C. Lauri и соавт. (2020), ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ является альтернативой сцинтиграфии, однако на сегодняшний день отсутствует четкое определение критериев и стандартизация проведения данной гибридной методики [1]. Так, отдельные авторы отмечают меньшую чувствительность гибридной технологии в диагностике осложненного течения СДС по сравнению с МРТ, при этом специфичность и точность метода ПЭТ/КТ значительно выше МРТ-показателей [12].

Разработан полу количественный анализ максимального стандартизованного значения поглощения (SUV_{\max}) при выполнении ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ. C. Lauri и соавт. (2020) сообщают о статистически значимо более высоких значениях SUV_{\max} при наличии ОМ на фоне СДС по сравнению с аналогичным показателем при наличии стопы Шарко и неосложненном течении СДС, что свидетельствует о значимости параметра SUV_{\max} для дифференциальной диагностики указанных патологических процессов [23]. Хотя A.I.G. Diez и соавт. (2020) также сделали выводы о том, что показатель SUV_{\max} может быть полезным параметром для дифференциации патологических процессов в стопе при СД, отдельные авторы не нашли статистически значимых отличий при

сравнении данного показателя у пациентов со стопой Шарко и ОМ [12].

По мере развития гибридных методик стали появляться публикации о возможностях применения ПЭТ/МРТ в оценке состояния костного мозга и мониторинга течения заболевания у пациентов с СДС с последующей перспективой решения проблемы дифференцировки поражения мягкотканых и костных структур [12]. A.W.J.M. Glaudemans и соавт. (2019) считают, что ПЭТ/МРТ по сравнению с ПЭТ/КТ повышает точность диагностики инфекции стоп за счет улучшения дифференцирования собственно ОМ и мягкотканых инфекций [30]. Изучена потенциальная возможность получения гибридных изображений ОФЭКТ/МРТ с использованием программного обеспечения рабочих станций [31].

В единичных зарубежных статьях описываются различные подходы к количественной/полуколичественной оценке визуальных данных у пациентов с СДС и создании клинико-диагностических шкал. Вариант балльной системы МР-исследования пациентов со стопой Шарко представлен L. Meacock и соавт. в 2017 г. В основу представленной полуколичественной шкалы легли такие МР-симптомы, как отек костного мозга и наличие перелома пораженной кости [32].

В диагностической практике В.Д. Удодовым запатентована и описана балльная система оценки программно совмещенной ОФЭКТ/МРТ у пациентов с СДС и подозрением на наличие ОМ, которая на данном этапе является оригинальной [31]. Данная балльная система включает в себя ряд МР-симптомов воспалительных процессов при СДС и два сцинтиграфических симптома на основании результатов сцинтиграфии с меченными лейкоцитами. По результатам ROC-анализа получено пороговое значение наличия ОМ на фоне СДС при сумме баллов имеющихся визуальных симптомов более 12. Данный количественный критерий является высокоспецифичным и чувствительным и может стать перспективным в клинико-диагностической оценке стоп у пациентов данной категории.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПЕРФУЗИИ ТКАНЕЙ ПРИ СДС

Существенной проблемой у пациентов с СД является нарушение перфузии тканей и как следствие – эндотелиальная дисфункция, капиллярная микроangiопатия и критическая ишемия нижних конечностей [4, 33]. Для таргетного лечения ишемических незаживающих язв стопы необходима ангиосомно направленная реваскуляризация, которая приводит к значительно более высоким темпам заживления ран

и снижению риска ампутаций крупных конечностей у пациентов с заболеваниями периферических артерий (ЗПА) [34].

В работе J.L. Alvelo и соавт. (2018) для визуализации перфузии путем ОФЭКТ/КТ описано использование 99m Tc-тетрофосмина. Метод продемонстрировал возможность качественной и количественной оценки микроциркуляции стоп в покое с возможностью обнаруживать дефекты перфузии в участках, содержащих незаживающие язвы стопы у пациентов с критической ишемией нижних конечностей и ЗПА [33]. Следует отметить, что 99m Tc-сестамиби, используемый в кардиологии, также показал высокую информативность и определенные преимущества на до-клиническом и клиническом уровнях исследования в диагностике ЗПА и был рассмотрен как альтернатива 99m Tc-тетрофосмину в будущих исследованиях [33].

Независимо от предыдущих ученых исследовательская группа во главе с T.H. Chou в 2020 г. разработала и опубликовала данные о целесообразности использования ОФЭКТ/КТ для количественной оценки перфузии ангиосом, а также как дополнительного метода применительно к рентгеновской ангиографии, измерению лодыжечно-плечевого и пальце-плечевого индексов у пациентов с СД и критической ишемией конечностей с запланированной реваскуляризацией нижних конечностей [35].

Высокоэффективным методом абсолютной оценки перфузии стоп у больных СД является бесконтрастная МРТ. Результаты H.J. Chen и соавт. (2018) говорят о том, что описание данной МРТ через показатели микрососудистого поражения артерий позволяют лучше понять патофизиологию происходящих изменений в тканях [36].

В работе J. Zheng и соавт. (2016) опубликованы данные о возможностях построения неконтрастных МРТ-перфузионных ангиосомальных карт стоп у здоровых лиц и пациентов с СД [37]. Измерения перфузии стоп проводились во время физической нагрузки. В результате по данным бесконтрастной МРТ были отчетливо визуализированы региональные различия перфузии мышц стопы в выделенных ангиосомах. У пациентов с СД перфузия при физической нагрузке была статистически значительно ниже, чем у здоровых добровольцев. Та же группа исследователей, но уже во главе M. Edalati, в 2019 г. опубликовала расширенную версию оценки МР-перфузии стоп с использованием спиновой маркировки артериальной крови (ASL) [38]. Авторами установлено, что резерв МР-перфузии стопы у больных СД был достоверно ниже, чем у больных без диабета. Вторым важным моментом явилось статистически значимое снижение МР-перфузии мышц околосязвен-

ной анатомической области как в покое (резерв), так и при физической нагрузке по сравнению с удаленными от диабетической язвы участками стопы.

Таким образом, авторы подтверждают и описывают ангиосомальную теорию кровоснабжения стоп и ее влияние на течение СДС, однако ввиду небольшой выборки случаев требуются дополнительные экспериментально-клинические исследования для подтверждения полученных результатов. Главным акцентом данного исследования, помимо влияния ангиосомной теории, является тот факт, что перфузионный резерв мышц вокруг заживших язв при СДС был значимо выше такового при длительно незаживающей язве стоп, что является обоснованием перспективы дальнейшего исследования МР-перфузионных резервов скелетных мышц в качестве предикторов заживления раневых дефектов стоп при СДС [38].

Несмотря на первоначальный успех ангиосомной реваскуляризации, до 54% язв стопы нельзя однозначно отнести к конкретной ангиосоме из-за двойного кровоснабжения. Недавние исследования тканей стоп в ближнем инфракрасном диапазоне предоставили возможность рассматривать отображение насыщения тканей стопы кислородом (StO_2) как модифицированную ангиосомную теорию. Было замечено, что эта новая «ангисома» больше, чем традиционная ангиосомная модель, подходит для обнаружения ишемических кожных участков, ассоциированных с язвами стопы. Исследования оксигенации тканей у больных СД нашло продолжение в оценке оксиметрии скелетных мышц [37].

Проведена оценка микроциркуляции на основе МРТ для измерения фракции экстракции кислорода скелетных мышц (ЭФОСМ) стопы при СДС и сравнение двух ангиосомных моделей – классической и оксиметрической. Результаты показали, что абсолютное среднее значение ЭФОСМ в состоянии покоя у пациентов с СДС выше, чем у здоровых людей. Это различие может быть связано со снижением перфузии тканей у этих пациентов и, следовательно, потребность тканей в кислороде должна удовлетворяться за счет увеличения экстракции кислорода даже в состоянии покоя. Клинически важным моментом является увеличение у здоровых добровольцев ЭФОСМ при переходе из состояния покоя к физической нагрузке, нежели у пациентов с СДС при оценке аналогичных ангиосом. Стоит отметить, что оксиметрическая ангиосомная модель стопы позволяет напрямую определять области с низким или высоким содержанием кислорода, доставляемого через одну или несколько артерий стоп. Такое распределение ангиосом может быть более подходящим для па-

циентов с диабетом, поскольку нарушение местной микроциркуляции является частым и клинически важным аспектом для пациентов с СД, даже без обструктивного стеноза периферических артерий, отражаемого классической ангиосомной теорией [38].

BOLD-нейнвазивная функциональная МРТ – метод для оценки динамических изменений оксигенации скелетных мышечных тканей, что отражает изменения объемного кровотока, особенно в микроциркуляторном русле. Способность метода выявлять сосудистые аномалии стопы может быть особенно ценна у пациентов с макро- и микрососудистыми заболеваниями [39].

Несмотря на широкое развитие контрастных и внедрение бесконтрастных методик МР-исследования кровотока при СДС, большинство научных публикаций до сих пор ограничиваются определением сосудистой проходимости. Другие аспекты кровотока изучаются крайне ограниченно, и полученных данных недостаточно для формулирования надежных выводов. Следовательно, сохраняется необходимость продолжения изучения возможностей МРА, в том числе МР-перфузии применительно к пациентам с СДС.

ДРУГИЕ НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ПРЕДИКТОРЫ АМПУТАЦИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С СДС

Относительная простота и доступность нелучевых неинвазивных методов диагностики СДС и прогнозирования его течения способны обеспечить возможность их использования врачом непосредственно во время консультации пациента, а также самими пациентами с СД для ежедневного мониторинга и контроля состояния стоп. Среди данных методов можно выделить мониторинг таких показателей, как артериальное давление нижних конечностей, подошвенные температура и давление, изменение походки. Также интерес вызывают комплексные биосенсорные системы, призванные проводить оценку и (или) мониторинг наличия разного рода маркеров неблагоприятного прогноза при СДС, в частности металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов. Помимо вышеперечисленного, отдельным перспективным направлением изучения является оценка микробиома и микрофлоры ран при СДС с целью диагностики и выбора тактики ведения пациентов.

Мониторинг артериального давления и кровотока в нижних конечностях

Высокую клиническую значимость в оценке состояния пациентов с СДС показала оценка таких физиологических параметров, как артериальное дав-

ление и кровоток в нижних конечностях. В систематическом обзоре R.O. Forsythe и соавт. (2020) рассматривалась эффективность шести неинвазивных клинических тестов для прогнозирования вероятности заживления раны или риска ампутации при СДС. Исследователями были выделены четыре признака, показавшие наибольшую точность в оценке степени снижения перфузии нижних конечностей, что в свою очередь является важным показателем высокого риска ампутации: лодыжечное давление < 50 мм рт. ст., лодыжечно-плечевой индекс $< 0,5$, артериальное давление в пальцах ног < 30 мм рт. ст, а также транскутанное напряжение кислорода < 25 мм рт. ст.

Однако в этом же исследовании были выделены и благоприятные признаки, обнаружение которых указывало на более высокую вероятность заживления ран СДС. К категории показателей благоприятного исхода были отнесены: кожное перфузионное давление ≥ 40 мм рт. ст., артериальное давление в пальцах ног ≥ 30 мм рт. ст, транскутанное напряжение кислорода ≥ 25 мм рт. ст. Перспективно использовать результаты данных неинвазивных тестов в комплексе с другими клиническими предикторами для выбора тактики дальнейшего ведения пациентов – варианта консервативного лечения, детальной оценки нарушения перфузии с возможной последующей реvascularизацией или хирургического лечения [40].

Мониторинг подошвенной температуры

Оценка температуры подошвенной поверхности стопы показала себя как перспективный метод непрямой оценки состояния кровотока нижних конечностей с целью раннего выявления очаговых поражений последних. Установлено, что повышение подошвенной температуры происходит в результате повторяющейся нагрузки на стопу и воспалительных изменений, в частности ферментативного аутолиза [41].

В исследовании J. Golledge и соавт. (2020) показано, что мониторинг температуры подошвенной поверхности стопы с помощью портативного инфракрасного термометра на ежедневной основе эффективен для предотвращения впервые возникающей или рецидивирующей язвы [42]. Наиболее эффективным оказался показатель разницы температуры между симметричными областями разноименных стоп ($2,2^{\circ}\text{C}$), в то время как абсолютные значения температуры и сравнение температуры между областями одноименной стопы – нет. Однако, несмотря на доказанную эффективность, этот метод не получил широкого прикладного значения. Причины этого не совсем ясны, но, вероятно, объясняются сложностями для ежедневного использования и, как следствие, низкой приверженностью пациентов к та-

кому методу удаленного контроля. Для преодоления настоящего барьера предлагаются инновационные и эргономичные модели: напольные коврики для портативной термографии, носки и стельки со встроенными инфракрасными датчиками, портативные инфракрасные камеры для мобильного телефона с возможностью непрерывного мониторирования изменения показателей и передачи данных лечащему врачу [42, 43].

Возвращаясь к вопросам комплаенса, все больше фокус исследователей смещается на комплексные многофункциональные устройства. В частности, разрабатываются температурные датчики, которые могут быть встроены в ортопедическую обувь для диабетической стопы, что позволяет измерить не только качество разгрузки стопы, но и регулярность ее ношения [44].

Таким образом, наибольшее внимание уделяется вопросам разработки комплексных сенсоров с возможностью удаленного мониторинга показателей, что обусловлено повышенным вниманием как к вопросам телемедицины (с учетом настоящей эпидемиологической обстановки), так и к вопросам приверженности пациентов к своевременным методам диагностики и лечения.

Мониторинг подошвенного давления

Давление, градиенты давления, напряжение сдвига, а также пиковое подошвенное давление – это группа механических параметров, характеризующих нагрузку, которые вносят значительный вклад в образование язвенных дефектов. В связи с чем ключевым моментом в ведении пациентов с СДС является использование разгрузочных устройств и специализированной обуви, изготовленной индивидуально в соответствии с особенностями стопы отдельного пациента. В частности, одним из важнейших целевых показателей было установлено снижение пикового подошвенного давления до менее 25%, что оказывает значительный вклад в профилактику возникновения ран при СДС [43, 44].

Мониторинг подошвенного давления проводится с помощью прижимных пластин или стелек со встроенными датчиками в условиях медицинских центров, однако некоторые из существующих устройств – Pedar® (Novel, Германия) и F-Scan® (Tekscan Inc., США), SurroSense Rx (Orpyx Medical Technologies, Канада) позволяют отследить, насколько специализированная ортопедическая обувь эффективна для снижения пикового подошвенного давления в амбулаторных условиях [45].

Ряд прототипов способен предупреждать пользователя о длительном повышении давления (более

35–50 мм рт. ст. и 15 мин) в определенной области стопы с помощью звукового сигнала, а также оценивать степень последующей разгрузки стопы [46]. Сегодня эти системы используются преимущественно в исследовательских целях, но не интегрированы в клиническую практику. Долгосрочный мониторинг подошвенного давления с возможностью предоставления обратной связи при возникновении «тревожных уровней» является многообещающим направлением и, безусловно, требует дальнейшего изучения.

Мониторинг изменения походки

Известно, что для пациентов с диабетической полинейропатией характерно нарушение походки, что также способствует изменению подошвенного давления и повышенному риску образования язв [47]. Наибольшую проблему вызывает объективизация данных об изменении походки, так как самим пациентом субъективно могут быть пропущены порой даже выраженные нарушения двигательной активности. В связи с этим на данный момент уже разработаны и апробируются съемные устройства для удаленного мониторинга за паттерном шага [48]. На следующем этапе эти данные могут быть использованы для разработки обучающих программ с применением систем искусственного интеллекта для коррекции нарушений походки. Так, к примеру, компанией Samsung была создана мехатронная система улучшения походки (Gait-Enhancing Mechatronic System, GEMS) для перераспределения давления стопы и снижения риска образования язвенных дефектов [49].

Биосенсорные системы

Оценка раневого ложа на сегодняшний день в значительной степени зависит от субъективной интерпретации без использования объективных инструментов. Использование матричных металлопротеиназ (MMP) и их тканевых ингибиторов (TIMP) в качестве биомаркеров при СДС все больше привлекает внимание исследователей.

На сегодняшний день не существует подходящего устройства, которое бы *in situ* использовало объективный количественный индекс для определения степени тяжести поражения хронических язв, а также необходимости хирургического лечения (в особенности, когда пациент не находится в стационаре, отсроченное хирургическое лечение часто приводит к ухудшению состояния ран). При обострении раневого процесса наблюдается повышенная экспрессия MMP-2 и -9, которые рассматриваются в качестве маркеров активного воспалительного процесса.

S. Kang и соавт. (2019) описывают гидрогелевое биосенсорное устройство для обнаружения экспрессии матричных металлопротеиназ в раневом экссудате, что позволяет оценить степень тяжести язвенного дефекта и своевременно провести хирургическое вмешательство. Механизм работы данной модели биосенсора следующий: при иммобилизации флуоресцентного пептида, расщепляемого специфической металлопротеиназой, ее количество можно измерить по увеличению флуоресценции гидрогелевой подложки [50].

Научным коллективом из Бангкока (2018) были описаны изменения уровней MMP-1, MMP-9 и TIMP-1 методом ELISA во время заживления диабетических язв. Авторы пришли к выводу, что уровень MMP-9, MMP-1 и TIMP-1 может быть использован в качестве потенциального скринингового теста во время первого визита пациента. Предлагаемая авторами система – scoring system – позволяет на клиническом этапе разделить пациентов на две прогностические группы: good healer и poor healer. Это может помочь корректно определить дальнейшую тактику лечения. Кроме того, проводится параллель с темой высокоселективных перевязочных материалов: предполагается, что высокоселективные перевязочные материалы с использованием компонентов, снижающих экспрессию вышеуказанных маркеров воспаления, будут эффективны для диабетических язв, которые трудно поддаются стандартному лечению [51].

Другой перспективной технологией является система многомерной идентификации белков методом MS/MS в образцах ткани. При помощи данной технологии был проанализирован белковый состав экссудатов стопы пациентов с диабетической стопой. Исследование показало, что количество металлопротеиназ MMP-1, MMP-2 и MMP-8 было значимо повышенено; также оказались гиперэкспрессированы белки с антиangiогенными свойствами, такие как коллагены CO15A1 и CO18A1 [52].

В исследовании J.I. Jones и соавт. (2019) отмечена избыточная активация MMP-8 и MMP-9 в диабетических ранах у мышей и людей, причем MMP-9 была ассоциирована с более длительным заживлением диабетических ран, тогда как экспрессия MMP-8 оказалась, наоборот, благоприятным фактором прогноза заболевания [53].

Говоря о других биомолекулах, играющих ключевую роль в процессе заживления хронических язв, нельзя не упомянуть факторы роста, в частности EGF, bFGF, VEGF, PDGF, IGF. Известно, что уровень вышеуказанных факторов роста в ране значительно снижается при СДС. Это терапевтически оправдывает их использование в качестве лекарственных

средств для наружного применения. Барьером здесь выступает низкая стабильность данных биомолекул *in vivo*, обусловленная деградацией под воздействием тканевых протеаз в раневом ложе. В данном контексте многообещающим направлением представляется разработка систем доставки лекарственных средств с замедленным высвобождением: твердые липидные наночастицы, наноструктурированные липидные носители, полимерные микросферы и наносферы, гидрогели, нановолокнистые каркасы. Множество исследований в последние десятилетия подтверждает их высокую терапевтическую эффективность [54].

Микробиом

Микробиом представляет собой совокупность существующих с организмом хозяина бактерий, вирусов, одноклеточных эукариот и других микроорганизмов. Их присутствие создает сложную систему физиологически и метаболически взаимосвязанных процессов, влияющих на жизнедеятельность человека. Большое значение имеет изучение микробиома участков ран на язвах при СДС. Выявление различных бактериальных штаммов при СДС играет важную роль в прогнозе заболевания. Язвенные поражения могут быть колонизированы различными аэробными и анаэробными бактериями в зависимости от различных факторов.

При поверхностных язвах микробиом в основном состоит из грамположительных кокков, включая *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, β-гемолитические стрептококки или коагулазонегативные стафилококки. Пациенты с более глубокими язвами могут быть инфицированы энтерококками, псевдомонадами или анаэробными бактериями [55].

Одним из современных методов изучения бактериального многообразия образцов тканей является метод культуромики. Данный метод предполагает использование крупномасштабных условий культивирования бактериальных штаммов с последующей детальной идентификацией колоний при помощи матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ) или 16S рибосомальной РНК полимеразной цепной реакции. Данный метод позволяет идентифицировать все бактериальные штаммы в образце вплоть до минимально присутствующих, в результате чего был детально определен и описан весь микробиом кожных поражений при СДС. Авторами обнаружено крайне высокое бактериальное разнообразие, а именно 53 вида бактерий в ране диабетической стопы. Детальный анализ бактериального разнообразия в каждом конкретном клини-

ческом случае позволит более тщательно подойти к подбору антибактериальной терапии, однако данное направление требует дальнейшего изучения.

Многие исследования показывают, что преобладающим бактериальным штаммом в ткани раны диабетической стопы является золотистый стафилококк. С одной стороны, установлено, что его наличие при инфекции диабетической стопы ассоциировано с худшим прогнозом; с другой стороны, присутствие в ране *E. faecalis* достоверно коррелирует с лучшим заживлением ран. Отмечено, что ряд факторов влияет на факт установления доминирующего бактериального штамма, который может быть разнообразным и имеет множество факторов влияния, в частности: демографические характеристики, личная гигиена, степень тяжести поражения, гликемический контроль, текущее или предыдущее лечение антибиотиками. Кроме того, высокое влияние также оказывает используемый для идентификации бактерий метод лабораторного исследования [56].

M. Malone и соавт. в 2017 г. провели исследование, используя секвенирование ДНК с целью анализа микробиоты ткани ран при СДС. Авторы рассматривали группы пациентов, которым назначалась направленная антимикробная терапия в соответствии с результатами стандартного культурального метода. По результатам исследования не найдено значимых различий в составе микробиома у пациентов с успешной терапией и тех, у кого не было эффекта от лечения, что ставит под сомнение клиническую значимость стандартного культурального метода определения бактериальных штаммов раны при СДС [57].

В другой работе группы авторов J.U. Park и соавт. в 2019 г. также был применен метод ДНК секвенирования, при этом сравнению подвергались микробиота нормальной кожи и язвенного дефекта при СДС. Важной находкой оказался факт того, что общее разнообразие бактериальной флоры было значительно более скучным в ткани ран диабетической стопы. Предполагается, что доминирующее развитие условно-патогенной флоры и локальное воспаление являются взаимопотенцирующими факторами, вызывающими более неблагоприятный клинический исход. Кроме того, отмечается, что в условиях хронического воспаления язвенных дефектов происходит значимое развитие анаэробной флоры, особенно в глубоких слоях раны, что, в свою очередь, является важной причиной неблагоприятного клинического исхода. Также установлено, что в ткани неизмененной кожи преобладающими видами бактерий являются актинобактерии, стафилококки, коринебакте-

рии и пропионибактерии, в то время как в язвенных дефектах обнаружено преобладание анаэробов, бактероидов, энтерококков, а также псевдомонад [58].

Сводные данные относительно состава бактериальной флоры в ткани нормальной кожи и ткани язв диабетической стопы приведены в таблице [58].

Таблица

Характеристика микробиома диабетических язв			
Показатель	Грамположительные бактерии	Грамотрицательные бактерии	Анаэрообы
Преобладающие штаммы в язвах диабетической стопы	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA и MRSA). <i>Streptococcus pyogenes</i> (бета-гемолитический)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> . <i>Streptococcus pyogenes</i> (бета-гемолитический). <i>Proteus</i> (разные виды)	Бактерии родов <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Clostridium</i>
Локализация бактерий в язве	Поверхностные слои раны	Поверхностные слои раны	Глубокие слои раны
Частота выявления при СД	Непреобладающий тип бактерий	Преобладающий тип бактерий	Присутствуют

Примечание. MSSA – метициллин-чувствительный золотистый стафилококк, MRSA – метициллин-резистентный золотистый стафилококк.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синдром диабетической стопы и его осложнения представляют собой частую клиническую проблему, а промедление с постановкой точного диагноза может привести к увеличению осложнений у пациента, включая ампутацию. Ключевые вопросы, касающиеся диагностики инфекции стоп, ее локализации и распространения, типа возбудителя и ответа на лечение, все еще до конца не решены, поскольку точная идентификация и дифференциация различных типов СДС по-прежнему представляют собой проблему для клиницистов.

Систематизированные в данной статье специальные методы предоставления ценной информации о СДС и его осложнениях способствуют лучшему пониманию течения данного заболевания. Обращение к мультимодальной визуализации и мультидисциплинарный клинико-диагностический подход, по мнению авторов, являются обязательными для того, чтобы спланировать наиболее подходящую терапевтическую стратегию для отдельного пациента с указанным синдромом.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lauri C., Leone A., Cavallini M., Signore A., Giurato L., Uccioli L. Diabetic foot infections: the diagnostic challenges. *J. Clin. Med.* 2020;9(6):1779. DOI: 10.3390/jcm9061779.
2. Llewellyn A., Kraft J., Holton C., Harden M., Simmonds M. Imaging for detection of osteomyelitis in people with diabetic foot ulcers: A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Radiol.* 2020;131:109215. DOI: 10.1016/j.ejrad.2020.109215.
3. Chantelau E.A., Antoniou S., Zweck B., Haage P. Follow up of MRI bone marrow edema in the treated diabetic Charcot foot – a review of patient charts. *Diabet. Foot Ankle.* 2018;9(1):1466611. DOI: 10.1080/2000625X.2018.1466611.
4. Ruiz-Bedoya C.A., Gordon O., Mota F. et al. Molecular imaging of diabetic foot infections: new tools for old questions. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(23):5984. DOI: 10.3390/ijms20235984.
5. Massel D.H., Jenkins N.W., Rush A.J. 3rd et al. MRI and clinical risk indicators for osteomyelitis. *Foot and Ankle Specialist.* 2014;14(5):415–426. DOI: 0.1177/1938640020921572.
6. Duryea D., Bernard S., Flemming D., Walker E., French C. Outcomes in diabetic foot ulcer patients with isolated T2 marrow signal abnormality in the underlying bone: should the diagnosis of «osteitis» be changed to «early osteomyelitis»? *Skeletal Radiol.* 2017;46(10):1327–1333. DOI: 10.1007/s00256-017-2666-x.
7. Jang Y.H., Park S., Park Y.U., Kwack K.S., Jeon S.W., Lee H.Y. Multivariate analyses of MRI findings for predicting osteomyelitis of the foot in diabetic patients. *Acta Radiol.* 2020;61(9):1205–1212. DOI: 10.1177/0284185119897351.
8. Kotecha H.M., Lo H.S., Vedantham S., Shin H., Cerniglia C.A. Abbreviated MRI of the foot in patients with suspected osteomyelitis. *Emerg. Radiol.* 2020;27(1):9–16. DOI: 10.1007/s10140-019-01722-y.
9. La Fontaine J., Bhavan K., Jupiter D., Lavery L.A., Chhabra A. Magnetic resonance imaging of diabetic foot osteomyelitis: imaging accuracy in biopsy-proven disease. *J. Foot Ankle Surg.* 2021;60(1):17–20. DOI: 10.1053/j.jfas.2020.02.012
10. Jbara M., Gokli A., Beshai S. et al. Does obtaining an initial magnetic resonance imaging decrease the reamputation rates in the diabetic foot? *Diabet. Foot Ankle.* 2016;7:31240. DOI: 10.3402/dfa.v7.31240.
11. Lauri C., Glaudemans A.W.J.M., Signore A. Leukocyte imaging of the diabetic foot. *Curr. Pharm. Des.* 2018;24(12):1270–1276. DOI: 10.2174/1381612824666180227094116.
12. Diez A.I.G., Fuster D., Morata L. et al. Comparison of the diagnostic accuracy of diffusion-weighted and dynamic contrast-enhanced MRI with 18F-FDG PET/CT to differentiate osteomyelitis from Charcot neuro-osteoarthropathy in diabetic foot. *Eur. J. Radiol.* 2020;132:109299. DOI: 10.1016/j.ejrad.2020.109299.
13. Çıldağ M.B., Ertuğrul M.B., Köseoğlu Ö.F., Armstrong D.G. A Factor increasing venous contamination on bolus chase three-dimensional magnetic resonance imaging: Charcot neuro-osteoarthropathy. *J. Clin. Imaging Sci.* 2018;8:13. DOI: 10.4103/jcis.JCIS_77_17.
14. Uccioli L., Meloni M., Izzo V., Giurato L., Merolla S., Gandomi R. Critical limb ischemia: current challenges and future

- prospects. *Vasc. Health Risk Manag.* 2018;14:63–74. DOI: 10.2147/VHRM.S125065.
15. Zamyshevskaya M., Zavadovskaya V., Zorkaltsev M., Udodov V., Grigorev E. 3D DCE-MRA of pedal arteries in patients with diabetes mellitus. *Journal of Physics Conference Series.* 2016;677(1):012010. DOI: 10.1088/1742-6596/677/1/012010
 16. Liao D., Xie L., Han Y. et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging for differentiating osteomyelitis from acute neuropathic arthropathy in the complicated diabetic foot. *Skeletal Radiol.* 2018;47(10):1337–1347. DOI: 10.1007/s00256-018-2942-4.
 17. Zhang N., Fan Z., Luo N. et al. Noncontrast MR angiography (MRA) of infragenual arteries using flow-sensitive dephasing (FSD)-prepared steady-state free precession (SSFP) at 3.0 Tesla: comparison with contrast-enhanced MRA. *J. Magn. Reson. Imaging.* 2016;43(2):364–372. DOI: 10.1002/jmri.25003.
 18. Lam A., Perchyonok Y., Ranatunga D. et al. Accuracy of non-contrast quiescent-interval single-shot and quiescent-interval single-shot arterial spin-labelled magnetic resonance angiography in assessment of peripheral arterial disease in a diabetic population. *J. Med. Imaging Radiat. Oncol.* 2020;64(1):35–43. DOI: 10.1111/1754-9485.12987.
 19. Abdel Razek A.A.K., Samir S. Diagnostic performance of diffusion-weighted MR imaging in differentiation of diabetic osteoarthropathy and osteomyelitis in diabetic foot. *Eur. J. Radiol.* 2017;89:221–225. DOI: 10.1016/j.ejrad.2017.02.015.
 20. Eren M.A., Karakas E., Torun A.N., Sabuncu T. The Clinical value of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in diabetic foot infection. *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.* 2019;109(4):277–281. DOI: 10.7547/17-066.
 21. Lauri C., Tamminga M., Glaudemans A.W.J.M. et al. Detection of Osteomyelitis in the Diabetic Foot by Imaging Techniques: A Systematic Review and Meta-analysis Comparing MRI, White Blood Cell Scintigraphy, and FDG-PET. *Diabetes Care.* 2017;40(8):1111–1120. DOI: 10.2337/dc17-0532.
 22. Signore A., Jamar F., Israel O., Buscombe J., Martin-Comin J., Lazzeri E. Clinical indications, image acquisition and data interpretation for white blood cells and anti-granulocyte monoclonal antibody scintigraphy: an EANM procedural guideline. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2018;45(10):1816–1831. DOI: 10.1007/s00259-018-4052-x.
 23. Lauri C., Glaudemans A.W.J.M., Campagna G. et al. Comparison of White Blood Cell Scintigraphy, FDG PET/CT and MRI in Suspected Diabetic Foot Infection: Results of a Large Retrospective Multicenter Study. *J. Clin. Med.* 2020;9(6):1645. DOI: 10.3390/jcm9061645.
 24. Ahmed N., Fatima S., Saeed M.A., Zia M., Irfan Ullah J. 99m Tc-ceftizoxime: synthesis, characterization and its use in diagnosis of diabetic foot osteomyelitis. *J. Med. Imaging Radiat. Oncol.* 2019;63(1):61–68. DOI: 10.1111/1754-9485.12841.
 25. Ankrah A.O., Klein H.C., Elsinga P.H. New imaging tracers for the infected diabetic foot (nuclear and optical imaging). *Curr. Pharm. Des.* 2018;24(12):1287–1303. DOI: 10.2174/138162824666180227094454.
 26. Vouillarmet J., Moret M., Morelec I., Michon P., Dubreuil J. Application of white blood cell SPECT/CT to predict remission after a 6 or 12 week course of antibiotic treatment for diabetic foot osteomyelitis. *Diabetologia.* 2017;60(12):2486–2494. DOI: 10.1007/s00125-017-4417-x.
 27. Jeffcoate W.J. Osteomyelitis of the foot: non-surgical management, SPECT/CT scanning and minimizing the duration of antibiotic use. *Diabetologia.* 2017;60(12):2337–2340. DOI: 10.1007/s00125-017-4429-6.
 28. Ahluwalia R., Bilal A., Petrova N. et al. The role of bone scintigraphy with SPECT/CT in the characterization and early diagnosis of stage 0 Charcot neuroarthropathy. *J. Clin. Med.* 2020;9(12):4123. DOI: 10.3390/jcm9124123.
 29. Yang H., Zhuang H., Rubello D., Alavi A. Mild-to-moderate hyperglycemia will not decrease the sensitivity of 18F-FDG PET imaging in the detection of pedal osteomyelitis in diabetic patients. *Nucl. Med. Commun.* 2016;37(3):259–262. DOI: 10.1097/MNM.0000000000000434.
 30. Glaudemans A.W.J.M., Jutte P.C., Cataldo M.A. et al. Consensus document for the diagnosis of peripheral bone infection in adults: a joint paper by the EANM, EBJIS, and ESR (with ESCMID endorsement). *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2019;46(4):957–970. DOI: 10.1007/s00259-019-4262-x.
 31. Удодов В.Д., Зоркальцев М.А., Завадовская М.А. и др. Гибридная ОФЭКТ/МРТ в диагностике синдрома диабетической стопы. *Медицинская визуализация.* 2016;2:36–42.
 32. Meacock L., Petrova N.L., Donaldson A. et al. Novel semi quantitative bone marrow oedema score and fracture score for the magnetic resonance imaging assessment of the active Charcot foot in diabetes. *J. Diabetes Res.* 2017;2017:8504137. DOI: 10.1155/2017/8504137.
 33. Alvelo J.L., Papademetris X., Mena-Hurtado C. et al. Radio-tracer imaging allows for noninvasive detection and quantification of abnormalities in angiosome foot perfusion in diabetic patients with critical limb ischemia and nonhealing wounds. *Circ. Cardiovasc. Imaging.* 2018;11(5):e006932. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.117.006932
 34. Mahendra M., Singh R. Diagnostic accuracy and surgical utility of MRI in complicated diabetic foot. *J. Clin. Diagn. Res.* 2017;11(7):RC01–RC04. DOI: 10.7860/JCDR/2017/25902.10154.
 35. Chou T.H., Atway S.A., Bobbey A.J., Sarac T.P., Go M.R., Stacy M.R. SPECT/CT imaging a noninvasive approach for evaluating serial changes in angiosome foot perfusion in critical limb ischemia. *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2020;9(3):103–110. DOI: 10.1089/wound.2018.0924
 36. Chen H.J., Roy T.L., Wright G.A. Perfusion measures for symptom severity and differential outcome of revascularization in limb ischemia: preliminary results with arterial spin labeling reactive hyperemia. *J. Magn. Reson. Imaging.* 2018;47(6):1578–1588. DOI: 10.1002/jmri.25910.
 37. Zheng J., Muccigrosso D., Zhang X. et al. Oximetric angiosome imaging in diabetic feet. *J. Magn. Reson. Imaging.* 2016;44(4):940–946. DOI: 10.1002/jmri.25220.
 38. Edalati M., Hastings M.K., Muccigrosso D. et al. Intravenous contrast-free standardized exercise perfusion imaging in diabetic feet with ulcers. *J. Magn. Reson. Imaging.* 2019;50(2):474–480. DOI: 10.1002/jmri.26570.
 39. Stacy M.R., Qiu M., Papademetris X. et al. Application of BOLD Magnetic Resonance Imaging for Evaluating Regional Volumetric Foot Tissue Oxygenation: A Feasibility

- Study in Healthy Volunteers. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2016;51(5):743–749. DOI: 10.1016/j.ejvs.2016.02.008.
40. Forsythe R.O., Apelqvist J., Boyko E.J. et al. Performance of Prognostic Markers in the Prediction of Wound Healing or Amputation among Patients with Foot Ulcers in Diabetes: A Systematic Review. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews.* 2020;36(Suppl.1):e3278. DOI: 10.1002/dmrr.3278.
41. Lung C.W., Wu F.L., Liao F., Pu F., Fan Y. et al. Emerging technologies for the prevention and management of diabetic foot ulcers. *J. Tissue Viability.* 2020;29(2):61–68. DOI: 10.1016/j.jtv.2020.03.003.
42. Golledge J., Fernando M., Lazzarini P. et al. The potential role of sensors, wearables and telehealth in the remote management of diabetes-related foot disease. *Sensors.* 2020;20(16):4527. DOI: 10.3390/s20164527.
43. Bus S.A., Lavery L.A., Monteiro-Soares M. et al. Guidelines on the prevention of foot ulcers in persons with diabetes (IWGDF 2019 update). *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2020;36 (Suppl.1):e3269. DOI: 10.1002/dmrr.3269.
44. Lung C.W., Hsiao-Wecksler E.T., Burns S., Lin F., Jan Y.K. Quantifying dynamic changes in plantar pressure gradient in diabetics with peripheral neuropathy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2016;4:54. DOI: 10.3389/fbioe.2016.00054.
45. Bus S.A., Maas J.C., Otterman N.M. Lower-extremity dynamics of walking in neuropathic diabetic patients who wear a forefoot-offloading shoe. *Clin. Biomech. (Bristol, Avon).* 2017;50:21–26. DOI: 10.1016/j.clinbiomech.2017.10.003
46. Abbott C.A., Chatwin K.E., Foden P. et al. Innovative intelligent insole system reduces diabetic foot ulcer recurrence at plantar sites: a prospective, randomised, proof-of-concept study. *Lancet Digit Health.* 2019;1(6):e308–e318. DOI: 10.1016/S2589-7500(19)30128-1.
47. Fernando M.E., Crowther R.G., Lazzarini P.A. et al. Gait in people with nonhealing diabetes-related plantar ulcers. *Phys. Ther.* 2019;99(12):1602–1615. DOI: 10.1093/ptj/pzz119.
48. Brodie M.A., Okubo Y., Annegarn J., Wieching R., Lord S.R., Delbaere K. Disentangling the health benefits of walking from increased exposure to falls in older people using remote gait monitoring and multi-dimensional analysis. *Physiol. Meas.* 2017;38(1):45–62. DOI: 10.1088/1361-6579/38/1/45
49. Lee S.H., Lee H.J., Chang W.H. et al. Gait performance and foot pressure distribution during wearable robot-assisted gait in elderly adults. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2017;14(1):123. DOI: 10.1186/s12984-017-0333-z.
50. Kang S., Cho H., Jeon D. et al. A Matrix metalloproteinase sensing biosensor for the evaluation of chronic wounds. *Bio. Chip. J.* 2019;13:323–332. DOI: 10.1007/s1206-019-3403-4.
51. Luanraksa S., Jindatanmanusan P., Boonsiri T., Nimmanon T., Chaovanalikit T., Arnutt P. An MMP/TIMP ratio scoring system as a potential predictive marker of diabetic foot ulcer healing. *J. Wound Care.* 2018;27(12):849–855. DOI: 10.12968/jowc.2018.27.12.849.
52. Krisp C., Jacobsen F., McKay M.J., Molloy M.P., Steinstraesser L., Wolters D.A. Proteome analysis reveals antiangiogenic environments in chronic wounds of diabetes mellitus type 2 patients. *Proteomics.* 2013;13(17):2670–2681. DOI: 10.1002/pmic.201200502.
53. Jones J.I., Nguyen T.T., Peng Z., Chang M. Targeting MMP-9 in diabetic foot ulcers. *Pharmaceuticals (Basel).* 2019;12(2):79. DOI: 10.3390/ph12020079.
54. Ramirez-Acuña J.M., Cardenas-Cadena S.A., Marquez-Salas P.A. et al. Diabetic foot ulcers: current advances in antimicrobial therapies and emerging treatments. *Antibiotics (Basel).* 2019;8(4):193. DOI: 10.3390/antibiotics8040193.
55. Shao M., Hussain Z., Thu H.E. et al. Emerging trends in therapeutic algorithm of chronic wound healers: recent advances in drug delivery systems, concepts-to-clinical application and future prospects. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems.* 2017;34(5):387–452. DOI: 10.1615/critrevther-drugcarriersyst.2017016957.
56. Jneid J., Cassir N., Schuldrin S. et al. Exploring the microbiota of diabetic foot infections with culturomics. *Front Cell Infect. Microbiol.* 2018;8:282. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00282.
57. Malone M., Johani K., Jensen S.O. et al. Next generation DNA sequencing of tissues from infected diabetic foot ulcers. *eBioMedicine.* 2017;21:142–149. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.06.026.
58. Park J.U., Oh B., Lee J.P., Choi M.H., Lee M.J., Kim B.S. Influence of microbiota on diabetic foot wound in comparison with adjacent normal skin based on the clinical features. *Biomed. Res. Int.* 2019;2019:7459236. DOI: 10.1155/2019/7459236.

Вклад авторов

Зоркальцев М.А. – планирование концепции и дизайна исследования. Завадовская В.Д., Саприна Т.В. – редактирование текста рукописи и предоставление экспертной оценки, внесение правок. Замышевская М.А. – написание и редактирование разделов «Магнитно-резонансная диагностика при СДС» и «Методы оценки перфузии тканей при СДС». Удодов В.Д. – написание и редактирование раздела «Радионуклидная диагностика при СДС». Шестаков А.В. – написание и редактирование раздела «Другие неинвазивные методы диагностики и предикторы ампутации нижних конечностей у пациентов с СДС». Михайлова А.А. – написание и редактирование раздела «Другие неинвазивные методы диагностики и предикторы ампутации нижних конечностей у пациентов с СДС». Лойко Ю.Н. – написание раздела «Методы оценки перфузии тканей при СДС». Мусина Н.Н. – получение и первичный скрининг данных, анализ данных и интерпретация. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Информация об авторах

Зоркальцев Максим Александрович – д-р мед. наук, доцент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, Zorkaltsev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0025-2147>

Завадовская Вера Дмитриевна – д-р мед. наук, профессор, и.о. зав. кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, Wdzav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6231-7650>

Саприня Татьяна Владимировна – д-р мед. наук, профессор, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, зав. эндокринологической клиникой СибГМУ, г. Томск, Tanja.v.saprina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9011-8720>

Замышевская Мария Александровна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, Zamyshevskayamari@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7582-3843>

Удодов Владимир Дмитриевич – канд. мед. наук, ассистент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, Uododov.vd@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1321-7861>

Шестаков Александр Владимирович – аспирант, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, Shestakov1808@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9648-8255>

Михайлова Арина Алексеевна – студент 6-го курса, лечебный факультет, СибГМУ, г. Томск, Armikhaylova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6066-3525>

Лойко Юлия Николаевна – ординатор, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, Loikojulian@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1889-4554>

Мусина Надежда Нурлановна – аспирант, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, Nadiezhda-musina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7148-6739>

(✉) **Зоркальцев Максим Александрович**, Zorkaltsev@mail.ru

Поступила в редакцию 06.08.2021;
одобрена после рецензирования 23.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.12-008.46-036.12-08:001.894
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-181-197>

Перспективные направления лечения хронической сердечной недостаточности: совершенствование старых или разработка новых?

**Калюжин В.В.¹, Тепляков А.Т.², Беспалова И.Д.¹, Калюжина Е.В.¹, Терентьева Н.Н.³,
Гракова Е.В.², Копьева К.В.², Усов В.Ю.², Гарганеева Н.П.¹, Павленко О.А.¹,
Горелова Ю.В.¹, Тетенева А.В.¹**

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

² Научно-исследовательский институт кардиологии (НИИ кардиологии) Томского национального
исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, Томск, ул. Киевская, 111а

³ Сургутский государственный университет (СурГУ)
Россия, 628412, Сургут, пр. Ленина, 1

РЕЗЮМЕ

Беспрецедентные достижения последних десятилетий в области клинической фармакологии, кардиохирургии и имплантационной аритмологии значительно улучшили прогноз у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), однако, к сожалению, сердечная недостаточность продолжает ассоциироваться с высокой смертностью. Решение этой проблемы видится одновременно в максимально полном применении в клинической практике всех актуальных возможностей непрерывно совершенствующихся методов лечения сердечной недостаточности, доказавших свою эффективность в рандомизированных контролируемых исследованиях (особенно при подтверждении результатами исследований реальной клинической практики), с одной стороны, а также в разработке и оперативном внедрении инновационных подходов к терапии ХСН – с другой. Больше всего в этом нуждаются пациенты с ХСН с умеренно сниженной и сохранной фракцией выброса левого желудочка, бедная доказательная база возможности улучшения прогноза у которых не может обосновывать бездействие и оставление их без надежды хотя бы на клиническое улучшение состояния. В лекции последовательно рассмотрены общие принципы лечения ХСН, комплекс мероприятий, направленный на инотропную стимуляцию и разгрузку (нейрогормональную, объемную, гемодинамическую и иммунную) сердца, а также обозначены некоторые перспективные направления болезнь-модифицирующей терапии.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, лечение, нейрогормональные модуляторы, сакубитрил/валсартан, пекаваптан, финерон, верицигуат, ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа, омекамтив мекарбиль, генная терапия, сердечная ресинхронизирующая терапия, модуляция сердечной сократимости, трансплантация сердца, имплантация аппарата вспомогательного кровообращения

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: Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Терентьева Н.Н., Гракова Е.В., Копьева К.В., Усов В.Ю., Гарганеева Н.П., Павленко О.А., Горелова Ю.В., Тетенева А.В. Пер-

спективные направления лечения хронической сердечной недостаточности: совершенствование старых или разработка новых? *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):181–197. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-181-197>.

Promising directions in the treatment of chronic heart failure: improving old or developing new ones?

Kalyuzhin V.V.¹, Teplyakov A.T.², Bespalova I.D.¹, Kalyuzhina E.V.¹, Terentyeva N.N.³, Grakova E.V.², Kopeva K.V.², Usov V.Yu.², Garganeeva N.P.¹, Pavlenko O.A.¹, Gorelova Yu.V.¹, Teteneva A.V.¹

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

³ Surgut State University

1, Lenina Av., Surgut, 628412, Russian Federation

ABSTRACT

Unprecedented advances of recent decades in clinical pharmacology, cardiac surgery, arrhythmology, and cardiac pacing have significantly improved the prognosis in patients with chronic heart failure (CHF). However, unfortunately, heart failure continues to be associated with high mortality. The solution to this problem consists in simultaneous comprehensive use in clinical practice of all relevant capabilities of continuously improving methods of heart failure treatment proven to be effective in randomized controlled trials (especially when confirmed by the results of studies in real clinical practice), on the one hand, and in development and implementation of innovative approaches to CHF treatment, on the other hand. This is especially relevant for CHF patients with mildly reduced and preserved left ventricular ejection fraction, as poor evidence base for the possibility of improving the prognosis in such patients cannot justify inaction and leaving them without hope of a clinical improvement in their condition. The lecture consistently covers the general principles of CHF treatment and a set of measures aimed at inotropic stimulation and unloading (neurohormonal, volumetric, hemodynamic, and immune) of the heart and outlines some promising areas of disease-modifying therapy.

Keywords: chronic heart failure, treatment, neurohormonal modulators, sacubitril / valsartan, pecavaptan, fineron, vericiguat, sodium – glucose cotransporter type 2 inhibitors, omecamtiv mecarbil, gene therapy, cardiac resynchronization therapy, cardiac contractility modulation, heart transplantation, implantation of a circulatory assist device

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: Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Bespalova I.D., Kalyuzhina E.V., Terentyeva N.N., Grakova E.V., Kopeva K.V., Usov V.Yu., Garganeeva N.P., Pavlenko O.A., Gorelova Yu.V., Teteneva A.V. Promising directions in the treatment of chronic heart failure: improving old or developing new ones? *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):181–197. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-181-197>.

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря прогрессу клинической фармакологии, кардиохирургии и имплантационной аритмологии последние десятилетия ознаменовались значитель-

ными успехами в лечении пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), однако, к сожалению, отдаленные результаты так называемой оптимальной терапии нередко продолжают вызывать разочарование [1–4]. Прогноз у пациентов с ХСН

является одним из самых плохих, хотя это нередко плохо осознается практикующими врачами [5–10].

В связи с этим становится понятной высокая потребность в фундаментальных и прикладных исследованиях, направленных на совершенствование существующих болезнь-модифицирующих подходов к лечению пациентов с ХСН, с одной стороны, и на поиск новых прорывных направлений фармакологической и нефармакологической коррекции дисфункции сердца – с другой.

Целью настоящей лекции является обсуждение перспективных направлений лечения пациентов с ХСН.

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ЛЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Лечебные подходы при ХСН многочисленны, к ним относят общие мероприятия, фармакотерапию, электрофизиологические методы лечения, хирургические вмешательства и механическую поддержку кровообращения. Естественно, в каждом конкретном случае эти методы используются в том или ином сочетании [11, 12]. Необоснованное игнорирование какого-либо из этих методов лечения (например, немедикаментозных мероприятий) затрудняет достижение конечного успеха [12].

Повысить качество и продолжительность жизни пациентов с ХСН можно с помощью этиотропной и патогенетической терапии. Персонифицированный подход к лечению прежде всего диктует необходимость учета этиологической неоднородности группы пациентов с ХСН [13–15]. Поскольку состояния, которые осложняются развитием сердечной недостаточности, различны по своему патогенезу, создание универсальных алгоритмов терапии затруднительно [11, 14]. Тем не менее очевидно, что правильно подобранное лечение заболевания, лежащего в основе ХСН, во многих случаях может значительно уменьшить выраженность проявлений сердечной декомпенсации, а иногда позволяет полностью избавить от них пациента (например, после успешной хирургической коррекции порока сердца) [1, 16]. В первую очередь речь идет о лечении ишемии и острого инфаркта миокарда, предотвращении повторных инфарктов, тщательном выявлении и активном лечении лиц с артериальной гипертензией, сахарным диабетом, ожирением и дислипидемией, а также устранении причин специфического поражения миокарда, своевременной коррекции патологии клапанов и пороков сердца [1, 11].

В клинической ситуации, когда устранение причины возникновения заболевания временно невозможна (например, если в связи с наличием тяжелой

недостаточности кровообращения радикальное лечение основного заболевания невыполнимо), патогенетическая и симптоматическая терапия должна быть направлена на уменьшение клинических проявлений ХСН и создание условий, которые бы позволили вновь вернуться к вопросу об этиотропном лечении [16].

Все современные методы лечения сердечной недостаточности, направленные на улучшение прогноза, можно свести в несколько основных групп, каждая из которых имеет конкретную цель [4, 17]: 1) блокада гибели кардиомиоцитов (некроза и апоптоза) и утраты клеточных органелл (аутофагия); 2) улучшение люситропной и инотропной функций сердца (повышение сердечного выброса, ресинхронизация сердечной деятельности и модуляция сердечной сократимости); 3) уменьшение выраженности патологического ремоделирования сердца (дилатации и сферификации камер, повышения массы миокарда); 4) сохранение и приумножение популяции активно сокращающихся кардиомиоцитов (выход кардиомиоцитов из состояния гибернации и оглушения или создание новых кардиомиоцитов). Дискретность этих целей достаточно условна, так как во многих случаях применение отдельных современных методов лечения ХСН (например, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента) обеспечивает комплекс саногенных эффектов, выходящих за рамки одной цели.

Поскольку сердечная недостаточность, как правило, является заболеванием пожилых людей, она зачастую ассоциируется с другими заболеваниями и синдромами, такими как диабет, ожирение, анемия, почечная недостаточность, хроническая обструктивная болезнь легких, нарушения дыхания во сне, депрессия и гиперкалиемия, которые увеличивают вероятность негативного исхода и должны скрупулезно фиксироваться в диагностическом заключении [18–21]. Адаптация существующих и новых схем лечения ХСН для синхронного решения этих проблем теоретически может способствовать повышению выживаемости пациентов с коморбидной патологией, особенно с сохраненной фракцией выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) [1, 22–24].

НЕЙРОГОРМОНАЛЬНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ

Современная концепция медикаментозного лечения больных сердечной недостаточностью может быть сведена к двум главным принципам: инотропная стимуляция и разгрузка (объемная, гемодинамическая, нейрогормональная, иммунная) сердца [16, 25]. В связи с разочарованием в инотропных стимуляторах в конце прошлого века в рамках эволюции

парадигмы патогенеза сердечной недостаточности произошел пересмотр доминирующей роли контракtilной недостаточности миокарда в ее механизмах, особенно на ранней стадии [26–29]. В начале нулевых ни у кого не осталось сомнений в том, что в наибольшей степени повышение выживаемости пациентов с ХСН обеспечивает нейрогуморальная разгрузка сердечно-сосудистой системы, так же как и в целесообразности применения ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (или антагонистов рецепторов к ангиотензину II), бета-адреноблокаторов и антагонистов минералокортикоидных рецепторов [30, 31]. Однако даже при комбинированном использовании (так называемая тройная нейрогормональная блокада) препараты этих групп не стали панацеей в лечении ХСН, а известный предел возможностей нейрогормональных модуляторов (снижение риска смерти не превышает 23–35%) заставил вести поиск принципиально новых мишени для медикаментозного воздействия на функциональное состояние нейроэндокринных систем, активированных при этом синдроме на циркуляционном и, что более важно, на тканевом уровне [17, 22, 30, 32, 33].

К сожалению, проверка гипотезы о том, что подключение к лечению новых селективных блокаторов нейрогормональных систем может продолжать приносить дополнительные преимущества, привела к разочарованию исследователей, изучающих эффективность ингибиторов эндопептидазы (омапатрилат), ренина (алискирен) или антагонистов эндотелиновых рецепторов (бозентан, дарузентан) [30]. Известные кардиологи стали рассматривать с пессимизмом перспективу создания новых эффективных нейрогормональных ингибиторов для лечения ХСН в связи с тем, что на деле оказалось не так просто достичнуть полной нейрогормональной блокады (во многом за счет эффекта «кусользания» нейрогормонов), и последняя не является физиологичной, так как эндокринные, паракринные и аутокринные регуляторные эффекты гормонов при развитии сердечной недостаточности не стоит рассматривать как исключительно патологические [17, 34].

Когда стало казаться, что фармакологический конвейер создания новых эффективных нейрогормональных модуляторов для профилактики и лечения ХСН с низкой ФВ ЛЖ остановился, при поиске предпочтительных направлений разработки фармацевтических субстанций фокус внимания сместился с изолированного противодействия так называемым плохим нейроэндокринным реакциям на сбалансированную модуляцию с одновременной стимуляцией активности «полезных» гормональных регуляторных осей [22, 34, 35]. Успешность этой концепции

была подтверждена в клинических исследованиях, в которых ингибитор неприлизина сакубитрил в составе кристаллизированного единого надмолекулярного комплекса, включающего наряду с шестью молекулами последнего также шесть молекул валсартана [36], обеспечил превосходство над «чистым» блокатором ренин-ангиотензин-альдостероновой системы эналаприлом в отношении улучшения прогноза и качества жизни у пациентов с ХСН [17, 37–40]. Восстановление нормального баланса различных по направленности действия нейрогормонов достигалось за счет имеющего саногенные эффекты (вазодилатация, повышение уровня диуреза/натрийуреза, замедление патологического ремоделирования кардиомиоцитов и внеклеточного матрикса сердца) ингибирования деградации вазоактивных пептидов (натрийуретический пептид, брадикинин, субстанция Р и пептид, связанный с геном кальцитонина).

Необходимость своевременного назначения трехкомпонентной терапии, включающей бетадреноблокатор, антагонист минералокортикоидных рецепторов и нейрогуморальный модулятор сакубитрил/валсартан, продлевающей жизнь пациентам с ХСН с низкой ФВ ЛЖ, подчеркивается в последнем руководстве Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности [1]. Однако J. Lindenfeld и M. Jessup совершенно точно указали, используя цитату С.Е. Коор «Лекарства не действуют на пациентов, которые их не принимают» [41], что низкая активность врачей в назначении такой терапии в 2–3 раза повышает шансы пациента умереть [42, 43]. Неудовлетворительная приверженность интернистов современным принципам терапии ХСН, эффективность которых была доказана в крупных клинических исследованиях, требует больших образовательных усилий [11]. Врачи должны понимать, что несмотря на известный лимит возможностей нейрогормональных модуляторов, наиболее реальным способом повышения эффективности (увеличения продолжительности жизни) лечения больных ХСН (как с декомпенсированной, так и стабильной) с низкой ФВ ЛЖ является увеличение охвата их такой терапией [44–47]. Иными словами, практикующие врачи, пребывая в ожидании скорого появления волшебного средства лечения, не должны подвергать своим бездействием пациентов с ХСН неприемлемо высокому риску смерти. Применение всех актуальных возможностей непрерывно совершенствующейся нейрогуморальной модуляции должно стать для них незыбленым каноном.

Более того, результаты субанализа исследования PARAGON-HF и метаанализа исследований PARAGON-HF и PARADIGM-HF, продемонстри-

ровавшие потенциал болезнь-модифицирующей активности сакубитрила/валсартана и снижение числа госпитализаций в связи с декомпенсацией сердечной недостаточности, которые выходили за рамки ХСН с низкой ФВ ЛЖ, делают возможным обсуждение целесообразности применения комбинации этих препаратов вне зависимости от значения этого показателя контракtilной функции ЛЖ [1, 48, 49]. В этом плане есть основания ожидать эволюции доказательной базы [50–52].

Потенциал развития обсуждаемого направления патогенетической терапии ХСН не является исчерпанным. В частности, известная роль накапливающегося в задней доле гипофиза (нейрогипофиз) пептидного гормона гипоталамуса вазопрессина (антидиуретический гормон) в механизмах задержки жидкости, а также ремоделирования и дисфункции сердца и сосудов у пациентов с ХСН, позволяет рассматривать последний в качестве мишени фармакологического вмешательства [53, 54]. Так называемые акваретики (ваптаны) с успехом применяются у пациентов с ХСН, ассоциированной с выраженной гиперволемической гипонатриемией [1]. Так как терапия наиболее изученным селективным конкурентным антагонистом почечных V2-рецепторов вазопрессина толваптаном не оказывает влияния на прогноз пациента с ХСН, основное внимание в настоящее время уделяется применению двойных антагонистов вазопрессина, имеющих потенциальное преимущество за счет одновременной блокады васкулярных V1a рецепторов [55, 56]. В частности, в настоящее время выполняется несколько экспериментальных и клинических исследований, сфокусированных на анализе эффективности и безопасности неселективного антагониста V1a/V2-рецепторов вазопрессина пекаваптана [57, 58].

Через 60 лет после пророческих публикаций H. Selye, в которых было подчеркнуто значение альдостерона в механизмах фиброза сердца и почек, несколько фармацевтических компаний, вдохновленных успехом применения для лечения ХСН его стероидных антагонистов (спиронолактон, эplerонон), инициировали поиск новых нестериоидных антагонистов минералокортикоидных рецепторов с определенными фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами, способных обеспечить теоретическое и практическое преимущество перед препаратами 1-го и 2-го поколений [59]. В разработке находятся несколько субстанций антагонистов минералокортикоидных рецепторов 3-го поколения, но в наибольшей степени условиям поиска, по-видимому, отвечает финерон, первые результаты клинического применения которого указывают на то, что

его преимущества над классическими препаратами 1-го и 2-го поколений далеко выходят за рамки теоретических [60–64].

У находящихся в состоянии острой декомпенсации пациентов с нормальным или повышенным системным артериальным давлением для преодоления рефрактерности к диуретикам могут быть добавлены гормональные вазодилататоры, из которых наиболее перспективным выглядит применение серелаксина (рекомбинантный аналог человеческого релаксина-2), низких доз несиритида (рекомбинантный человеческий мозговой наутрийуретический пептид) [65, 66].

Наконец, модулировать в необходимом направлении (увеличивать или уменьшать) биологические эффекты ряда гормонов и нейромедиаторов можно путем воздействия на их вторичные посредники. Например, саногенные эффекты (вазодилатация и уменьшение выраженности коронарной микрососудистой дисфункции, замедление развития фиброза и гипертрофии миокарда, повышение скорости и плотности релаксации кардиомиоцитов в диастолу, улучшение желудочно-артериального сопряжения, а также увеличение сердечного резерва) стимулятора рецептора растворимой гуанилатциклазы верицигуата обеспечивают при его длительном применении у пациентов с ХСН с низкой ФВ ЛЖ улучшение прогноза (снижение вероятности смерти от сердечно-сосудистых причин) и снижение потребности в госпитализации по поводу декомпенсации [25, 67, 68].

В последнем руководстве Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности указано на то, что верицигуат может быть рассмотрен у пациентов ХСН с низкой ФВ ЛЖ II–IV функционального класса, у которых наблюдается ухудшение течения сердечной недостаточности, несмотря на комбинированную терапию ингибитором ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокатором и антагонистом минералокортикоидных рецепторов [1]. Другой стимулятор растворимой гуанилатциклазы риоцигуат в настоящее время推薦ован (в том числе в комбинации с антагонистами рецепторов эндотелина или простаноидами) для коррекции легочной артериальной гипертензии и портопульмональной гипертензии [69].

ИНГИБИТОРЫ НАТРИЙ-ГЛЮКОЗНОГО КОТРАНСПОРТЕРА 2-ГО ТИПА

Что касается поиска новых направлений лечения ХСН, то наиболее удачным стал вектор, ориентированный на применение сахароснижающих препаратов из группы ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа (ИНГТ-2). Убедительные доказа-

тельства эффективности так называемых глифлозинов позволили экспертам Европейского общества кардиологов обозначить в 2021 г. два селективных ИНГТ-2 (дапаглифлозин и эмпаглифлозин) как 4-й компонент оптимальной терапии ХСН первой линии («волшебная четверка»), включающей обсуждаемые выше нейрогормональные модуляторы [1, 70]. При этом диуретический (осмотический диурез) и небольшой натрийуретический эффекты рассматриваемых ИНГТ-2 не связаны с уровнем глюкозы в крови, а их назначение пациентам с ХСН II–IV функционального класса и низкой ФВ ЛЖ обеспечивает снижение кардиоваскулярной смертности и потребности в госпитализации в связи с декомпенсацией сердечной недостаточности вне зависимости от наличия и выраженности нарушений углеводного обмена [70, 71].

Позитивное аддитивное действие этих лекарственных средств на выживаемость пациентов с ХСН с низкой ФВ ЛЖ, уже принимающих оптимальную терапию, основанную на тройной нейрогормональной блокаде (сакубитрил/валсартан или ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокатор, антагонист минералокортикоидных рецепторов), должно побуждать практикующих врачей как можно быстрее транслировать достижения клинических исследований в повседневную практику [47]. При этом накапливающиеся данные о высокой эффективности обсуждаемых глифлозинов в широком диапазоне значений ФВ ЛЖ, по-видимому, позволят в ближайшее время обосновать расширение показаний к их назначению за счет ХСН с умеренно (такой вариант перевода *mildly* звучит лучше, чем фактически разговорное «слегка», дающее повод для иронического иносказания – «слегонца») сниженной и сохранной ФВ ЛЖ [52, 72–74].

Есть основания предполагать наличие у ИНГТ-2 так называемого класс-эффекта и можно ожидать расширения линейки препаратов этой группы, предназначенных для лечения ХСН за счет других селективных ингибиторов котранспортера 2-го типа (например, канаглифлозин и эртуглифлозин) и неселективных ингибиторов котранспортера 1-го и 2-го типов (например, сотаглифлозин) [75–79].

Возможно, успех ИНГТ-2 могут повторить и другие гипогликемические средства. Ближе всего к доказательству эффективности при сердечной недостаточности подошли длительно действующие аналоги глюкагоноподобного пептида-1 [80–82].

ИНОТРОПНЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ

Сердечные гликозиды, являющиеся до конца прошлого века «классическими» препаратами для лечения ХСН, в настоящее время (дигоксин и, воз-

можно, дигитоксин) сохраняют место лишь в арсенале вспомогательных средств, которые не влияют на прогноз, но улучшают симптоматику в отдельных клинических ситуациях. На практике этих клинических ситуаций всего две. Во-первых, манифестирующая сердечная недостаточность, ассоциированная с фибрилляцией предсердий с высокой частотой сердечных сокращений, когда другие терапевтические подходы (например, изоляция легочных вен или эффективные дозы бета-адреноблокаторов из-за артериальной гипотензии) не могут быть применены [1]. Напомним, к слову, что при синусовом ритме с частотой сердечных сокращений в покое 70 ударов в минуту и более, когда, несмотря на комбинированную терапию оптимальными дозами препаратов первой линии тахисистолия персистирует, у пациентов с симптомной сердечной недостаточностью и значением ФВ ЛЖ 35% и менее к лечению рекомендуется добавить селективный блокатор If-каналов синусового узла ивабрадин, с тем чтобы уменьшить риск госпитализации и смерти от сердечно-сосудистых причин [1, 83]. Во-вторых, клинически выраженная ХСН с низкой ФВ ЛЖ у пациентов с синусовым ритмом, когда симптомы сохраняются несмотря на лечение ингибитором ангиотензинпревращающего фермента (или сакубитрилом/валисартаном), бета-адреноблокатором и антагонистом минералокортикоидных рецепторов [1, 55].

Следует отметить, что основной механизм действия рекомендуемых для клинической практики малых доз дигоксина связан не с инотропным эффектом препарата, а с его нейромодуляторной активностью. Речь идет об ослаблении активности симпатической нервной системы и снижении секреции ренина, сопряженных с угнетением K^+-Na^+ -зависимой АТФазы соответственно в афферентных волокнах блуждающего нерва и почечных канальцах [12, 55].

Краткосрочное применение негликозидных инотропных стимуляторов ограничено клинической ситуацией с низким сердечным выбросом и нестабильностью гемодинамики при прогрессирующей и острой сердечной недостаточности [1, 4, 55]. Применение в такой ситуации находят вазоконстрикторы (например, норэpineфрин, мидодрин и вазопрессин), инотропы с вазоконстрикторными свойствами (например, допамин, эпинефрин и дроксизодопа), кардиотоники (например, добутамин, милринон), а также инодилататоры, среди которых, по мнению ряда экспертов, наиболее перспективным является применение левосимендана (допустимо применение при отсутствии выраженного снижения систолического артериального давления >85 мм рт. ст.) [1, 84, 85]. Однако, несмотря на кратковременное улучшение

гемодинамики и клинического статуса больных с декомпенсированной сердечной недостаточностью, длительная терапия негликозидными инотропными стимуляторами может ассоциироваться с повышением риска смерти [12, 86].

Светом в конце туннеля для пациентов с тяжелой сердечной недостаточностью, ассоциированной с низким сердечным выбросом и нестабильностью гемодинамики, у которых современные возможности фармакотерапии ограничены, может стать применение представителя нового класса миотропных соединений омекамтина мекарбила, являющегося селективным активатором сердечного миозина [87, 88]. Post hoc анализ результатов рандомизированного клинического исследования GALACTIC-HF, в качестве первичной конечной точки в котором учитывались эпизод декомпенсации ХСН или сердечно-сосудистая смерть, продемонстрировал позитивное влияние омекамтина мекарбила на прогноз пациентов с тяжелой сердечной недостаточностью, соответствующей III и IV функциональному классу, и низкой ФВ ЛЖ (<30 %) [88].

Другим относительно новым направлением неапаратной инотропной поддержки является модуляция 2a изоформы Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума (SERCA2a), экспрессия и активность которой при ХСН снижены, что приводит к нарушению движения внутриклеточного кальция между цитозолем и просветом саркоплазматического ретикулума и негативно влияет на механику систолы и диастолы. Модуляция SERCA2a у пациентов с ХСН может быть достигнута посредством генной терапии (интракоронарное или эндомиокардиальное введение вирусных и плазмидных векторов, кодирующих SERCA2a или другие белки семейства Ca^{2+} -модулирующих протеинов) [89, 90].

Поскольку взаимосвязь между возбуждением и сокращением миокарда при ХСН нарушается на самых разных уровнях (рецепторы, ионные каналы и транспортеры, состояние фосфорилирования белков, которые модифицируют функцию кардиомиоцита и др.), для направленной коррекции дезадаптивных сдвигов могут быть выбраны самые разнообразные мишени, начиная от ферментов и заканчивая структурными белками и цитопротекторными факторами. Особенно высокое значение эти подходы имеют при наследственных заболеваниях с поражением сердца. Несмотря на противоречивые результаты попыток переноса в клинику многообещающих результатов лабораторных исследований по модификации генетических программ и дополнительных трансляционных механизмов, интерес к данному направлению сохраняется, но еще очень многое необходимо сде-

лать, чтобы доказать совершенство систем доставки и внутриклеточного переноса, а также эффективность и безопасность обсуждаемых подходов к терапии ХСН, прежде чем методы генной терапии и постгеномной медицины войдут в стандартные протоколы лечения [90–94].

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ

В дополнение к оптимальной медикаментозной терапии в селективных группах пациентов с ХСН с низкой ФВ ЛЖ более 20 лет с успехом применяются электрофизиологические методы лечения: имплантация обычных электрокардиостимуляторов (актуальна для пациентов с синдромом слабости синусового узла и атриовентрикулярной блокадой высокой степени), сердечная ресинхронизирующая терапия (эффективность трехкамерной стимуляции доказана у пациентов с выраженной систолической дисфункцией и расширенным комплексом QRS) и имплантация кардиовертера-дефибриллятора (используется для первичной и вторичной профилактики потенциально фатальных нарушений ритма сердца). Последние два метода, которые могут комбинироваться (кардиостимулятор с функцией дефибриллятора) у одного больного, рекомендованы во всех современных руководствах по лечению ХСН с подробной детализацией показаний к применению, которые зависят от длительности QRS, уровня снижения значения ФВ ЛЖ, функционального класса ХСН, основного ритма сердца (синусовый или фибрилляция предсердий), риска фатальных аритмий, этиологии сердечной недостаточности, наличия и тяжести сопутствующей патологии, возраста, а также ожидаемой продолжительности жизни [1, 12, 95, 96].

Электрофизиологические методы лечения непрерывно совершенствуются, и в настоящее время продолжают активно изучаться эффективность и безопасность устройств модуляции сердечной сократимости, имплантируемых пациентам с симптомной ХСН с низкой ФВ ЛЖ, не подходящим для проведения сердечной ресинхронизирующей терапии (с «узким» комплексом QRS) или не получившим достаточного клинического эффекта от ее применения. Метод основан на двухэлектродной стимуляции межжелудочковой перегородки двухфазным импульсом высокого напряжения в абсолютный рефрактерный период, а его применение обеспечивает увеличение сократимости сердца за счет позитивных сдвигов состояния внутриклеточного кальциевого гомеостаза (повышение экспрессии SERCA2a или других белков семейства Ca^{2+} -модулирующих протеинов) без увеличения потребления миокардом

кислорода, а также улучшает функциональное состояние и качество жизни и, возможно, предотвращает госпитализацию указанных пациентов [1, 97].

Пока недостаточно данных, касающихся оценки эффективности и безопасности применения у пациентов с ХСН других имплантируемых электротерапевтических устройств, в частности направленных на модификацию активности вегетативной нервной системы (например, барорефлексотерапии), для того чтобы принять решение о возможности их применения в клинической практике [1, 98, 99].

ЛЕЧЕНИЕ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Пациенты с симптомами ХСН, соответствующей III и IV функциональному классу, которые персистируют, несмотря на оптимальную медикаментозную терапию, а также (при наличии соответствующих показаний) сердечную ресинхронизирующую терапию, и ассоциируются с объективными признаками тяжелой дисфункции сердца, такими как выраженная систолическая и (или) диастолическая дисфункция ЛЖ, высокое давление наполнения желудочков и повышение уровня натрийуретических пептидов в плазме крови, нуждаются в своевременном направлении в специализированный центр, где применяются передовые методы лечения сердечной недостаточности, недоступные в обычной клинике [1, 100–102].

При неэффективности других способов дегидратации у этих пациентов возможно применение экстракорпоральной ультрафильтрации (предпочтительны щадящие режимы с использованием минимального объема экстракорпоральный кровь и скоростью ультрафильтрации не более 250 мл/ч) и перitoneального диализа [12, 102–104].

С учетом того, что обоснованное заключение о прогрессирующей сердечной недостаточности практически не оставляет надежды на успех фармакотерапии, пациентам остается надеяться на хирургическое лечение, трансплантацию сердца или имплантацию аппарата вспомогательного кровообращения [102, 105, 106].

Конвенционное хирургическое лечение направлено на коррекцию этиологических факторов, а также ведущих механизмов, лежащих в основе ХСН. Речь идет, например, о реваскуляризации ишемизированного, но жизнеспособного миокарда у пациентов со значением ФВ ЛЖ, не превышающим 35%, протезировании аортального клапана (транскатетерная имплантация предпочтительнее в ситуации высокого периоперационного риска) при тяжелом симптоматическом стенозе аортального клапана со

средним градиентом давления выше 40 мм рт. ст. или при тяжелой аортальной регургитации у всех пациентов с симптомами и бессимптомных больных с ФВ ЛЖ менее или равной 50%, а также об операции по коррекции митральной регургитации (эндоваскулярная постановка клипсы митрального клапана теоретически выглядит более оправданной в ситуации высокого периоперационного риска), в том числе и при вторичной (вследствие дилатации ЛЖ) митральной недостаточности тяжелой степени (особенно у пациентов с ФВ ЛЖ менее 30%), которую не удается корректировать с помощью фармакотерапии и электрофизиологических методов лечения [102, 105, 107, 108].

Невзирая на отсутствие хорошо организованных контролируемых исследований, в кардиологическом сообществе распространено мнение о том, что пересадка сердца в финальной стадии ХСН в значительно большей степени повышает выживаемость (однолетняя выживаемость около 90% и медиана выживаемости 12,2 года), физическую работоспособность и качество жизни по сравнению с обычным лечением при условии тщательного соблюдения надлежащих критериев отбора (золотой стандарт лечения рефрактерной ХСН) [102, 109].

Длительная механическая поддержка кровообращения все чаще рассматривается в качестве альтернативы пересадке сердца у пациентов с терминальной стадией ХСН, у которых по объективным или субъективным причинам трансплантация невыполнима [1, 102, 110, 111].

ДРУГИЕ ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ХСН

Неполный перечень достойных отдельного обсуждения перспективных подходов к лечению пациентов с ХСН, разрабатываемых в настоящее время или уже доказавших свою эффективность, но нуждающихся в более широком применении в клинической практике, представлен в таблице.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Беспрецедентные достижения вторичной профилактики значительно улучшили прогноз у пациентов с ХСН, однако, к сожалению, сердечная недостаточность продолжает ассоциироваться с высокой смертностью. Перманентный прогресс в решении этой проблемы видится одновременно в максимально полном применении в клинической практике всех актуальных возможностей непрерывно совершенствующихся методов лечения сердечной недостаточности, доказавших свою эффективность в рандомизированных контролируемых исследованиях

(особенно при подтверждении результатами исследований реальной клинической практики), с одной стороны, а также в разработке и оперативном внедрении инновационных подходов к терапии ХСН – с другой. Больше всего в этом нуждаются пациенты

с ХСН с умеренно сниженной и сохранной ФВ ЛЖ, бедная доказательная база возможности улучшения прогноза у которых не может обосновывать бездействие и оставление их без надежды хотя бы на клиническое улучшение состояния [175].

Таблица

Некоторые перспективные подходы к лечению пациентов с ХСН	
Лечебные подходы	Примечание
Коррекция дефицита железа (концентрация ферритина в сыворотке крови менее 100 мг/л или в диапазоне от 100 до 300 мг/л в сочетании со значением коэффициента насыщения трансферрина железом менее 20%), который выявляется примерно у каждого второго пациента с ХСН [112]	<p>Анемия, которая у пациентов с ХСН в 75% случаев имеет железодефицитную природу, является независимым фактором плохого прогноза при любой этиологии сердечной недостаточности и каком угодно значении ФВ ЛЖ [12, 113, 114]. Дефицит железа следует рассматривать как самостоятельное клинически значимое сопутствующее состояние и, следовательно, с целью снижения потребности в госпитализации, уменьшения клинической выраженности ХСН, а также улучшения функциональных возможностей и качества жизни пациентов целесообразно корректировать даже латентный железодефицит [1, 113].</p> <p>Результаты Кокрейновского обзора подтверждают то, что хорошо известно интернистам – в общей популяции эффективность солевых препаратов железа (преимущественно двухвалентные) и препаратов Fe³⁺ на основе гидроксид полимальтозного комплекса при лечении железодефицитной анемии одинакова, при лучшем профиле переносимости у последних [115, 116]. Тем не менее среди кардиологов распространено мнение о неэффективности пероральных препаратов железа при лечении больных ХСН и в большинстве современных руководств при дефиците железа рекомендовано только внутривенное применение железа карбоксимальтозата [1, 113, 117]. Следует отметить, что в аннотации препарата «Ферин-джект» указано: «...следует применять в отделениях, имеющих необходимое оснащение для оказания неотложной медицинской помощи в случае развития анафилактических реакций».</p> <p>Эритропоэтин не должен применяться в лечении больных ХСН даже при сниженном уровне гемоглобина [1, 113]</p>
Стимуляция регенеративного потенциала сердечной мышцы	<p>В передовых научных центрах ведется накопление материала по четырем основным направлениям [118–128]:</p> <ul style="list-style-type: none"> – одни исследуют эффективность и безопасность различных способов трансплантации (эндоваскулярной, транспоракальной или во время операции на сердце) собственных или аутологичных стволовых клеток и миобластов, выделенных из скелетной мышцы, а также иных (в том числе генномодифицированных) клеток. На этом пути исследователи встречаются с ожидающими своего решения проблемами, связанными с необходимостью подготовки достаточного для трансплантации материала, разработкой методик прекондиционирования клеток, их адресного введения, выживания/отторжения трансплантированных клеток и их коммитированности в сторону кардиомиогенеза; – другие исследователи разрабатывают методику стимуляции выработки и выброса в кровоток из костного мозга собственных стволовых клеток (например, при помощи колонестимулирующих факторов: гранулоцитарный, гранулоцитарно-макрофагальный), которая не требует проведения операции или сложного инвазивного вмешательства и может быть хорошей альтернативой трансплантации клеток; – третьи изучают возможность прямого репрограммирования фибробластов сердца, позволяющего преобразовывать терминально дифференцированные клетки в кардиомиоциты. Параллельно ведется поиск оптимальных факторов репрограммирования клеток (транскрипционные факторы, такие как GATA4, MEF2c и TBX5, которые обычно комбинируют в разных соотношениях в одном «коктейле», цитокины, микроРНК, другие эпигенетические модификаторы) и совершенствуются системы доставки; – наконец, есть те, кто убежден в том, что регенерация сердца может быть достигнута путем повторной активации пролиферации собственных кардиомиоцитов (маркер пролиферативной активности Ki-67 экспрессируют не более 5% клеток) и пытаются стимулировать регенеративный потенциал сердечной мышцы используя, например, ацеллюлярные биоматериалы. <p>Результаты этих экспериментальных и клинических исследований пока не позволяют пересмотреть клинические рекомендации по лечению ХСН [129, 130]</p>
Миокардиальная цитопротекция	Несмотря на достаточно впечатляющий перечень средств, которые можно отнести к так называемым миокардиальным цитопротекторам, с позиции медицинской практики, основанной на доказанном, обосновано применение лишь триметазидина пролонгированного действия для лечения пациентов с ХСН ишемической этиологии, у которых он наряду с высокой антиангинальной и антиишемической эффективностью обеспечивает повышение толерантности к физической нагрузке, позитивную динамику показателей, характеризующих

Окончание табл.

Лечебные подходы	Примечание
	ремоделирование и функциональное состояние ЛЖ, а также снижение риска смерти и повторных госпитализаций [1, 12, 131, 132]. Продолжается разработка и клиническое тестирование потенциально эффективных при ХСН миокардиальных цитопротекторов, направленных на торможение окисления жирных кислот, стимуляцию окисления глюкозы, активацию цитохромной цепи, оптимизацию транспорта энергетического субстрата в митохондрии, а также повышение антиоксидантного потенциала кардиомиоцита [4, 133–143]
Коррекция гиперкалиемии, которая классифицируется как легкая (5,0–5,4 ммоль/л), умеренная (5,5–6,0 ммоль/л) и тяжелая (>6,0 ммоль/л).	Связанная с повышенным риском неблагоприятных (в том числе фатальных) исходов гиперкалиемия становится все более распространенным явлением у пациентов ХСН отчасти из-за увеличения частоты сопутствующих заболеваний, но, по-видимому, в большей степени из-за широкого применения комбинированной терапии нейрогуморальными модуляторами [144]. Назначение севвестрантов калия (например, патиромера или натрия циркония циклосиликата) повышает безопасность такой терапии и вероятность достижения целевых доз ингибиторов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [1, 96, 145–147]. Приведет ли коррекция гиперкалиемии этими препаратами к улучшению клинических исходов у пациентов с ХСН еще предстоит определить [96].
Воздействия, направленные на замедление ремоделирования внеклеточного матрикса сердца	Антифибротической активностью в той или иной степени обладают все нейрогормональные модуляторы, ставшие краеугольным камнем терапии ХСН. В последние годы изучается возможность потенцирования этого эффекта путем направленного воздействия на ключевые механизмы патологического накопления коллагена и изменения его композиции в интерстиции, а также ведется поиск возможных терапевтических мишеньей (галектин-3, матриксные металлопротеиназы, тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ 1, фактор дифференцировки роста-15, остеопонтин и др.) [148–157]
Коррекция провоспалительного статуса	Существенное значение патологии иммунной системы в механизмах ХСН является хорошо доказанным фактом [158–161]. В качестве перспективных мишений терапии, направленной на снижение выраженности провоспалительных сдвигов на системном и локальном уровне, а также готовности кардиомиоцитов к реализации программ апоптоза, пироптоза и аутофагии, чаще всего обозначают Toll-подобные рецепторы, инфламмасомы (включая NOD-подобные рецепторы), цитокины, а также апоптотические и пироптотические эффекторные механизмы [162–173]. Применение нестероидных противовоспалительных средств может снижать эффективность основных препаратов, используемых для лечения ХСН, провоцировать развитие острой декомпенсации и повышать риск тромботических событий (особенно селективные блокаторы циклооксигеназы) [1, 174]

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., Gardner R.S., Baum-bach A., Böhm M. et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur. Heart J.* 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/euroheartj/ehab368.
- Salah H.M., Minhas A.M.K., Khan M.S., Khan S.U., Ambrosy A.P., Blumer V. et al. Trends in hospitalizations for heart failure, acute myocardial infarction, and stroke in the United States from 2004 to 2018. *Am. Heart J.* 2022; 243:103–109. DOI: 10.1016/j.ahj.2021.09.009.
- Roger V.L. Epidemiology of heart failure: A contemporary perspective. *Circ. Res.* 2021;128(10):1421–1434. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318172.
- Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Калюжин О.В. Сердечная недостаточность. М.: Медицинское информационное агентство, 2018:376.
- Groenewegen A., Rutten F.H., Mosterd A., Hoes A.W. Epidemiology of heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2020;22 (8):1342–1356. DOI: 10.1002/ejhf.1858.
- Тепляков А.Т., Тарасов Н.И., Исаков Л.К., Гракова Е.В., Синькова М.Н., Копьев К.В. и др. Прогноз сердечно-сосудистых событий после имплантации кардиовертер-дефибриллятора пациентам с хронической сердечной недостаточностью: значение повышения концентрации эндотелина-1 и растворимой формы белка ST2 в плазме крови. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018;17(3):140–150. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-3-140-150.
- Bottle A., Faitna P., Aylin P., Cowie M.R. Five-year survival and use of hospital services following ICD and CRT implantation: comparing real-world data with RCTs. *ESC Heart Fail.* 2021;8(4):2438–2447. DOI: 10.1002/ehf2.13357.
- Spitaleri G., Lupón J., Domingo M., Santiago-Vacas E., Codina P., Zamora E. et al.. Mortality trends in an ambulatory multidisciplinary heart failure unit from 2001 to 2018. *Sci. Rep.* 2021;11(1):732. DOI: 10.1038/s41598-020-79926-3.
- Virani S.S., Alonso A., Aparicio H.J., Benjamin E.J., Bittencourt M.S., Callaway C.W. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2021;143(8):e254–e743. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000950.
- Поляков Д.С., Фомин И.В., Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Артемьева Е.Г. и др. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что из-

- менилось за 20 лет наблюдения? Результаты исследования ЭПОХА–ХСН. *Кардиология*. 2021;61(4):4–14. DOI: 10.18087/cardio.2021.4.n1628.
11. Remme W.J., Swedberg K. Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure, European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. *Eur. Heart J.* 2001;22(17):1527–1560. DOI: 10.1053/euhj.2001.2783.
 12. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Беграмбекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А. и др. Клинические рекомендации ОСЧН – РКО – РМНОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение. *Кардиология*. 2018;58(S6):8–161. DOI: 10.18087/cardio.2475.
 13. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Черногорюк Г.Э., Калюжина Е.В., Беспалова И.Д., Терентьева Н.Н. и др. Хроническая сердечная недостаточность: синдром или заболевание? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(1):134–139. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-134–139.
 14. Triploskiadis F., Xanthopoulos A., Parisi J., Butler J., Farmakis D. Pathogenesis of chronic heart failure: cardiovascular aging, risk factors, comorbidities, and disease modifiers. *Heart Fail. Rev.* 2022;27(1):337–344. DOI: 10.1007/s10741-020-09987-z.
 15. Fayol A., Wack M., Livrozet M., Carves J.B., Domengé O., Vermersch E. et al. Aetiological classification and prognosis in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail.* 2022;9(1):519–530. DOI: 10.1002/ehf2.13717.
 16. Ройтберг Г.Е., Струтынский А.В. Внутренние болезни. Сердечно-сосудистая система: учеб. пособие. М.: МЕДпресс-информ, 2019:904.
 17. Мареев В.Ю., Беленков Ю.Н. Перспективы в лечении хронической сердечной недостаточности. *Журнал сердечной недостаточности*. 2002;3(3):109–114.
 18. Xanthopoulos A., Tryploskiadis K., Giannoulis G., Dimos A., Bourazana A., Papamichalis M. et al. Coexisting morbidity burden in hospitalized elderly patients with new-onset heart failure vs acutely decompensated chronic heart failure. *Angiology*. 2022;33197211062661. DOI: 10.1177/00033197211062661.
 19. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Останко В.Л., Терентьева Н.Н. и др. Корректная формулировка диагноза у пациента с хронической сердечной недостаточностью: реальность или несбыточная мечта? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(3):128–136. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-3-128–136.
 20. Zheng C., Han L., Tian J., Li J., He H., Han G. et al. Hierarchical management of chronic heart failure: a perspective based on the latent structure of comorbidities. *ESC Heart Fail.* 2022;9(1):595–605. DOI: 10.1002/ehf2.13708.
 21. Maeda D., Matsue Y., Kagiyama N., Jujo K., Saito K., Kamiya K. et al. Inaccurate recognition of own comorbidities is associated with poor prognosis in elderly patients with heart failure. *ESC Heart Fail.* 2022. DOI: 10.1002/ehf2.13824.
 22. Kaye D., Krum H. Drug discovery for heart failure: a new era or the end of the pipeline? *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007;6:127–139. DOI: 10.1038/nrd2219.
 23. Marra A.M., Bencivenga L., D'Assante R., Rengo G., Cittadini A. Heart failure with preserved ejection fraction: Squaring the circle between comorbidities and cardiovascular abnormalities. *Eur. J. Intern. Med.* 2022;S0953-6205(22)00018-8. DOI: 10.1016/j.ejim.2022.01.019.
 24. Sabouret P., Attias D., Beauvais C., Berthelot E., Bouleti C., Gibault Genty G. et al. Diagnosis and management of heart failure from hospital admission to discharge: A practical expert guidance. *Ann. Cardiol. Angeiol. (Paris)*. 2022;71(1):41–52. DOI: 10.1016/j.ancard.2021.05.004.
 25. Ghionzoli N., Gentile F., Del Franco A.M., Castiglione V., Aimo A., Giannoni A. et al. Current and emerging drug targets in heart failure treatment. *Heart Fail. Rev.* 2021;27(4):1119–1136. DOI: 10.1007/s10741-021-10137-2.
 26. Swedberg K. Importance of neuroendocrine activation in chronic heart failure. Impact on treatment strategies. *Eur. J. Heart Fail.* 2000;2(3):229–233. DOI: 10.1016/s1388-9842(00)00102-1.
 27. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Соловцов М.А. Роль систолической и диастолической дисфункции ЛЖ в клинической манифестации хронической сердечной недостаточности у больных, перенесших инфаркт миокарда. *Терапевтический архив*. 2002;74(12):15–18.
 28. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Вечерский Ю.Ю., Рязанцева Н.В., Хлапов А.П. Патогенез хронической сердечной недостаточности: изменение доминирующей парадигмы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2007;6(4):71–79. DOI: 10.20538/1682-0363-2007-4-71–79.
 29. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Рязанцева Н.В., Вечерский Ю.Ю., Хлапов А.П., Колесников Р.Н. Диастола сердца. Физиология и клиническая патофизиология. Томск: Изд-во ТПУ, 2007:212.
 30. Gheorghiade M., De Luca L., Bonow R.O. Neurohormonal inhibition in heart failure: insights from recent clinical trials. *Am. J. Cardiol.* 2005;96(12A):3L–9L. DOI: 10.1016/j.amjcard.2005.09.059.
 31. Тепляков А.Т., Попов С.В., Калюжин В.В., Гарганеева А.А., Курлов И.О., Нилогов В.Л. и др. Оценка влияния карведилола, атенолола и их комбинации с фозиноприлом на вариабельность ритма сердца, клинико-функциональный статус и качество жизни больных с постинфарктной дисфункцией левого желудочка. *Терапевтический архив*. 2004;76(9):62–65.
 32. Jneid H., Moukarbel G.V., Dawson B., Hajjar R.J., Francis G.S. Combining neuroendocrine inhibitors in heart failure: reflections on safety and efficacy. *Am. J. Med.* 2007;120(12):1090–e1–1090.e8. DOI: 10.1016/j.amjmed.2007.02.029.
 33. Dobrek Ł., Thor P. Neuroendocrine activation as a target of modern chronic heart failure pharmacotherapy. *Acta Pol. Pharm.* 2011;68(3):307–316.
 34. Ferrari R., Cardoso J., Fonseca M.C., Aguiar C., Moreira J.I., Fucili A. et al. ARNIs: balancing “the good and the bad” of neuroendocrine response to HF. *Clin. Res. Cardiol.* 2020;109(5):599–610. DOI: 10.1007/s00392-019-01547-2.
 35. Berliner D., Bauersachs J. New drugs: big changes in conservative heart failure therapy? *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2019;55(1):i3–i10. DOI: 10.1093/ejcts/ezy421.
 36. Gu J., Noe A., Chandra P., Al-Fayoumi S., Ligueros-Saylan M., Sarangapani R. et al. Pharmacokinetics and phar-

- macrodynamics of LCZ696, a novel dual-acting angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi). *J. Clin. Pharmacol.* 2010;50(4):401–414. DOI: 10.1177/0091270009343932.
37. McMurray J.J., Packer M., Desai A.S., Gong J., Lefkowitz M.P., Rizkala A.R. et al. Dual angiotensin receptor and neprilysin inhibition as an alternative to angiotensin-converting enzyme inhibition in patients with chronic systolic heart failure: rationale for and design of the Prospective comparison of ARNI with ACEI to Determine Impact on Global Mortality and morbidity in Heart Failure trial (PARADIGM-HF). *Eur. J. Heart Fail.* 2013;15(9):1062–1073. DOI: 10.1093/ejhf/hft052.
38. Berg D.D., Samsky M.D., Velazquez E.J., Duffy C.I., Gurmu Y., Braunwald E. et al. Efficacy and Safety of Sacubitril/ Valsartan in High-Risk Patients in the PIONEER-HF Trial. *Circ. Heart Fail.* 2021;14(2):e007034. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007034.
39. Wachter R., Senni M., Belohlavek J., Straburzynska-Migaj E., Witte K.K., Kobalava Z. et al. Initiation of sacubitril/valsartan in haemodynamically stabilised heart failure patients in hospital or early after discharge: primary results of the randomised TRANSITION study. *Eur. J. Heart Fail.* 2019; 21 (8):998–1007. DOI: 10.1002/ejhf.1498
40. Chandra A., Lewis E.F., Claggett B.L., Desai A.S., Packer M., Zile M.R. et al. Effects of Sacubitril/Valsartan on Physical and Social Activity Limitations in Patients With Heart Failure: A Secondary Analysis of the PARADIGM-HF Trial. *JAMA Cardiol.* 2018;3(6):498–505. DOI: 10.1001/jamacardio.2018.0398.
41. Lindenfeld J., Jessup M. ‘Drugs don’t work in patients who don’t take them’ (C. Everett Koop, MD, US Surgeon General, 1985). *Eur. J. Heart Fail.* 2017;19(11):1412–1413. DOI: 10.1002/ejhf.920.
42. Cole G.D., Patel S.J., Zaman N., Barron A.J., Raphael C.E., Mayet J. et al. “Triple therapy” of heart failure with angiotensin-converting enzyme inhibitor, beta-blocker, and aldosterone antagonist may triple survival time: shouldn’t we tell patients? *JACC Heart Fail.* 2014;2(5):545–548. DOI: 10.1016/j.jchf.2014.04.012/
43. Zaman S., Zaman S.S., Scholtes T., Shun-Shin M.J., Plymen C.M., Francis D.P., Cole G.D. The mortality risk of deferring optimal medical therapy in heart failure: a systematic comparison against norms for surgical consent and patient information leaflets. *Eur. J. Heart Fail.* 2017;19(11):1401–1409. DOI: 10.1002/ejhf.838.
44. Bhatt A.S., Vaduganathan M., Claggett B.L., Liu J. Packer M., Desai A.S. et al. Effect of sacubitril/valsartan vs. enalapril on changes in heart failure therapies over time: the PARADIGM-HF trial. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(9):1518–1524. DOI: 10.1002/ejhf.2259.
45. Cabral J., Vasconcelos H., Maia-Araújo P., Moreira E., Campelo M., Amorim S. et al. Sacubitril/valsartan in everyday clinical practice: an observational study based on the experience of a heart failure clinic. *Cardiovasc. Diagn. Ther.* 2021;11(6):1217–1227. DOI: 10.21037/cdt-21-312.
46. Yoshikawa T. New paradigm shift in the pharmacotherapy for heart failure—where are we now and where are we heading? *J. Cardiol.* 2022;S0914-5087(22)00031-4. DOI: 10.1016/j.jcc.2022.02.008.
47. Мареев Ю.В., Мареев В.Ю. Возможности современной терапии в улучшении прогноза при хронической сердечной недостаточности: фокус на ангиотензиновых рецепторах и неприлизина ингибиторах и ингибиторах натрий глюкозного транспортера. *Кардиология.* 2021;61(6):4–10. DOI: 10.18087/cardio.2021.6.n1678.
48. Vaduganathan M., Claggett B.L., Greene S.J., Aggarwal R., Bhatt A.S., McMurray J.J.V. et al. Potential implications of expanded US food and drug administration labeling for sacubitril/ valsartan in the US. *JAMA Cardiol.* 2021;6(12):1415–1423. DOI: 10.1001/jamacardio.2021.3651.
49. Lin Y., Wu M., Liao B., Pang X., Chen Q., Yuan J. et al. Comparison of Pharmacological Treatment Effects on Long-Time Outcomes in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Network Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Front. Pharmacol.* 2021;12:707777. DOI: 10.3389/fphar.2021.707777.
50. Bozkurt B., Ezekowitz J. Substance and Substrate: LVEF and Sex Subgroup Analyses of PARAGON-HF and PARADIGM-HF Trials. *Circulation.* 2020;141(5):362–366. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.045008
51. Yancy C.W. An expanded heart failure indication for sacubitril/valsartan: evolving the evidence bar. *JAMA Cardiol.* 2021;6(12):1357–1358. DOI: 10.1001/jamacardio.2021.3658.
52. Gallo G., Volpe M., Battistoni A., Russo D., Tocci G., Musumeci M.B. Sacubitril/valsartan as a therapeutic tool across the range of heart failure phenotypes and ejection fraction spectrum. *Front. Physiol.* 2021;12:652163. DOI: 10.3389/fphys.2021.652163.
53. Vaz-Salvador P., Adão R., Vasconcelos I., Leite-Moreira A.F., Brás-Silva C. Heart failure with preserved ejection fraction: a pharmacotherapeutic update. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2022;1–18. DOI: 10.1007/s10557-021-07306-8.
54. Aikins A.O., Nguyen D.H., Paundralingga O., Farmer G.E., Shimoura C.G., Brock C. et al. Cardiovascular neuroendocrinology: emerging role for neurohypophyseal hormones in pathophysiology. *Endocrinology.* 2021;162(8):bqab082. DOI: 10.1210/endocr/bqab082.
55. Urbach J., Goldsmith S.R. Vasopressin antagonism in heart failure: a review of the hemodynamic studies and major clinical trials. *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* 2021;15:1753944720977741. DOI: 10.1177/1753944720977741.
56. Vishram-Nielsen J.K.K., Tomasoni D., Gustafsson F., Metra M. Contemporary drug treatment of advanced heart failure with reduced ejection fraction. *Drugs.* 2022;1–31. DOI: 10.1007/s40265-021-01666-z.
57. Bhatt A.S., Yanamandala M., Konstam M.A. For vaptans, as for life, balance is better. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(5):751–753. DOI: 10.1002/ejhf.2042.
58. Goldsmith S.R., Burkhoff D., Gustafsson F., Voors A., Zannad F., Kolkhof P. et al. Dual Vasopressin Receptor Antagonism to Improve Congestion in Patients With Acute Heart Failure: Design of the AVANTI Trial. *J. Card. Fail.* 2021;27(2):233–241. DOI: 10.1016/j.cardfail.2020.10.007.
59. Mondritzki T., Mai T.A., Vogel J., Pook E., Wasnaire P., Schmeck C. et al. Cardiac output improvement by pecavantan: a novel dual-acting vasopressin V1a/V2 receptor antagonist in experimental heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(5):743–750. DOI: 10.1002/ejhf.2001.

60. Kolkhof P., Bärfacker L. 30 years of the mineralocorticoid receptor: Mineralocorticoid receptor antagonists: 60 years of research and development. *J. Endocrinol.* 2017;234(1):T125–T140. DOI: 10.1530/JOE-16-0600.
61. Kolkhof P., Bärfacker L. 30 years of the mineralocorticoid receptor: Mineralocorticoid receptor antagonists: 60 years of research and development. *J. Endocrinol.* 2017;234(1):T125–T140. DOI: 10.1530/JOE-16-0600.
62. Filippatos G., Anker S.D., Böhm M., Gheorghiade M., Køber L., Krum H. et al. A randomized controlled study of finerenone vs. eplerenone in patients with worsening chronic heart failure and diabetes mellitus and/or chronic kidney disease. *Eur. Heart J.* 2016;37(27):2105–2114. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw132.
63. Capelli I., Gasperoni L., Ruggeri M., Donati G., Baraldi O., Sorrenti G. et al. New mineralocorticoid receptor antagonists: update on their use in chronic kidney disease and heart failure. *J. Nephrol.* 2020;33(1):37–48. DOI: 10.1007/s40620-019-00600-7.
64. Rico-Mesa J.S., White A., Ahmadian-Tehrani A., Anderson AS. Mineralocorticoid Receptor Antagonists: a Comprehensive Review of Finerenone. *Curr. Cardiol. Rep.* 2020;22(11):140. DOI: 10.1007/s11886-020-01399-7.
65. Filippatos G., Anker S.D., Agarwal R., Ruilope L.M., Rossing P., Bakris G.L. et al. Finerenone Reduces Risk of Incident Heart Failure in Patients With Chronic Kidney Disease and Type 2 Diabetes: Analyses From the FIGARO-DKD Trial. *Circulation.* 2022;145(6):437–447. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.057983.
66. Cox Z.L., Hung R., Lenihan D.J., Testani J.M. Diuretic strategies for loop diuretic resistance in acute heart failure: the 3t trial. *JACC Heart Fail.* 2020;8(3):157–168. DOI: 10.1016/j.jchf.2019.09.012.
67. Batool A., Salehi N., Chaudhry S., Cross M., Malkawi A., Siraj A. Role of vasodilator therapy in acute heart failure. *Cureus.* 2021;13(8):e17126. DOI: 10.7759/cureus.17126.
68. Armstrong P.W., Pieske B., Anstrom K.J., Ezekowitz J., Hernandez A.F., Butler J. et al. Vericiguat in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(20):1883–1893. DOI: 10.1056/NEJMoa1915928.
69. Calamera G., Molzau L.R., Levy F.O., Andressen K.W. Phosphodiesterases and compartmentation of cAMP and cGMP signaling in regulation of cardiac contractility in normal and failing hearts. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(4):2145. DOI: 10.3390/ijms23042145.
70. Klinger J.R., Chakinala M.M., Langleben D., Rosenkranz S., Sitbon O. Riociguat: clinical research and evolving role in therapy. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2021;87(7):2645–2662. DOI: 10.1111/bcp.14676.
71. McMurray J.J.V., Solomon S.D., Inzucchi S.E., Køber L., Kosiborod M.N., Martinez F.A. et al. Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *N. Engl. J. Med.* 2019;381(21):1995–2008. DOI: 10.1056/NEJMoa1911303.
72. Packer M., Anker S.D., Butler J., Filippatos G., Pocock S.J., Carson P. et al. Cardiovascular and renal outcomes with empagliflozin in heart failure. *N. Engl. J. Med.* 2020;383(15):1413–1424. DOI: 10.1056/NEJMoa2022190.
73. Solomon S.D., de Boer R.A., DeMets D., Hernandez A.F., Inzucchi S.E., Kosiborod M.N. et al. Dapagliflozin in heart failure with preserved and mildly reduced ejection fraction: rationale and design of the DELIVER trial. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(7):1217–1225. DOI: 10.1002/ejhf.2249.
74. Butler J., Packer M., Filippatos G., Ferreira J.P., Zeller C., Schnee J. et al. Effect of empagliflozin in patients with heart failure across the spectrum of left ventricular ejection fraction. *Eur. Heart J.* 2022;43(5):416–426. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab798.
75. Yadava O.P. Heart failure - does ejection fraction hold any relevance? *Indian J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2022;38(1):1–4. DOI: 10.1007/s12055-021-01295-x.
76. Bethel M.A., McMurray J.J.V. Class effect for sodium glucose-cotransporter-2 inhibitors in cardiovascular outcomes: implications for the cardiovascular disease specialist. *Circulation.* 2018;137(12):1218–1220. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030117.
77. Volpe M., Patrono C. Do VERTIS-CV trial results question a class-effect of cardiovascular protection with sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors? *Eur. Heart J.* 2020;41(44):4232–4233. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa891.
78. Teo Y.H., Yoong C.S.Y., Syn N.L., Teo Y.N., Cheong J.Y.A., Lim Y.C. et al. Comparing the clinical outcomes across different sodium/glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors in heart failure patients: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2021;77(10):1453–1464. DOI: 10.1007/s00228-021-03147-4.
79. Savarese G., Butler J., Lund L.H., Bhatt D.L., Anker S.D. Cardiovascular effects of non-insulin glucose-lowering agents: a comprehensive review of trial evidence and potential cardio-protective mechanisms. *Cardiovasc. Res.* 2021;cvab271. DOI: 10.1093/cvr/cvab271.
80. Täger T., Frankenstein L., Atar D., Agewall S., Frey N., Grundtvig M. et al. Influence of receptor selectivity on benefits from SGLT2 inhibitors in patients with heart failure: a systematic review and head-to-head comparative efficacy network meta-analysis. *Clin. Res. Cardiol.* 2022;111(4):428–439. DOI: 10.1007/s00392-021-01913-z.
81. Correale M., Lamacchia O., Ciccarelli M., Dattilo G., Tricarico L., Brunetti N.D. Vascular and metabolic effects of SGLT2i and GLP-1 in heart failure patients. *Heart Fail. Rev.* 2021. DOI: 10.1007/s10741-021-10157-y.
82. Helmstädtler J., Keppeler K., Küster L., Müntzel T., Daiber A., Steven S. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists and their cardiovascular benefits-The role of the GLP-1 receptor. *Br. J. Pharmacol.* 2022;179(4):659–676. DOI: 10.1111/bph.15462.
83. Tanday N., Flatt P.R., Irwin N. Metabolic responses and benefits of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor ligands. *Br. J. Pharmacol.* 2022;179(4):526–541. DOI: 10.1111/bph.15485.
84. Rashki Kemmak A., Dolatshahi Z., Mezginejad F., Nargesi S. Economic evaluation of ivabradine in treatment of patients with heart failure: a systematic review. *Expert Rev. Pharmacocon. Outcomes Res.* 2022;22(1):37–44. DOI: 10.1080/14737167.2021.1941881.
85. Heringlake M., Alvarez J., Bettex D., Bouchez S., Fruhwald S., Girardis M. et al. An update on levosimendan in acute cardiac care: applications and recommendations for optimal efficacy

- and safety. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 2021;19(4):325–335. DOI: 10.1080/14779072.2021.1905520.
86. Asai Y., Sato T., Kito D., Yamamoto T., Hioki I., Urata Y. et al. Combination therapy of midodrine and droxidopa for refractory hypotension in heart failure with preserved ejection fraction per a pharmacist's proposal: a case report. *J. Pharm. Health Care Sci.* 2021;7(1):10. DOI: 10.1186/s40780-021-00193-z.
 87. Nagao K., Kato T., Yaku H., Morimoto T., Inuzuka Y., Tamaki Y. et al. Current use of inotropes according to initial blood pressure and peripheral perfusion in the treatment of congestive heart failure: findings from a multicentre observational study. *BMJ Open*. 2022;12(1):e053254. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-053254.
 88. Cotter G., Davison B.A., Edwards C., Takagi K., Cohen-Solal A., Mebazaa A. Acute heart failure treatment: a light at the end of the tunnel? *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(5):698–702. DOI: 10.1002/ejhf.2116.
 89. Felker G.M., Solomon S.D., Claggett B., Diaz R., McMurray J.J.V., Metra M. et al. Assessment of Omecamtiv Mecarbil for the Treatment of Patients With Severe Heart Failure: A Post Hoc Analysis of Data From the GALACTIC-HF Randomized Clinical Trial. *JAMA Cardiol.* 2022;7(1):26–34. DOI: 10.1001/jamacardio.2021.4027.
 90. Bernardo B.C., Blaxall B.C. From bench to bedside: new approaches to therapeutic discovery for heart failure. *Heart Lung Circ.* 2016;25(5):425–434. DOI: 10.1016/j.hlc.2016.01.002.
 91. Greenberg B. Gene therapy for heart failure. *Trends Cardiovasc. Med.* 2017;27(3):216–222. DOI: 10.1016/j.tcm.2016.11.001.
 92. Gabisonia K., Recchia F.A. Gene therapy for heart failure: new perspectives. *Curr. Heart Fail. Rep.* 2018;15(6):340–349. DOI: 10.1007/s11897-018-0410-z.
 93. Yamada K.P., Tharakan S., Ishikawa K. Consideration of clinical translation of cardiac AAV gene therapy. *Cell Gene Ther. Insights*. 2020;6(5):609–615. DOI: 10.18609/cgti.2020.073.
 94. Devarakonda T., Mauro A.G., Cain C., Das A., Salloum F.N. Cardiac gene therapy with relaxin receptor 1 overexpression protects against acute myocardial infarction. *JACC Basic Transl. Sci.* 2021;7(1):53–63. DOI: 10.1016/j.jabts.2021.10.012.
 95. Sayed N., Allawadhi P., Khurana A., Singh V., Navik U., Pasumarthi S.K. et al. Gene therapy: comprehensive overview and therapeutic applications. *Life Sci.* 2022;294:120375. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120375.
 96. Palmiero G., Florio M.T., Rubino M., Nesti M., Marchel M., Russo V. Cardiac resynchronization therapy in patients with heart failure: what is new? *Heart Fail. Clin.* 2021;17(2):289–301. DOI: 10.1016/j.hfc.2021.01.010.
 97. Heidenreich P.A., Bozkurt B., Aguilar D., Allen L.A., Byun J.J., Colvin M.M. et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2022;101161CIR0000000000001062. DOI: 10.1161/CIR.0000000000001062.
 98. Chinyere I.R., Balakrishnan M., Hutchinson M.D. The emerging role of cardiac contractility modulation in heart failure treatment. *Curr. Opin. Cardiol.* 2022;37(1):30–35. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000929.
 99. Jorbenadze A., Fudim M., Mahfoud F., Adamson P.B., Bekfani T., Wachter R. et al. Extra-cardiac targets in the management of cardiometabolic disease: Device-based therapies. *ESC Heart Fail.* 2021;8(4):3327–3338. DOI: 10.1002/ehf2.13361.
 100. Reed S.D., Yang J.C., Rickert T., Johnson F.R., Gonzalez J.M., Mentz R.J. et al. Quantifying Benefit-Risk Preferences for Heart Failure Devices: A Stated-Preference Study. *Circ. Heart Fail.* 2022;15(1):e008797. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.121.008797.
 101. Baumwol J. “I Need Help” – A mnemonic to aid timely referral in advanced heart failure. *J. Heart Lung Transplant.* 2017;36(5):593594. DOI: 10.1016/j.healun.2017.02.010.
 102. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Терентьева Н.Н., Сибирева О.Ф. et al. Прогрессирующая (advanced) сердечная недостаточность. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(1):129–146. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-1-129-146.
 103. Crespo-Leiro M.G., Metra M., Lund L.H., Milicic D., Costanzo M.R., Filippatos G. et al. Advanced heart failure: a position statement of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur. J. Heart Fail.* 2018;20(11):1505–1535. DOI: 10.1002/ejhf.1236.
 104. Shi X., Bao J., Zhang H., Wang H., Li L., Zhang Y. Patients with high-dose diuretics should get ultrafiltration in the management of decompensated heart failure: a meta-analysis. *Heart Fail. Rev.* 2019;24(6):927–940. DOI: 10.1007/s10741-019-09812-2.
 105. Grosskettler L., Schmack B., Meyer K., Brockmann C., Wanninger R., Kreusser M.M. et al. Peritoneal dialysis as therapeutic option in heart failure patients. *ESC Heart Fail.* 2019;6(2):271–279. DOI: 10.1002/ehf2.12411.
 106. Masarone D., Kittleson M., Petraio A., Pacileo G. Advanced heart failure: state of the art and future directions. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2022;23(2):48. DOI: 10.31083/j.rcm2302048.
 107. Hullin R., Meyer P., Yerly P., Kirsch M. Cardiac surgery in advanced heart failure. *J. Clin. Med.* 2022;11(3):773. DOI: 10.3390/jcm11030773.
 108. Tadic M., Sala C., Cuspidi C. The role of TAVR in patients with heart failure: do we have the responses to all questions? *Heart Fail. Rev.* 2022;27:1617–1625. DOI: 10.1007/s10741-021-10206-6.
 109. Yousef S., Arnaoutakis G.J., Gada H., Smith A.J.C., Sanon S., Sultan I. Transcatheter mitral valve therapies: State of the art. *J. Card. Surg.* 2022;37(1):225–233. DOI: 10.1111/jocs.15995.
 110. Lund L.H., Khush K.K., Cherikh W.S., Goldfarb S., Kucheryavaya A.Y., Levvey B.J. et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Heart Transplantation Report-2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *J. Heart Lung Transplant.* 2017;36(10):1037–1046. DOI: 10.1016/j.healun.2017.07.019.
 111. Kormos R.L., Cowger J., Pagani F.D., Teuteberg J.J., Goldstein D.J., Jacobs J.P. et al. The society of thoracic surgeons intermacs database annual report: evolving indications, outcomes, and scientific partnerships. *Ann. Thorac. Surg.* 2019;107(2):341–353. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2018.11.011.

112. Hullin R., Meyer P., Yerly P., Kirsch M. Cardiac surgery in advanced heart failure. *J. Clin. Med.* 2022;11(3):773. DOI: 10.3390/jcm11030773.
113. Rizzo C., Carbonara R., Ruggieri R., Passantino A., Scrutinio D. Iron deficiency: a new target for patients with heart failure. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021;8:709872. DOI: 10.3389/fcvm.2021.709872.
114. Мареев В.Ю., Гиляревский С.Р., Мареев Ю.В., Беграмбекова Ю.Л., Беленков Ю.Н., Васюк Ю.А. и др. Согласованное мнение экспертов по поводу роли дефицита железа у больных с хронической сердечной недостаточностью, а также о современных подходах к его коррекции. *Кардиология.* 2020;60(1):99–106. DOI: 10.18087/cardio.2020.1.n961.
115. Pintér A., Behon A., Veres B., Merkel E.D., Schwertner W.R., Kuthi L.K. et al. The prognostic value of anemia in patients with preserved, mildly reduced and recovered ejection fraction. *Diagnostics (Basel).* 2022;12(2):517. DOI: 10.3390/diagnostics12020517.
116. Toblli J.E., Brignoli R. Iron(III)-hydroxide polymaltose complex in iron deficiency anemia / review and meta-analysis. *Arzneimittelforschung.* 2007;57(6A):431–438. DOI: 10.1055/s-0031-1296692.
117. Zdravkovic S.C., Nagorni S.P., Cojbasic I., Mitic V., Cvetkovic P., Nagorni I. et al. Effects of 6-months of oral ferrous and ferric supplement therapy in patients who were hospitalized for decompensated chronic heart failure. *J. Int. Med. Res.* 2019;47(7):3179–3189. DOI: 10.1177/0300060519847352.
118. Loncar G., Obradovic D., Thiele H., von Haehling S., Lainscak M. Iron deficiency in heart failure. *ESC Heart Fail.* 2021;8(4):2368–2379. DOI: 10.1002/eihf.213265.
119. Shen T., Xia L., Dong W., Wang J., Su F., Niu S. et al. A Systematic Review and Meta-Analysis: Safety and Efficacy of Mesenchymal Stem Cells Therapy for Heart Failure. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2021;16(3):354–365. DOI: 10.2174/157488X15999200820171432.
120. Kir D., Patel M.J., Munagala M.R. What is the status of regenerative therapy in heart failure? *Curr. Cardiol. Rep.* 2021;23(10):146. DOI: 10.1007/s11886-021-01575-3.
121. Pourtaji A., Jahani V., Moallem S.M.H., Karimani A., Mhammadpour A.H. Application of G-CSF in congestive heart failure treatment. *Curr. Cardiol. Rev.* 2019;15(2):83–90. DOI: 10.2174/1573403X14666181031115118
122. Sadahiro T., Ieda M. *In vivo* reprogramming as a new approach to cardiac regenerative therapy. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2022;122:21–27. DOI: 10.1016/j.semcd.2021.06.019.
123. Testa G., Di Benedetto G., Passaro F. Advanced Technologies to Target Cardiac Cell Fate Plasticity for Heart Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(17):9517. DOI: 10.3390/ijms22179517
124. Pascale E., Caiazza C., Paladino M., Parisi S., Passaro F., Caiazzo M. MicroRNA Roles in Cell Reprogramming Mechanisms. *Cells.* 2022;11(6):940. DOI: 10.3390/cells11060940
125. Zhou W., Ma T., Ding S. Non-viral approaches for somatic cell reprogramming into cardiomyocytes. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2022;122:28–36. DOI: 10.1016/j.semcd.2021.06.021
126. Garbern J.C., Lee R.T. Heart regeneration: 20 years of progress and renewed optimism. *Dev. Cell.* 2022;57(4):424–439. DOI: 10.1016/j.devcel.2022.01.012.
127. Sharma V., Dash S.K., Govarthanan K., Gahtori R., Negi N., Barani M. et al. Recent advances in cardiac tissue engineering for the management of myocardium infarction. *Cells.* 2021;10(10):2538. DOI: 10.3390/cells10102538.
128. Goonoo N. Tunable biomaterials for myocardial tissue regeneration: promising new strategies for advanced biointerface control and improved therapeutic outcomes. *Biomater. Sci.* 2022;10(7):1626–1646. DOI: 10.1039/d1bm01641e.
129. Hoeeg C., Dolatshahi-Pirouz A., Follin B. Injectable hydrogels for improving cardiac cell therapy *in vivo* evidence and translational challenges. *Gells.* 2021;7(1):7. DOI: 10.3390/gels7010007.
130. Doimo S., Pavan D. Novelties in therapy of chronic heart failure. *Heart Fail. Clin.* 2021;17(2):255–262. DOI: 10.1016/j.hfc.2021.01.006.
131. Eschenhagen T., Ridders K., Weinberger F. How to repair a broken heart with pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2022;163:106–117. DOI: 10.1016/j.jmcc.2021.10.005.
132. Калюжин В.В., Соловцов М.А., Камаев Д.Ю. Эффективность цитокардиопротекции у больных с умеренно выраженной постинфарктной дисфункцией левого желудочка: результаты рандомизированного исследования триметазидина и атенолола. *Бюллетень сибирской медицины.* 2002;1(1):40–44. DOI: 10.20538/1682-0363-2002-1-40-44.
133. Shu H., Peng Y., Hang W., Zhou N., Wang D.W. Trimetazidine in heart failure. *Front. Pharmacol.* 2021;11:569132. DOI: 10.3389/fphar.2020.569132.
134. Jong C.J., Sandal P., Schaffer S.W. The role of taurine in mitochondria health: more than just an antioxidant. *Molecules.* 2021;26(16):4913. DOI: 10.3390/molecules26164913.
135. Yuan S., Schmidt H.M., Wood K.C., Straub A.C. Coenzyme Q in cellular redox regulation and clinical heart failure. *Free Radic. Biol. Med.* 2021;167:321–334. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.03.011.
136. Raddysh M.E., Delgado D.H. Integrating supplementation in the management of patients with heart failure: an evidence-based review. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* 2021;19(10):891–905. DOI: 10.1080/14779072.2021.1999806.
137. Oppedisano F., Mollace R., Tavernese A., Gliozzi M., Musolino V., Macrì R. et al. PUFA supplementation and heart failure: effects on fibrosis and cardiac remodeling. *Nutrients.* 2021;13(9):2965. DOI: 10.3390/nu13092965.
138. Liu J., Meng Q., Zheng L., Yu P., Hu H., Zhuang R. et al. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on left ventricular remodeling in chronic heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Nutr.* 2022;1–35. DOI: 10.1017/S0007114521004979.
139. Мареев В.Ю., Мареев Ю.В., Беграмбекова Ю.Л. Коэнзим Q-10 в лечении больных с хронической сердечной недостаточностью и сниженной фракцией выброса левого желудочка: систематический обзор и мета-анализ. *Кардиология.* 2022;62(6):3–14. DOI: 10.18087/cardio.2022.6.n2050.

140. Samuel T.Y., Hasin T., Gotsman I., Weitzman T., Ben Ivgi F., Dadon Z. et al. Coenzyme Q10 in the Treatment of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Drugs R. D.* 2022;22(1):25–33. DOI: 10.1007/s40268-021-00372-1.
141. Mongirdienė A., Skrodenis L., Varoneckaitė L., Mierkytė G., Gerulis J. Reactive oxygen species induced pathways in heart failure pathogenesis and potential therapeutic strategies. *Biomedicines*. 2022;10(3):602. DOI: 10.3390/biomedicines10030602.
142. Schwemmlein J., Maack C., Bertero E. Mitochondria as therapeutic targets in heart failure. *Curr. Heart Fail. Rep.* 2022;19(2):27–36. DOI: 10.1007/s11897-022-00539-0.
143. Bisaccia G., Ricci F., Gallina S., Di Baldassarre A., Ghinassi B. Mitochondrial Dysfunction and Heart Disease: Critical Appraisal of an Overlooked Association. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(2):614. DOI: 10.3390/ijms22020614.
144. Ghionzoli N., Gentile F., Del Franco A.M., Castiglione V., Aimo A., Giannoni A. et al. Current and emerging drug targets in heart failure treatment. *Heart Fail. Rev.* 2022;27(4):1119–1136. DOI: 10.1007/s10741-021-10137-2.
145. Ismail U., Sidhu K., Zieroth S. Hyperkalaemia in heart failure. *Card. Fail. Rev.* 2021;7:e10. DOI: 10.15420/cfr.2020.29.
146. Murphy D., Ster I.C., Kaski J.C., Anderson L., Banerjee D. The LIFT trial: study protocol for a double-blind, randomised, placebo-controlled trial of K⁺-binder Lokelma for maximisation of RAAS inhibition in CKD patients with heart failure. *BMC Nephrol.* 2021;22(1):254. DOI: 10.1186/s12882-021-02439-2
147. Montagnani A., Frasson S., Gussoni G., Manfellotto D. Optimization of RAASi Therapy with New Potassium Binders for Patients with Heart Failure and Hyperkalemia: Rapid Review and Meta-Analysis. *J. Clin. Med.* 2021;10(23):5483. DOI: 10.3390/jcm10235483.
148. Silva-Cardoso J., Brito D., Frazão J.M., Ferreira A., Bettencourt P., Branco P. et al. Management of RAASi-associated hyperkalemia in patients with cardiovascular disease. *Heart Fail. Rev.* 2021;26(4):891–896. DOI: 10.1007/s10741-020-10069-3.
149. Останко В.Л., Калачева Т.П., Калюжина Е.В., Лившиц И.К., Шаловай А.А., Черногорюк Г.Э. и др. Биологические маркеры в стратификации риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018;17(4):264–280. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-264-280.
150. Sainio A., Järveläinen H. Extracellular matrix macromolecules as potential targets of cardiovascular pharmacotherapy. *Adv. Pharmacol.* 2018;81:209–240. DOI: 10.1016/bs.apha.2017.09.008.
151. Castiglione V., Aimo A., Vergaro G., Saccaro L., Passino C., Emdin M. Biomarkers for the diagnosis and management of heart failure. *Heart Fail. Rev.* 2022;27(2):625–643. DOI: 10.1007/s10741-021-10105-w.
152. Sygitowicz G., Maciejak-Jastrzębska A., Sitkiewicz D. The diagnostic and therapeutic potential of galectin-3 in cardiovascular diseases. *Biomolecules*. 2021;12(1):46. DOI: 10.3390/biom12010046.
153. Shirakawa K., Sano M. Osteopontin in cardiovascular diseases. *Biomolecules*. 2021;11(7):1047. DOI: 10.3390/biom11071047.
154. Maruyama K., Imanaka-Yoshida K. The pathogenesis of Cardiac Fibrosis: A Review of Recent Progress. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(5):2617. DOI: 10.3390/ijms23052617.
155. Aimo A., Spitaleri G., Panichella G., Lupón J., Emdin M., Bayes-Genis A. Pirfenidone as a novel cardiac protective treatment. *Heart Fail. Rev.* 2022;27(2):525–532. DOI: 10.1007/s10741-021-10175-w.
156. Trinh K., Julovi S.M., Rogers N.M. The role of matrix proteins in cardiac pathology. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(3):1338. DOI: 10.3390/ijms23031338.
157. May B.M., Pimentel M., Zimerman L.I., Rohde L.E. GDF-15 as a biomarker in cardiovascular disease. *Arq. Bras. Cardiol.* 2021;116(3):494–500. DOI: 10.36660/abc.20200426 .
158. Lewis G.A., Rosala-Hallas A., Dodd S., Schelbert E.B., Williams S.G., Cunningham C. et al. Predictors of myocardial fibrosis and response to anti-fibrotic therapy in heart failure with preserved ejection fraction. *Int. J. Cardiovasc. Imaging*. 2022. DOI: 10.1007/s10554-022-02544-9.
159. Zhang Y., Bauersachs J., Langer H.F. Immune mechanisms in heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2017;19(11):1379–1389. DOI: 10.1002/ejhf.942.
160. Murphy S.P., Kakkar R., McCarthy C.P., Januzzi J.L. Jr. Inflammation in Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020;75(11):1324–1340. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.01.014.
161. Kumar P., Lim A., Poh S.L., Hazirah S.N., Chua C.J.H., Sutamam N.B. et al. Pro-Inflammatory Derangement of the Immuno-Interactome in Heart Failure. *Front. Immunol.* 2022;13:817514. DOI: 10.3389/fimmu.2022.817514.
162. Bertero E., Dudek J., Cochain C., Delgobo M., Ramos G., Gerull B. et al. Immuno-metabolic interfaces in cardiac disease and failure. *Cardiovasc. Res.* 2022;118(1):37–52. DOI: 10.1093/cvr/cvab036.
163. Everett B.M., Cornel J.H., Lainscak M., Anker S.D., Abbate A., Thuren T. et al. Anti-inflammatory therapy with canakinumab for the prevention of hospitalization for heart failure. *Circulation*. 2019;139(10):1289–1299. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038010.
164. Abbate A., Toldo S., Marchetti C., Kron J., Van Tassell B.W., Dinarello C.A. Interleukin-1 and the inflammasome as therapeutic targets in cardiovascular disease. *Circ. Res.* 2020;126(9):1260–1280. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.315937.
165. Hanna A., Frangogiannis N.G. Inflammatory cytokines and chemokines as therapeutic targets in heart failure. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2020;34(6):849–863. DOI: 10.1007/s10557-020-07071-0.
166. Libby P. Targeting inflammatory pathways in cardiovascular disease: the inflammasome, interleukin-1, interleukin-6 and beyond. *Cells*. 2021;10(4):951. DOI: 10.3390/cells10040951.
167. Reina-Couto M., Pereira-Terra P., Quelhas-Santos J., Silva-Pereira C., Albino-Teixeira A., Sousa T. Inflammation in human heart failure: major mediators and therapeutic targets. *Front. Physiol.* 2021 Oct.11;12: 746494. DOI: 10.3389/fphys.2021.746494

168. Szabo T.M., Frigy A., Nagy E.E. Targeting mediators of inflammation in heart failure: a short synthesis of experimental and clinical results. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(23):13053. DOI: 10.3390/ijms222313053.
169. Olsen M.B., Gregersen I., Sandanger Ø., Yang K., Sokolova M., Halvorsen B.E. et al. Targeting the inflammasome in cardiovascular disease. *JACC Basic Transl. Sci.* 2021;7(1):84–98. DOI: 10.1016/j.jacbt.2021.08.006.
170. Ridker P.M., Rane M. Interleukin-6 signaling and anti-interleukin-6 therapeutics in cardiovascular disease. *Circ. Res.* 2021;128(11):1728–1746. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319077.
171. Corcoran S.E., Halai R., Cooper M.A. Pharmacological inhibition of the nod-like receptor family pyrin domain containing 3 inflammasome with MCC950. *Pharmacol. Rev.* 2021;73(3):968–1000. DOI: 10.1124/pharmrev.120.000171/
172. Zhuang C., Chen R., Zheng Z., Lu J., Hong C. Toll-like receptor 3 in cardiovascular diseases. *Heart Lung Circ.* 2022;S1443-9506(22)00080-4. DOI: 10.1016/j.hlc.2022.02.012.
173. Zhang F.S., He Q.Z., Qin C.H., Little P.J., Weng J.P., Xu S.W. Therapeutic potential of colchicine in cardiovascular medicine: a pharmacological review. *Acta Pharmacol. Sin.* 2022;43(9):2173–2190. DOI: 10.1038/s41401-021-00835-w.
174. Arfè A., Scotti L., Varas-Lorenzo C., Nicotra F., Zambon A., Kollhorst B. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of heart failure in four European countries: nested case-control study. *BMJ.* 2016;354:i4857. DOI: 10.1136/bmj.i4857.
175. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г. и др. Национальные рекомендации ОСЧН, РКО и РМТОТ по диагностике и лечению ХЧН (четвертый пересмотр). *Журнал Сердечная Недостаточность.* 2013;14(7):379–472.

Информация об авторах

Калюжин Вадим Витальевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhinvv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>

Тепляков Александр Трофимович – д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Vgelen1970@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0721-0038>

Беспалова Инна Давидовна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, innadave@mail2000.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4513-6329>

Калюжина Елена Викторовна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhina.e@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7978-5327>

Терентьева Надежда Николаевна – канд. мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней СурГУ, г. Сургут, nadiater@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0462-3526>

Гракова Елена Викторовна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения патологии миокарда НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, gev@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4019-3735>

Копьев Кристина Васильевна – канд. мед. наук, научный сотрудник отделения патологии миокарда НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, kristin-kop@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2285-6438>

Усов Владимир Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения рентгеновских и томографических методов диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, ussov1962@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7978-5514>

Гарганеева Наталья Петровна – д-р мед. наук, профессор кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, garganeeva@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7353-7154>

Павленко Ольга Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, pavlenko.51@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6766-3974>

Горелова Юнона Валериевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, junonag@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8119-9482>

Тетенева Анна Валентиновна – д-р мед. наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, anna.dubodelova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4323-2798>

(✉) **Калюжин Вадим Витальевич**, kalyuzhinvv@mail.ru

Поступила в редакцию 14.04.2022;
одобрена после рецензирования 29.04.2022;
принята к публикации 25.05.2022

УДК 616.248-092:577.152.34
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-198-204>

Роль катепсина S в патофизиологии бронхиальной астмы

**Крапошина А.Ю.^{1,2}, Собко Е.А.^{1,2}, Демко И.В.^{1,2}, Казмерчук О.В.¹,
Кацер А.Б.¹, Абрамов Ю.И.¹**

¹ Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

² Краевая клиническая больница
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3а

РЕЗЮМЕ

До настоящего времени сохраняет свою актуальность изучение роли ферментов – протеаз в патогенезе различных заболеваний. Многообразие функций катепсинов обусловлено особенностями их локализации, экспрессии и регуляции, благодаря чему они принимают участие в развитии многих патологических процессов. Дисрегуляция активности протеаз, их ингибиторов и субстратов может привести к развитию полигранных заболеваний.

В обзорной статье представлены данные о характеристиках всего семейства катепсинов и катепсина S в частности; описаны его патофизиологические роли при формировании бронхолегочных патологий, а также при бронхиальной астме; освещены внутри- и внеклеточные механизмы реализации. Авторы считают, именно этот фермент может стать мишенью для таргетной терапии астмы с целью предотвращения ремоделирования бронхиальной стенки на самых ранних этапах заболевания. Поиск литературы осуществлялся в поисковых системах Medline, eLibrary, Scopus, The Cochrane Library, РИНЦ.

Ключевые слова: катепсин S, бронхиальная астма, патофизиология, протеазы, ремоделирование дыхательных путей

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., Собко Е.А., Демко И.В., Казмерчук О.В., Кацер А.Б., Абрамов Ю.И. Роль катепсина S в патофизиологии бронхиальной астмы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):198–204. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-198-204>.

The role of cathepsin S in the pathophysiology of bronchial asthma

**Kraposhina A.Yu.^{1,2}, Sobko E.A.^{1,2}, Demko I.V.^{1,2}, Kazmerchuk O.V.¹,
Kacer A.B.¹, Abramov Yu.I.¹**

¹ V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University
1, Partizana Zeleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

² Krasnoyarsk Regional Clinical Hospital
3a, Partizana Zeleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

✉ Крапошина Ангелина Юрьевна, angelina-maria@inbox.ru

ABSTRACT

To date, the study of the role of proteases in the pathogenesis of various diseases remains relevant. The variety of cathepsin functions is associated with the peculiarities of their localization, expression, and regulation, due to which cathepsins are involved in development of many pathologies. Dysregulation of proteases, their inhibitors, and substrates can lead to the development of multiple organ dysfunction.

The review presents data on the characteristics of the entire family of cathepsins and cathepsin S, in particular. The pathophysiological role of cathepsin S in the formation of bronchopulmonary pathologies, as well as in bronchial asthma is described, and intra- and extracellular implementation mechanisms are considered. The authors believe it is this enzyme that could be targeted in targeted asthma therapy to prevent airway wall remodeling at the earliest stages of the disease. The literature search was carried out in the search engines Medline, eLibrary, Scopus, the Cochrane Library, and RSCI.

Keywords: cathepsin S, bronchial asthma, pathophysiology, proteases, airway remodeling

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., Sobko E.A., Demko I.V., Kazmerchuk O.V., Kacer A.B., Abramov Yu.I. The role of cathepsin S in the pathophysiology of bronchial asthma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):198–204. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-198-204>.

ВВЕДЕНИЕ

Катепсины встречаются в лизосомах различных типов клеток, включая эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов и макрофаги [1]. Эти ферменты секретируются в виде неактивных форм – проферментов, в результате каскада патохимических реакций они превращаются в зрелые формы. Их протеолитическая активность частично зависит от баланса протеаз и эндогенного ингибитора цистатина С [2]. В последние два десятилетия ученые выяснили, что среди семейства катепсинов именно подвиды К, Л и S являются сильнодействующими эластиазами [3]. Катепсин S способен разрушать различные компоненты базальной мембранны. Кроме того, было продемонстрировано, что именно подвид S играет роль в развитии атеросклероза, ангиогенеза, воспаления, ревматоидного артрита, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмы [4]. Важно отметить, что активность протеаз требует жесткого регулирования, а дисбаланс тесного взаимодействия между протеазами, субстратами и ингибиторами может способствовать прогрессированию различных заболеваний, имеющих как полисистемный характер, так и поражающих конкретный орган [5, 6].

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАТЕПСИНОВ

Международные исследования последних 60 лет продемонстрировали, что протеазы вносят решающий вклад в патофизиологию легочных заболеваний.

Изначально данные молекулы были известны как ферменты, расщепляющие белок с ограниченным спектром субстратов [7]. Однако современные данные показали, что разнообразие субстратов протеаз, а также биологических эффектов, вызываемых их процессингом, огромно [8, 9].

Молекулы катепсинов представляют собой группу лизосомальных ферментов, протеолитическая активность которых может реализовываться как во внутри-, так и во внеклеточном пространстве. Выделяют три семейства катепсинов: сериновые (A, G), аспарагиновые (D, E) и цистеиновые (B, C, F, H, K, L, O, S, V, X, and W), которые составляют, соответственно, 31, 25 и 4% от общего числа [10]. Ген катепсина S обнаружен в хромосоме 1q21 у человека и, как все лизосомальные катепсины, транслируется в препрофермент перед тем, как превратиться в зрелое активное состояние [11, 12]. Данные ферменты являются участниками физиологических процессов, таких как пищеварение, свертывание крови, костная резорбция, а также имеют непосредственное отношение к патогенезу заболеваний практически всех органов и систем макроорганизма [8, 12]. Многообразие функций и свойств катепсинов объясняется особенностями их локализации, экспрессии и регуляции.

Способность необратимо расщеплять пептидные связи требует строгой регуляции активности данных ферментов. Все катепсины проявляют наибольшую активность в кислой среде, которая характерна, в

частности, для лизосом [8, 10]. Более того, известно, что воспаление как неспецифический патофизиологический процесс сопровождается развитием ацидоза, что может повышать активность протеаз и во внеклеточном пространстве. К тому же возможность некоторых катепсинов сохранять протеолитическую активность в нейтральной среде расширяет спектр их активности. Известно, что катепсины K и H сохраняют свою активность при значении pH 7,4, а оптимальным значением pH для катепсина S является 6,5 [10, 12]. Регуляция синтеза катепсинов может осуществляться на транскрипционном, трансляционном, посттрансляционном и эпигенетическом уровнях [10]. Метилирование СрG-островков, в частности, как пример эпигенетической регуляции, характерно для цистеиновых катепсинов [10].

Важно отметить, что активность протеаз жестко регулируется тканевым цитокиновым профилем [5]. Высвобождение активных молекул катепсина S происходит под воздействием множества регуляторов, включая провоспалительные молекулы, такие как интерлейкин (IL) 1 β , IL-4, IL-13 и фактор некроза опухоли α [12]. Нарушение тесного взаимодействия исследуемых ферментов с их субстратами и ингибиторами может способствовать активации патологических каскадов реакций и прогрессированию различных заболеваний легких, в том числе слизисто-воспалительных, таких как муковисцидоз и ХОБЛ, идиопатический фиброз легких, а также присоединению вторичных бактериальных инфекций [13].

Важным наблюдением является то, что некоторые протеазы имеют ограниченную экспрессию в организме, что обуславливает специфичность их функций. Так, характерной локализацией для катепсина K являются остеокласты, а для катепсинов E и S – иммунные клетки [14].

Для понимания патогенеза заболеваний важно знать, какой белок является субстратом в той или иной ситуации. В зависимости от локализации катепсина можно предполагать наличие того или иного субстрата. Известно, что катепсины обладают большой коллагенолитической и эластолитической активностью, которая играет особую роль в процессах ремоделирования тканей [15].

ОСОБЕННОСТИ КАТЕПСИНА S, ЕГО РОЛЬ В БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

В организме человека катепсин S в большом количестве локализуется в гладкомышечных клетках, макрофагах и дендритных клетках, что делает возможной локальную деградацию базальной мембраны и эластической пластиинки в бронхиальной и сосуди-

стой стенке. Запуск каскада лизосомальных патофизиологических реакций приводит к активации ремоделирования стенки мелких бронхов и прогрессии атеросклеротических изменений интимы сосудов. Активация эндотелия сосудов и бронхов приводит к ухудшению состояния коморбидного больного, в ходе чего достаточно трудно определить первичную патологию, приведшую к клиническому обострению состояния [16].

Исследования регистрируют более высокий уровень катепсина S и его активности в жидкости бронхоальвеолярного лаважа у пациентов с ХОБЛ в сравнении со здоровой популяцией [17]. Кроме того, катепсин S является мощной протеиназой, разрушающей эластин, а также участвует в адаптивном иммунном ответе. Исследования патогенеза ХОБЛ на мышиных моделях показали, что катепсин S способствует поражению легочного интерстиция и развитию легочной гиперинфляции из-за разрушения эластических волокон ткани легкого [18, 19].

Катепсин S особенно актуален в контексте легочного заболевания, так как его способность потенцировать активность эластазы, инактивировать защитные белки дыхательных путей индуцирует ремоделирование внеклеточного матрикса и нарушает выработку мукоцилиарного секрета в широком диапазоне pH. Респираторный ацидоз и алкалоз, характеризующиеся изменением парциального давления CO₂ в артериальной крови из-за изменения альвеолярной вентиляции и, как следствие, недостаточное удаление CO₂ из крови, часто встречаются при таких заболеваниях, как пневмония, бронхиальная астма, ХОБЛ и респираторный дистресс-синдром взрослых [20].

При заболеваниях с высокой нагрузкой на нейтрофилы, регистрируемых у больных с бронхолегочной патологией, достаточно часто развивается дисбаланс между протеазами и их ингибиторами: эластазой нейтрофилов, α_1 -антитрипсином, ингибитором се-креторной лейкопротеазы и элафином [6, 21, 22]. Реакции, возникающие в ходе перегрузки антипротеаз, приводят к индукции хронического воспалительного процесса в дыхательных путях, обусловленного дисфункцией мукоцилиарного клиренса, активацией ремоделирования внеклеточного матрикса и снижению порога восприимчивости ко вторичной бактериальной инфекции [23].

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ КАТЕПСИНА S

Катепсин S играет значительную роль в различных внутриклеточных процессах, включая проте-

олиз и формирование иммунного ответа, опосредованного комплексом МНС II [24]. Биохимически катепсин S также отличается от многих членов семейства своей способностью сохранять активность при нейтральной рН [25].

После доставки антигена в эндолизосомный путь инвариантная цепь (Ii) главного комплекса гистосовместимости класса II расщепляется с образованием фрагмента, ассоциированного с лейпептином пептида класса II (CLIP), что в дальнейшем позволяет последующее связывание экзогенного антигена. Протеолитическое расщепление Ii катализируется активным катепсином S и другими протеазами. Фрагмент CLIP затем расщепляется, перемещаясь на плазматическую мембрану АПК-клетки, чтобы в конечном итоге активировать CD4⁺ Т-лимфоциты. Катепсин S-опосредованное расщепление Ii имеет ключевое значение не только для презентации, но и для активации подвижности дендритных клеток [26].

КАТЕПСИН S В КОНТЕКСТЕ ПАТОГЕНЕЗА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Внеклеточные представители катепсинов непосредственно участвуют в процессе активации ремоделирования внеклеточного матрикса путем деградации структурных компонентов последнего – коллагена и эластина [27]. Исследуемый нами представитель рода протеаз также отмечает высокую активность эластолитических и коллагенолитических свойств, что позволяет считать его повышенную экспрессию предиктором формирования легочной дисфункции [28, 29].

Исследования показали, что пациенты с бронхиальной астмой (БА), принимающие системные глюкокортикоиды, имели более низкие уровни сывороточного белка – катепсина S [30]. Полиморфизмы молекулярного строения фермента могут определять восприимчивость пациентов к развитию БА и тяжести ее течения [31].

Результаты, полученные на моделях животных, также связывали экспрессию белка с патогенезом аллергической БА и атопии в целом. Высокие уровни катепсина S определяются при моделировании эозинофильного воспаления дыхательных путей. Нокаут катепсина S или профилактическое введение его ингибитора приводили к снижению воспаления бронхиальной стенки и ограничению эозинофилии в бронхоальвеолярном лаваже [32].

Повышение концентрации катепсина S приводило к возникновению зуда кожи и формированию атопического дерматита у мышей из-за связывания рецепторов, активируемых протеазой PAR-2 и PAR-4. Активация PAR2-индуцированного созре-

вания дендритных клеток и последующая дифференцировка CD4⁺ Т-клеток приводят к усилинию кожного воспаления и хроническому расчесыванию дефектов. Немаловажно, что у исследуемых мышей с аллергической БА значения рН выдыхаемого воздуха значительно ниже, чем у контрольной группы. Это способствует протеолитической активности катепсинов, включая класс S. Следовательно, данный фермент может быть связан с воспалением, атопией и восприимчивостью к развитию БА и дерматита [33].

Благодаря своей ключевой роли в пути презентации антигена, катепсин S может потенциально способствовать прогрессированию патологии астмы [34]. Данный тезис подтверждается рядом доклинических моделей: профили экспрессии генов мышей BALB/C и C57BL/6J, зараженных овальбумином (OVA), классической мышиной моделью аллергического воспаления легких, показали повышенную экспрессию гена катепсина S в 4,0 и 3,2 раза соответственно [35]. В отдельном исследовании, изучающем уровни белка, было обнаружено, что катепсин S в бронхоальвеолярном лаваже увеличивался после заражения OVA у мышей [36]. Кроме того, лечение мышей дикого типа, зараженных OVA, обратимым ингибитором катепсина S уменьшало воспаление, что сравнимо с уровнями в модели нокаута катепсина S, подчеркивая лекарственную способность протеазы при этом заболевании [37].

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Учитывая все многообразие процессов, протекающих на молекулярном уровне, катепсин S выполняет внеклеточные и внутриклеточные функции, которые могут влиять на многие физиологические изменения в легочной ткани и, что самое главное, определять тенденцию патохимических процессов реализации заболевания [38]. Ряд теоретических исследований последних лет, а также исследований на мышиных моделях указывают на потенциал фермента в качестве предиктора прогрессии деформации легочной ткани и необратимого ремоделирования дыхательных путей [39].

Таким образом, эти черты подчеркивают, что катепсин S является идеальной мишенью для лечения заболевания – его строгое терапевтическое ингибирование должно минимизировать потенциальные побочные эффекты [40]. Более того, его повышенная стабильность при нейтральном рН по сравнению с другими членами семейства подчеркивает его повышенный потенциал для участия во внеклеточной протеолитической активности [36].

Это профилактическое дозирование необратимого ингибитора катепсина S снижает легочную эозинофилию у мышей, что подтверждает гипотезу о том, что ингибирование фермента до начала воспаления дыхательных путей полезно при заболеваниях легочной ткани. Кроме того, в ходе зарубежных исследований было продемонстрировано, что исследуемая молекула играет роль в более отдаленных проявлениях аллергической реакции [41].

Улучшение нашего понимания строения и активности катепсина S приведет к объяснению иммунологической роли белка и определению терапевтической тактики – внеклеточному ингибированию катепсина S с целью предотвращения перестройки стенки мелких бронхов на самых ранних этапах.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Chang C.J., Chen C.C., Hsu L.A., Chang G.J., Ko Y.H., Chen C.F. et al. Degradation of the internal elastic laminae in vein grafts of rats with aortocaval fistulae: potential impact on graft vasculopathy. *Am. J. Pathol.* 2009;174(5):1837–1846. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080795.
- Lindholt J.S., Erlandsen E.J., Henneberg E.W. Cystatin C deficiency is associated with the progression of small abdominal aortic aneurysms. *Br. J. Surg.* 2001;88(11):1472–1475. DOI: 10.1046/j.0007-1323.2001.01911.x.
- Chelladurai P., Seeger W., Pullamsetti S.S. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in pulmonary hypertension. *Eur. Respir. J.* 2012;40(3):766–782. DOI: 10.1183/09031936.00209911.
- Hirakawa H., Pierce R.A., Bingol-Karakoc G., Karaaslan C., Weng M., Shi G.P. et al. Cathepsin S deficiency confers protection from neonatal hyperoxia-induced lung injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007;176(8):778–785. DOI: 10.1164/rccm.200704-519OC.
- Taggart C., Mall M.A., Lalmanach G., Cataldo D., Ludwig A., Janciauskiene S. et al. Protean proteases: at the cutting edge of lung diseases. *Eur. Respir. J.* 2017;49(2):1501200. DOI: 10.1183/13993003.01200-2015.
- Leiberman J. Letter: familial variation of leukocyte lysosomal protease and serum alpha 1-antitrypsin as determinants in chronic obstructive pulmonary diseases. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1973;108(4):1019–1020. DOI: 10.1164/arrd.1973.108.4.1019.
- Lomas D.A. Does protease-Antiprotease imbalance explain chronic obstructive pulmonary disease? *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016;13(2):S130–137. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201504-196KV.
- Patel S., Homaei A., El-Seedi H.R., Akhtar N. Cathepsins: proteases that are vital for survival but can also be fatal. *Biomed. Pharmacother.* 2018;105:526–532. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.148.
- Garcia-Touchard A., Henry T.D., Sangiorgi G., Spagnoli L.G., Mauriello A., Conover C. et al. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005;25(6):1119–1127. DOI: 10.1161/01.ATV.0000164311.48592.da.
- Yadati T., Houben T., Bitorina A., Shiri-Sverdlov R. The ins and outs of cathepsins: physiological function and role in disease management. *Cells.* 2020;9(7):1679. DOI: 10.3390/cells9071679.
- Yan D., Wang H.W., Bowman R.L., Joyce J.A. STAT3 and STAT6 signaling pathways synergize to promote Cathepsin secretion from macrophages via IRE1alpha activation. *Cell Rep.* 2016;16(11):2914–2927. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.08.035.
- Wilkinson R.D., Williams R., Scott C.J., Burden R.E. Cathepsin S: therapeutic, diagnostic, and prognostic potential. *Biol. Chem.* 2015;396(8):867–882. DOI: 10.1515/hsz-2015-0114.
- Caglic D., Repnik U., Jedeszko C., Kosec G., Miniejew C., Kindermann M. et al. The proinflammatory cytokines interleukin-1 α and tumor necrosis factor α promote the expression and secretion of proteolytically active cathepsin S from human chondrocytes. *Biol. Chem.* 2013;394(2):307–316. DOI: 10.1515/hsz-2012-0283.
- Turk V., Stoka V., Vasiljeva O., Renko M., Sun T., Turk B. et al. Cysteine cathepsins: from structure, function and regulation to new frontiers. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012;1824(1):68–88. DOI: 10.1016/j.bbapap.2011.10.002.
- Kaartinen M.T., Arora M., Heinonen S., Hang A., Barry A., Lundbom J. et al. F13A1 transglutaminase expression in human adipose tissue increases in acquired excess weight and associates with inflammatory status of adipocytes. *Int. J. Obes. (Lond.).* 2021;45(3):577–587. DOI: 10.1038/s41366-020-00722-0.
- Brown R., Nath S., Lora A., Samaha G., Elgamal Z., Kaiser R. et al. Cathepsin S: investigating an old player in lung disease pathogenesis, comorbidities, and potential therapeutics. *Respir. Res.* 2020;21(1):111. DOI: 10.1186/s12931-020-01381-5.
- Geraghty P., Greene C.M., O’Mahony M., O’Neill S.J., Taggart C.C., McElvaney N.G. Secretory leucocyte protease inhibitor inhibits interferon- γ -induced cathepsin S expression. *J. Biol. Chem.* 2007;282(46):33389–33395. DOI: 10.1074/jbc.M706884200.
- Barnes P.J. New therapies for chronic obstructive pulmonary disease. *Med. Princ. Pract.* 2010;19(5):330–338. DOI: 10.1159/000316368.
- Wang Z., Zheng T., Zhu Z., Homer R.J., Riese R.J., Chapman Jr. H.A. et al. Interferon γ induction of pulmonary emphysema in the adult murine lung. *J. Exp. Med.* 2000;192(11):1587–1600. DOI: 10.1084/jem.192.11.1587.
- Effros R.M., Chinard F.P. The in vivo pH of the extravascular space of the lung. *J. Clin. Invest.* 1969;48(11):1983–1996. DOI: 10.1172/JCI106164.
- Vogelmeier C., Hubbard R.C., Fells G.A., Schnebli H.P., Thompson R.C., Fritz H. et al. Anti-neutrophil elastase defense of the normal human respiratory epithelial surface provided by the secretory leukoprotease inhibitor. *J. Clin. Invest.* 1991;87(2):482–488. DOI: 10.1172/JCI115021.
- Wiedow O., Schroder J.M., Gregory H., Young J.A., Christopher E. Elafin: an elastase-specific inhibitor of human skin. Purification, characterization, and complete amino acid sequence. *J. Biol. Chem.* 1990;265(25):14791–14795.

23. Twigg M.S., Brockbank S., Lowry P., FitzGerald S.P., Taggart C., Weldon S. The role of serine proteases and Antiproteases in the cystic fibrosis lung. *Mediat. Inflamm.* 2015;2015:293053. DOI: 10.1155/2015/293053.
24. Maciewicz R.A., Etherington D.J. A comparison of four cathepsins (B, L, N and S) with collagenolytic activity from rabbit spleen. *Biochem. J.* 1988;256(2):433–440. DOI: 10.1042/bj2560433.
25. Baugh M., Black D., Westwood P., Kinghorn E., McGregor K., Bruin J. et al. Therapeutic dosing of an orally active, selective cathepsin S inhibitor suppresses disease in models of autoimmunity. *J. Autoimmun.* 2011;36(3-4):201–209. DOI: 10.1016/j.jaut.2011.01.003.
26. Font-Clos F., Zapperi S., La Porta C.A.M. Integrative analysis of pathway deregulation in obesity. *NPJ Syst. Biol. Appl.* 2017;3:18. DOI: 10.1038/s41540-017-0018-z.
27. Vidak E., Javorsek U., Vizovisek M., Turk B. Cysteine cathepsins and their extracellular roles: shaping the microenvironment. *Cells.* 2019;8(3):264. DOI: 10.3390/cells8030264.
28. Shi G.P., Webb A.C., Foster K.E., Knoll J.H., Lemere C.A., Munger J.S. et al. Human cathepsin S: chromosomal localization, gene structure, and tissue distribution. *J. Biol. Chem.* 1994;269(15):11530–11536.
29. Vizovisek M., Fonovic M., Turk B. Cysteine cathepsins in extracellular matrix remodeling: extracellular matrix degradation and beyond. *Matrix Biol.* 2019;7–576:141–159. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.01.024.
30. Manchanda M., Fatima N., Chauhan S.S. Physiological and pathological functions of cysteine cathepsins. Proteases in physiology and pathology. Singapore, Springer, 2017:217–256. DOI: 10.1007/978-981-10-2513-6_11_35.
31. Naour N., Rouault C., Fellahi S., Lavoie M.E., Poitou C., Keophiphat M. et al. Cathepsins in human obesity: changes in energy balance predominantly affect cathepsin s in adipose tissue and in circulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010;95(4):1861–1868. DOI: 10.1210/jc.2009-1894.
32. Reddy V.B., Shimada S.G., Sikand P., Lamotte R.H., Lerner E.A. Cathepsin S elicits itch and signals via protease-activated receptors. *J. Invest. Dermatol.* 2010;130(5):1468–1470. DOI: 10.1038/jid.2009.430.
33. Jimenez-Vargas N.N., Pattison L.A., Zhao P., Lieu T., Latorre R., Jensen D.D. et al. Protease-activated receptor-2 in endosomes signals persistent pain of irritable bowel syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115(31):E7438–E7447. DOI: 10.1073/pnas.1721891115.
34. Beck H., Schwarz G., Schröte, C.J., Deeg M., Baier D., Stevanovic S. et al. Cathepsin S and an asparagine-specific endoprotease dominate the proteolytic processing of human myelin basic protein *in vitro*. *Immunology.* 2001;31(12):3726–3736. DOI: 10.1002/1521-4141(200112)31:12<3726::aid-immu3726>3.0.co;2-o.
35. Lewis K., Kaufman J., Christakis N. The taste for privacy: an analysis of college student privacy settings in an online social network. *J. Comput. Mediat. Commun.* 2008;14(1):79–100. DOI: 10.1111/j.1083-6101.2008.01432.x.
36. Xu L., Feng B., Wang H., Li X. Multiple statistical methods for assessing differential gene expression in microarray data of diabetic model rats to predict the molecular mechanism of atorvastatin on anti-atherogenesis. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2013;121(5):272–279. DOI: 10.1055/s-0033-1334955.
37. Zhao P., Lieu T., Barlow N., Metcalf M., Veldhuis N., Jensen D. et al. Cathepsin S causes inflammatory pain via biased agonism of PAR2 and TRPV4. *J. Biol. Chem.* 2014;289(39):27215–27234. DOI: 10.1074/jbc.M114.599712.
38. Takayama F., Zhang X., Hayashi Y., Wu Z., Nakanishi H. Dysfunction in diurnal synaptic responses and social behavior abnormalities in cathepsin S-deficient mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017;490(2):447–452. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.06.061.
39. Elmariah S.B., Reddy V.B., Lerner E.A. Cathepsin S signals via PAR2 and generates a novel tethered ligand receptor agonist. *PLoS One.* 2014;9(6):e99702. DOI: 10.1371/journal.pone.0099702.
40. Jobs E., Adamsson V., Larsson A., Jobs M., Nerpin E., Ingesson E. et al. Influence of a prudent diet on circulating cathepsin S in humans. *Nutr. J.* 2014;13:84. DOI: 10.1186/1475-2891-13-84.
41. Ahmad S., Bhagwati S., Kumar S., Banerjee D., Siddiqi M.I. Molecular modeling assisted identification and biological evaluation of potent cathepsin S inhibitors. *J. Biol. Chem.* 2014;289(39):27215–27234. DOI: 10.1074/jbc.M114.599712.

Вклад авторов

Крапошина А.Ю. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Собко Е.А. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Демко И.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Казмерчук О.В. – разработка концепции и дизайна. Кацер А.Б., Абрамов Ю.И. – анализ и интерпретация данных.

Информация об авторах

Крапошина Ангелина Юрьевна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-пульмонолог, отделение пульмонологии, Краевая клиническая больница, г. Красноярск, angelina-maria@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6896-877X>

Собко Елена Альбертовна – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; зав. отделением аллергологии, Краевая клиническая больница, г. Красноярск, sobko29@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9377-5213>

Демко Ирина Владимировна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; зав. легочно-аллергологическим центром, Краевая клиническая больница, г. Красноярск, demko64@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8982-5292>

Казмерчук Ольга Витальевна – ординатор, кафедра госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, olguna24@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7999-4113>

Кацер Анна Борисовна – ординатор, кафедра госпитальной терапии и иммунологии с курсом ПО, КрасГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, lesmotsfors@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6649-8900>

Абрамов Юрий Игоревич – ординатор, кафедра поликлинической терапии и семейной медицины с курсом ПО, КрасГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, yuriyab1997@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-9937-1025>

(✉) Крапошина Ангелина Юрьевна, angelina-maria@inbox.ru

Поступила в редакцию 08.12.2021;
одобрена после рецензирования 01.02.2022;
принята к публикации 17.03.2022

УДК 616.12-007.61:575.21
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-205-216>

Фенотипическая вариабельность гипертрофической кардиомиопатии у носителей патогенного варианта р.Arg870His гена *MYH7*

**Кучер А.Н.¹, Валиахметов Н.Р.¹, Салахов Р.Р.^{1,3}, Голубенко М.В.¹, Павлюкова Е.Н.²,
Назаренко М.С.^{1,3}**

¹Научно-исследовательский институт (НИИ) медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

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

³Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Обзор посвящен анализу вариабельности клинических проявлений неоднократно зарегистрированного у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) патогенного варианта р.Arg870His гена *MYH7*. К анализу привлечены данные научных публикаций, полученных в результате поиска в базах данных PubMed, ClinVar, eLibrary.ru, а также собственные результаты. Выявлен широкий спектр фенотипических проявлений у носителей патогенного варианта р.Arg870His: от бессимптомного носительства до тяжелого течения, быстрого прогрессирования и ранней смерти. Обсуждаются возможные факторы, модифицирующие эффект патогенного варианта (доза патогенного варианта, наличие других неблагоприятных генетических вариантов и др.). Подчеркивается важность накопления информации о клинических особенностях течения ГКМП у носителей конкретных вариантов генов с целью уточнения их патогенности, выявления модифицирующих клиническую картину факторов, что имеет значение для определения тактики ведения пациентов с ГКМП, уточнения прогноза, определения стратегии обследования членов их семей.

Ключевые слова: гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП), ген тяжелой цепи миозина (*MYH7*)

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта (№ 20-315-90059) и гранта Президента Российской Федерации (МК-1093.2020.7).

Для цитирования: Кучер А.Н., Валиахметов Н.Р., Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Павлюкова Е.Н., Назаренко М.С. Фенотипическая вариабельность гипертрофической кардиомиопатии у носителей патогенного варианта р.Arg870His гена *MYH7*. Бюллетень сибирской медицины. 2022;21(3):205–216. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-205-216>.

Phenotype variation of hypertrophic cardiomyopathy in carriers of the p.Arg870His pathogenic variant in the *MYH7* gene

Kucher A.N.¹, Valiakhmetov N.R.¹, Salakhov R.R.^{1,3}, Golubenko M.V.¹, Pavlyukova E.N.², Nazarenko M.S.^{1,3}

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences

10, Ushaika Embankment Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

³ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The review analyzes variability of clinical manifestations of p.Arg870His in the *MYH7* gene, which is repeatedly registered in patients with hypertrophic cardiomyopathy (HCM). The analysis involves the data from scientific publications obtained as a search result in the PubMed, ClinVar, and eLibrary.ru databases, as well as authors' own results. A wide range of phenotypic manifestations have been revealed in carriers of p.Arg870His, from the asymptomatic to severe course, rapid progression, and early death. The review considers possible factors that modify the effect of the pathogenic variant (i.e. dosage of the pathogenic variant, the presence of other unfavorable genetic variants, etc.). The importance of accumulating information on the clinical features of HCM in the carriers of specific gene variants is emphasized in order to clarify their pathogenicity and to identify factors modifying the clinical outcome, which is important for the choice of the treatment strategy for HCM.

Keywords: hypertrophic cardiomyopathy (HCM), myosin heavy chain 7 (*MYH7*) gene

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 RFBR grant within the research project No. 20-315-90059 and the grant awarded by the President of the Russian Federation (MK-1093.2020.7).

For citation: Kucher A.N., Valiakhmetov N.R., Salakhov R.R., Golubenko M.V., Pavlyukova E.N., Nazarenko M.S. Phenotype variation of hypertrophic cardiomyopathy in carriers of the p.Arg870His pathogenic variant in the *MYH7* gene. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):205–216. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-205-216>.

ВВЕДЕНИЕ

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) – заболевание миокарда, при котором развивается гипертрофия миокарда левого и (или) правого желудочка, чаще асимметричного характера, вследствие утолщения межжелудочковой перегородки, и ее возникновение не может быть объяснено повышением нагрузки давлением, наличием у пациента иной патологии сердца, системного заболевания и других болезней, связанных с гипертрофией левого желудочка [1]. Симптомами заболевания являются одышка, боль в области сердца, обмороки, головокружение, тахикардия и внезапная сердечная смерть. ГКМП выявляется с частотой 1 : 500 [2], но эта оценка может быть занижена в связи с бессимптомным течением патологии у некоторых пациент-

тов. Оценки частоты данной патологии различаются в разных популяциях. Так, распространенность ГКМП в Испании была оценена как 0,19% [3], а в Корее – 0,031% [4].

Согласно современным представлениям, ГКМП является наследственным заболеванием, для которого характерна высокая генетическая гетерогенность и клинический полиморфизм [5–7]. В курируемой базе данных ClinGen [8] гены ГКМП классифицированы по силе связи с заболеванием: доказанная, или сильная (гены *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TPM1*, *ACTC1*, *MYL2* и *MYL3*), умеренная (гены *CSRP3*, *TNNC1*, *JPH2*) и слабая (16 генов). Гены с доказанной, сильной и умеренной связью с заболеванием кодируют белковые продукты толстых и тонких филаментов саркомера, Z-диска и мембрально-саркоплазматического комплекса [9].

В онлайн-ресурсе ClinVar приведены 40 генов [10], редкие варианты в которых рассматриваются в качестве причины развития данного заболевания, в том числе 427 патогенных вариантов в 29 генах и 408 вероятно патогенных – в 31 гене. Наибольший вклад в генетический компонент ГКМП вносят патогенные/вероятно патогенные варианты, локализованные в двух генах саркомерных белков – *MYBPC3* и *MYH7* [10–14]. Кроме того, описаны около 6 тыс. вариантов с неопределенной значимостью в 110 генах, данные по которым в отношении ГКМП противоречивы [10]. При этом критерии классификации вариантов в отношении степени их патогенности подвергаются периодическому пересмотру по мере накопления новых клинических данных для их носителей и членов семей. Такой пересмотр, в частности, в отношении вариантов гена *MYH7* привел к снижению доли вариантов с неопределенной значимостью с 42 до 30% [15]. В ряде случаев варианты, которые на начальных этапах исследования относились к категории «добропачественных», т. е. непатогенных, в дальнейшем выявлялись у пациентов с ГКМП с тяжелой формой ее течения [16, 17].

Оценке гено-фенотипических корреляций при ГКМП посвящен целый ряд исследований [11–13, 18–27]. Например, в результате наблюдения за пациентами с ГКМП и носителями патогенных мутаций в генах *MYH7* и *MYBPC3* были установлены: большее количество хирургических вмешательств, более высокий риск внезапной смерти и более короткая продолжительность жизни у пациентов с патогенными вариантами в гене *MYH7* по сравнению с пациентами с вариантами в гене *MYBPC3*; в течение 6 лет наблюдения у 26% носителей патогенных вариантов в гене *MYH7* были зарегистрированы клинические проявления ГКМП, в то время как носители вариантов в гене *MYBPC3* оставались бессимптомными [28]. В другом исследовании показано, что пациенты с патогенными вариантами в гене *MYH7* имели больший размер левого предсердия, высокий риск фибрилляции предсердий и худший прогноз по сравнению с больными с патогенными вариантами в гене *MYBPC3* [24]. Кроме того, у лиц с патогенными вариантами в гене *MYH7* чаще выполнялась миоэктомия или чрескожная спиртовая сепタルная аблация [29]. По данным мета-анализа (который включал 51 исследование с 7 675 пациентами с ГКМП) патогенные варианты в гене *MYH7* в среднем приводят к более раннему развитию ГКМП и более тяжелому ее течению в сравнении с больными ГКМП, связанный с другими генами, а частота нарушений сердечной проводимости, желудочковой аритмии и трансплантации сердца выше у пациентов с патоген-

ными вариантами в гене *MYH7*, чем с вариантами в гене *MYBPC3* [13]. Начало заболевания у носителей патогенных вариантов в генах саркомерных белков (*MYBPC3*, *MYH7*, *TNNI2*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *ACTC1*, *TNNCl*) – более раннее, чем у тех, у кого не было выявлено мутаций в этих генах [26].

Однако с учетом высокой генетической гетерогенности ГКМП и, соответственно, небольшого числа пациентов, обладающих одной и той же мутацией, по-прежнему остается нерешенным ряд вопросов не только о патогенности некоторых вариантов в отношении развития ГКМП, но и условий, способствующих развитию патологического фенотипа и определяющих клиническое течение болезни. Проблема фенотипического описания и вариабельности ГКМП, а также установления патогенности генетических вариантов у их носителей активно обсуждается представителями научного и клинического сообщества [30].

ГКМП является аутосомно-доминантным заболеванием, и подавляющее большинство пациентов имеют только один патогенный вариант. В то же время описаны случаи компаунд-гетерозигот и даже гомозигот по отдельным мутациям. Такие пациенты обычно имеют более ранний возраст начала и более тяжелое течение заболевания.

Одной из мутаций, неоднократно выявленных у пациентов с ГКМП, является замена аминокислоты p.Arg870His в тяжелой цепи бета-миозина, кодируемой геном *MYH7*. Известны случаи как заболевания, так и бессимптомного носительства этого варианта, а также описана родословная, у двух членов которой, являющихся потомками близкородственных браков, выявлены гомозиготы по патогенному варианту [18]. В нашей практике генетической диагностики ГКМП эта мутация также была зарегистрирована и характеризовалась неполной пенетрантностью [31]. Таким образом, данный вариант представляет интерес для подробного анализа особенностей клинических проявлений у пациентов в различных родословных.

Цель настоящего исследования заключалась в систематическом обзоре публикаций, посвященных описанию фенотипических особенностей гипертрофической кардиомиопатии у носителей патогенного варианта p.Arg870His гена *MYH7*, с привлечением данных собственного клинического наблюдения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск статей проведен в базах PubMed, ClinVar и eLibrary, используя следующие ключевые слова и их сочетания: hypertrophic cardiomyopathy (HCM), myosin heavy chain 7 (*MYH7*) «p.Arg870His», «гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП)» без ка-

ких-либо ограничений по дизайну исследования и языковой принадлежности авторов. Оценка отношения публикаций к теме исследования проведена по их названиям и тексту аннотаций. Все клинические данные, которые были в статьях, внесены в таблицу: тип патологии, пол, возраст, отягощенный семейный анамнез, описание основных симптомов, классификация сердечной недостаточности по NYHA, показатели инструментальных методов обследования сердца (данные эхокардиографии (ЭхоКГ), межжелудочковая перегородка (МЖП), задняя стенка левого желудочка (ЗСЛЖ), фракция выброса (ФВ), пиковый градиент в выводном отделе левого желудочка (ВОЛЖ) и электрокардиограммы (ЭКГ)).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В общей сложности было обнаружено 66 публикаций, в которых упоминается патогенный вариант p.Arg870His гена *MYH7* у больных ГКМП, но только в шести работах [18–20, 32–34] описана клиническая картина течения болезни у пациентов. За исключением описанного нами случая [31], не было обнаружено отечественных публикаций, в которых приводилась информация о клинических особенностях пациентов с данной патогенной мутацией (на основании информации, приведенной в научной электронной библиотеке eLibrary). В ряде исследований отсутствовали некоторые из данных инструментальных методов оценки состояния сердца (ЭхоКГ и ЭКГ).

КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ У НОСИТЕЛЕЙ ПАТОГЕННОГО ВАРИАНТА P.AR870HIS ГЕНА MYH7

Однонуклеотидный вариант 2609:G>A в экзоне 22 гена *MYH7* приводит к замене аргинина на гистидин в кодоне 870 (p. Arg870His, R870H, rs36211715) в альфа-спиральном домене S-2 белка тяжелой цепи бета-миозина. Замена p. Arg870His – один из часто регистрируемых патогенных вариантов, выявляемых у пациентов с ГКМП. Несмотря на то что аминокислоты аргинин и гистидин имеют один и тот же заряд, они отличаются по ряду свойств (гидрофильности, размеру, донорно-акцепторным свойствам) [35], которые могут определять структурно-функциональные особенности содержащих их белковых молекул. Аминокислотные замены в этом регионе могут влиять на сборку миофиламента, стабильность белка, на потерю прочности, на разрыв или жесткость [34, 36]. Показано, что p.Arg870His приводит к резкому снижению (более чем на порядок) аффинности связывания с C1–C2 доменами

MYBPC3 (MyBP-C) [37], скорости скольжения актиновых и миозиновых филаментов относительно друг друга [38], дестабилизирует связи (и соответственно структуру) между *MYH7* и *MYL3*, а также между *MYH7* и *MYL2* [34].

Замена p. Arg870His крайне редко регистрируется в популяциях (с частотой, соответствующей мутационным событиям, -4×10^{-6} – $1,6 \times 10^{-5}$ [39], но выявляется у пациентов с ГКМП различных национальностей (как при спорадических, так и при семейных случаях) [18–21, 32, 33, 40–44]. Несмотря на то, что данный патогенный вариант большинством исследователей рассматривается как относительно благоприятный, при p. Arg870His регистрируется широкий спектр фенотипических проявлений: от бессимптомного носительства [20, 32] до тяжелой клинической картины ГКМП [33] и случаев внезапной сердечной смерти в семьях с данным патогенным вариантом [19, 21] (таблица).

Клинические симптомы у носителей данного варианта варьируют как между членами одной семьи, так и между представителями разных семей. Обширная информация получена, в частности, при изучении большой индийской семьи, отягощенной ГКМП, причиной которой является замена p.Arg870His [18, 32] (см. таблицу). Авторами установлена высокая клиническая гетерогенность ГКМП у носителей данного патогенного варианта (от бессимптомного носительства, как правило у лиц более молодого возраста, до ранней смерти). Широко варьирует и возрастной диапазон манифестиации болезни, но, как отмечают авторы [32], этот показатель точен только для пробандов, так как состояние здоровья других носителей данного патогенного варианта оценивается только при скрининге (т. е. возраст начала болезни должен быть более ранним). Среди членов этой индийской родословной 75% мужчин и 44% женщин с вариантом p.Arg870His имели клинические симптомы ГКМП, а пенетрантность варианта в среднем составила 59% [32].

В целом возраст бессимптомного носительства данного варианта характерен для молодых индивидов, а у пожилых, если и не выявлялись признаки ГКМП при ЭхоКГ, регистрировались клинические симптомы данной патологии. Возраст регистрации болезни варьировал от 16 до 47 лет у мужчин и от 20 до 69 у женщин (см. таблицу). У некоторых женщин – носительниц патогенного варианта при нормальных ЭхоКГ параметрах сердца регистрировали симптомы, характерные для ГКМП (одышка, сердцебиение), причем в разном возрасте (в 19, 48 и 55 лет), а у одной женщины в возрасте 25 лет был поставлен диагноз ГКМП при ЭхоКГ обследовании, но не было никаких симптомов заболевания.

Таблица

Фенотипическая вариабельность кардиомиопатии у носителей патогенного варианта p.Arg870His гена MYH7

Окончание табл.

Название (имя) отчима	Номер отца	ГКМП, ASH	P2/ м	40	het	Легочная одышка	Кожные симптомы	NYHA	ЭхоКГ		ЭКГ	Метаболик
									MKT _{II} , мм	3СДЖ _К , мм	ВОЛЖ, мм	ФВ, %
Бионин Бионин	ГКМП, ASH	P2/ сын	M	16	het R870H+ Arg54Ter	—	—	—	20	11	—	78
Бионин Бионин	ГКМП, ASH	P2/ сын	M	19	—	—	—	—	20	11	—	83
Мечникова Мечникова	ГКМП (HO), ASH	P7/сестра	ж	65 (59)	het	—	Хроническая фиброзная предсердий, боль в груди, утомляемость, одышка	II	—	20	—	—
Мечникова Мечникова	ГКМП, ASH	P7/брат ^d	м	50 (38)	—	—	Обморок, устойчивая желудочковая тахикардия	—	—	22	—	—
Мечникова Мечникова	Тяжелая форма ГКМП	S	—	36	het	—	Обморок, имплантирован кардиофибриллятор	—	—	28	60	—
Мечникова Мечникова	Аритмо- генная ГКМП	P8/ отец	M	43 (2005)	het (de novo)	—	Желудочковые аритмии не регистрируются 13 лет	II	—	—	—	—
Мечникова Мечникова	Норма	P8/ дочь	ж	18	het	Обмороки, сердцебиение	В пределах нормальных значений (не приводятся)	—	—	60	Эпиллон-волна в V3–V4, инвертирован зубец Т в V3–V6 и зубец Q в V5–V6	—
							Эпизоды синусовой тахикардии при сердцебиении и обмороках					[34]

Примечание. Р – семейный случай; S – спорадический случай; (O) – обструктивная форма ГКМП; (НО) – необструктивная форма ГКМП; ASH – асимметричная гипертрофия межжелудочковой перегородки; het – гетерозиготное носительство патогенного варианта; homo – гомозиготное носительство патогенного варианта; МЖП – толщина межжелудочковой перегородки; ЗСДЖ – толщина задней стенки левого желудочка; ВОЛЖ – фракция выброса; ФВ – фракция выброса; ЛП – левое предсердие NYHA – класс сердечной недостаточности, а – данные обследования после септальной миэктомии с пластикой митрального клапана; б – пациент умер из-за сердечной недостаточности через несколько месяцев после имплантации кардиостимулятора; с – пациента более 10 лет служил в вооруженных силах (длительные физические нагрузки); д – после 12 лет наблюдения развилась тяжелая системическая дисфункция и внезапная смерть; ! – proband.

У носителей патогенного варианта p.Arg870His зарегистрировались изменения на ЭКГ (в виде аномальных зубцов Q, депрессии сегмента ST, инверсии зубцов T (см. таблицу), что является типичными изменениями ЭКГ при ГКМП [45]. Иногда изменения ЭКГ предшествуют клиническим симптомам заболевания [19, 20, 46–48], а измененная ЭКГ уже при развивающейся ГКМП говорит о высоком риске желудочковой тахиаритмии и внезапной смерти [49]. В целом лишь у 6% индивидов с очевидными ЭхоКГ доказательствами ГКМП не регистрировали изменений ЭКГ на момент постановки диагноза, а у пациентов с аномальной ЭКГ наблюдались более тяжелые симптомы, более высокие значения пикового градиента давления в ВОЛЖ, большая степень толщины стенки межжелудочковой перегородки, чаще выявлялись тяжелые синкопальные симптомы, требующие хирургической миоэктомии и (или) имплантации кардиовертера-дефибриллятора [45]. Кроме того, особенности ЭКГ могут изменяться в течение наблюдения за пациентами с ГКМП (см. таблицу).

Интересно, что в недавнем исследовании [34] патогенный вариант p.Arg870His гена *MYH7* рассматривается как причина аритмогенной кардиомиопатии (см. таблицу): у мужчины в 43 года был синкопальный эпизод с широким комплексом QRS и сложной тахикардией на ЭКГ при лечении амиодароном, через 2 года ему был имплантирован кардиовертер-дефибриллятор по причине мономорфной желудочковой тахикардии после обморока (задокументирована при ЭКГ). Патогенный вариант p.Arg870His гена *MYH7* у данного мужчины возник *de novo* и был унаследован одной из его дочерей. У последней в возрасте 18 лет не выявлено никаких отклонений при мониторировании ЭКГ по Холтеру, а также при проведении ЭхоКГ и компьютерной томографии сердца, но регистрировались одышка, сердцебиение, а также эпизоды синусовой тахикардии при сердцебиении и обмороках [34].

Несмотря на то, что в большинстве работ для p.Arg870His гена *MYH7* описано относительно мягкое клиническое течение заболевания, в отдельных семьях с ГКМП при данной мутации регистрируются случаи ранней и (или) внезапной смерти, в том числе у пациентов с гомозиготным генотипом [18, 19, 44].

Следует также заметить, что характер течения ГКМП может отличаться в зависимости от того, на какую аминокислоту произошла замена в структуре белка, даже если она произошла в одном и том же кодоне. Так, замена в кодоне 870 аргинина на цистein (p.Arg870Cys) приводит к тяжелому течению ГКМП с началом в раннем возрасте и высоким риском внезапной смерти [44].

Интерес представляют также данные динамического наблюдения за носителями патогенных генетических вариантов, вызывающих ГКМП. Такие исследования немногочисленны, и крайне редко публикуются результаты динамического наблюдения за пациентами с отдельными патогенными мутациями [20, 50]. В то же время клиническая картина ГКМП может меняться при медикаментозном и (или) хирургическом лечении, причем не всегда однозначно (см. таблицу).

Таким образом, спектр фенотипических проявлений мутации p.Arg870His показывает, что у носителей одного и того же патогенного варианта может регистрироваться широкий диапазон клинических симптомов ГКМП и даже другие формы кардиомиопатий. В связи с этим важно устанавливать те факторы, которые могут выступать в качестве модификаторов клинической картины у носителей патогенных вариантов, характерных для кардиомиопатий.

ФАКТОРЫ, МОДИФИЦИРУЮЩИЕ КЛИНИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ГКМП

Причины клинической вариабельности в проявлении патологических признаков у носителей патогенных мутаций (в том числе и замены p.Arg870His гена *MYH7*) могут включать как генетические, эпигенетические факторы, так и особенности образа жизни.

В качестве генетических факторов, влияющих на характер течения заболевания, могут выступать доза гена (гомозиготный и (или) гетерозиготный генотип по патогенному варианту), наличие других патогенных и вероятно патогенных вариантов в том же или в другом гене ГКМП [12, 17, 19, 20, 51–54], а также совокупность генетических вариантов в других генах [55, 56]. Для мутации p.Arg870His описан редкий случай: два пациента, гомозиготных по этой мутации, родившиеся в двух разных инбредных браках в одной родословной [18, 32]. У одного из них зарегистрирована ранняя смерть (в 36 лет), которая наступила через несколько месяцев после имплантации кардиостимулятора вследствие развивающейся сердечной недостаточности, у другого уже в 19 лет был поставлен диагноз ГКМП (асимметрическая гипертрофия межжелудочковой перегородки сердца без обструкции) и на ЭКГ регистрировались аномальные зубцы T и Q (см. таблицу).

Один из первых опубликованных случаев сочетания двух мутаций в гене *MYH7*, т. е. компаунд-гетерозиготный генотип, также был связан с мутацией p.Arg870His. Кроме этого варианта, пациент имел нонсенс-мутацию в экзоне 3, которая приводила к формированию стоп-кодона в кодоне 54 – p.Arg54Ter. Такое сочетание вариантов обу-

словило раннее развитие ГКМП (в 16 лет) и быстрое прогрессирование заболевания (ухудшение по ЭКГ-параметрам и ЭхоКГ) [20]. Патогенный вариант p.Arg870His был унаследован от отца (болезнь у которого развилась в 40 лет), а второй, p.Arg54Ter, – от бабушки по материнской линии (и бабушка, и мать были здоровы). Таким образом, сочетание двух мутаций, унаследованных от родителей, привело к развитию ГКМП в раннем возрасте и более тяжелому ее течению. Кроме того, авторы заметили, что, по-видимому, нонсенс-мутации в гене *MYH7* в гетерозиготном состоянии фенотипически не проявляются. Вариант p.Arg870His был выявлен в этом исследовании в трех родословных, и 9 из 10 носителей этого варианта имели гипертрофию миокарда на момент обследования [20].

В последнее время по мере накопления данных секвенирования генов ГКМП становится понятно, что пациенты с более чем одним патогенным вариантом не так уж редки [12, 53, 57]. Например, сочетание патогенных вариантов p.Arg787His и p.Ile736Thr в гене *MYH7* также приводило к тяжелой форме ГКМП [19]. Интересно, что у probандов со сложными компаунд-гетерозиготами в гене *MYH7* регистрировали более высокую массу миокарда левого желудочка и более высокие амплитуды QRS, SV1 и RV5 + SV1 на ЭКГ, чем у тех, у кого были моноаллельные двойные мутации [58].

Y. Zou и соавт. [12] на основании изучения мутаций в генах *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNI2* и *TNNI3* заключили, что ни конкретный ген, ни конкретная мутация не коррелировали с клиническим фенотипом ГКМП, тогда как количество мутаций было связано с максимальной толщиной стенки левого желудочка; множественные патогенные варианты (как в одном и том же, так и в разных генах саркомерных белков) зарегистрированы у 9,5% пациентов с ГКМП. В другом исследовании показано, что среди 2 912 probандов с ГКМП 8% имели более одного патогенного (P) или вероятно патогенного варианта (LP) или варианта с неопределенной значимостью (VUS): 0,6% – два и более P/LP варианта (включая гомозиготные варианты и один proband имел три P/VLP варианта, возраст таких пациентов был на 10 лет моложе); 5% имели один P/LP и по крайней мере один VUS, 2,4 % имели два и более VUS [53].

Кроме сочетанного эффекта патогенных и условно-патогенных вариантов на фенотип могут оказывать влияние редкие полиморфные варианты в саркомерных генах. Например, у 60 пациентов с ГКМП, но без патогенных вариантов в генах саркомерных белков, были выявлены функционально значимые варианты, локализованные в регионе промотора в сайтах связывания транскрипционных факторов, в

инtronе и 3'UTR гена *MYH7* [59]. В связи с тем, что клиническая картина ГКМП определяется не только отдельными мутациями в генах саркомерных белков, но и сочетанием мутаций и (или) вариантов в нескольких генах (не только саркомерных белков, но и других), о ГКМП все чаще говорят как не о моногенном, а об олигогенном заболевании [7]. Детальное обследование и генотипирование пациентов с тяжелым течением ГКМП (как и других кардиомиопатий) на предмет носительства других патогенных или вероятно патогенных генетических вариантов имеет важное значение для прогноза течения болезни как у probандов, так и у их родственников, унаследовавших данные варианты и (или) их сочетания.

О потенциальной значимости общего генетического фона для клинической картины болезни могут свидетельствовать данные широкогеномных ассоциативных исследований (GWAS) для ГКМП [55, 56]. Так, в исследовании A.R. Nagre и соавт. [55] при проведении GWAS были установлены 12 локусов, ассоциированных с гипертрофической кардиомиопатией. При этом такие однонуклеотидные полиморфизмы оказывают влияние на тяжесть течения ГКМП у носителей мутаций в генах саркомерных белков [55, 60].

Спектр генов-модификаторов клинической картины ГКМП постоянно расширяется [61, 62]. Так, наличие мутаций в генах ионных каналов (*KCNQ1*, *KCNH2*, *CACNA1C*, *SCN5A* и *ANK2*) у пациентов с ГКМП увеличивает риск развития жизнеугрожающих аритмий и внезапной сердечной смерти и влияет на их прогноз и лечение [63]. При этом гены-модификаторы клинической картины ГКМП могут различаться у мужчин и женщин, как это было показано в отношении развития фиброза сердца при данной патологии [61].

О влиянии средовых и эпигенетических факторов на пенетрантность патогенных вариантов и характер течения ГКМП свидетельствуют данные близнецовых исследований. При наблюдении за прогрессированием ГКМП у 11 пар монозиготных близнецов (у 9 из них выявлены патогенные варианты в генах саркомерных белков) в течение 5–14 лет выявлена несогласованность морфологических изменений сердца (толщина стенки левого желудочка, диаметр левого предсердия и фракция выброса левого желудочка), на основании чего было сделано заключение о важной роли эпигенетики и факторов окружающей среды в прогрессировании данной болезни [64]. Особенности поведения (такие как занятие спортом, физические нагрузки и др.) также могут выступать в качестве модифицирующих клиническую картину ГКМП факторов [32].

К сожалению, модифицирующие факторы (включая число патогенных вариантов, эффекты регуля-

торных элементов и полиморфных вариантов генов, продукты которых задействованы в обеспечении функционирования сердечно-сосудистой системы, общий генетический фон, эпигенетические модификации и др.) все еще недостаточно изучены, несмотря на клиническую значимость таких результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сложность описания генетической компоненты ГКМП и оценки патогенетической значимости отдельных вариантов обусловлена тем, что для данного заболевания характерна неполная возраст-зависимая пенетрантность и вариабельность клинического течения даже у обладателей одного и того же патологического варианта [14, 27, 32, 64–66], как это продемонстрировано, в частности, на примере патогенного варианта p.Arg870His гена *MYH7*. Иногда развитие ГКМП протекает без выраженной клинической картины, и первым симптомом может выступать внезапная сердечная смерть. Причем внезапная смерть у лиц даже с незначительными признаками ГКМП, как свидетельствуют эпидемиологические данные, чаще возникает при малоподвижном образе жизни или легкой активности (66%), часто в постели или во сне (32%), реже – во время физической активности (22%), в том числе во время участия в организованных соревнованиях [67].

Точная классификация вариантов в генах ГКМП с точки зрения их патогенности имеет важное клиническое значение. Так, известно, что пациенты с патогенными или вероятно патогенными вариантами в генах ГКМП имели более низкую выживаемость по сравнению с пациентами, не являющимися носителями данных вариантов [28]. Вместе с тем генетическое тестирование при ГКМП позволяет не только подтверждать клинический диагноз, но и идентифицировать членов семей, обладающих патогенными вариантами и, соответственно, подверженных риску развития заболевания, что открывает возможность проведения профилактики данных заболеваний [68, 69]. Более того, обследование родственников пациентов с ГКМП с генетически установленной причиной иногда позволяет выявить среди них носителей патогенных мутаций, которые уже имеют признаки ГКМП [70]. Поэтому при выявлении у индивида патогенных вариантов генов кардиомиопатий (даже при отсутствии жалоб) рекомендуется проведение обследования родственников, а в случае выявления патологических фенотипов – каскадный генетический скрининг [69].

Накопление, а затем обобщение данных по фенотипической вариабельности клинической картины у носителей отдельных патологических мутаций позволит в дальнейшем более точно определять ус-

ловия пенетрантности таких вариантов и прогнозировать особенности течения болезни. В связи с этим группа экспертов ClinVar предложила расширить и унифицировать критерии, используемые для фенотипического описания пациентов с целью уточнения патогенности вариантов [30], что, в свою очередь, будет способствовать улучшению помощи, оказываемой пациентам с данной патологией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Габрусенко С.А., Гудкова А.Я., Козиолова Н.А., Александрова С.А., Берсенева М.И., Гордеев М.Л. и др. Гипертрофическая кардиомиопатия. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(5):4541. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4541.
- McKenna W.J., Judge D.P. Epidemiology of the inherited cardiomyopathies. *Nat. Rev. Cardiol.* 2021;18(1):22–36. DOI: 10.1038/s41569-020-0428-2.
- Rodríguez-Capitán J., Fernández-Meseguer A., Márquez-Camas P., García-Pinilla J.M., Calvo-Bonacho E., García-Margallo T. et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a large sample of the Spanish working population. *Rev. Clin. Esp. (Barc.)*. 2021;221(6):315–322. DOI: 10.1016/j.rceng.2020.01.008.
- Moon I., Lee S.Y., Kim H.K., Han K.D., Kwak S., Kim M. et al. Trends of the prevalence and incidence of hypertrophic cardiomyopathy in Korea: A nationwide population-based cohort study. *PLoS One*. 2020;15(1):e0227012. DOI: 10.1371/journal.pone.0227012.
- Li L., Bainbridge M.N., Tan Y., Willerson J.T., Marian A.J. A Potential oligogenic etiology of hypertrophic cardiomyopathy: A classic single-gene disorder. *Circ. Res.* 2017;120(7):1084–1090. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310559.
- Cerrone M., Remme C.A., Tadros R., Bezzina C.R., Delmar M. Beyond the one gene-one disease paradigm: Complex genetics and pleiotropy in inheritable cardiac disorders. *Circulation*. 2019;140(7):595–610. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035954.
- Баулина Н.М., Киселёв И.С., Чумакова О.С., Фаворова О.О. Гипертрофическая кардиомиопатия как олигогенное заболевание: аргументы транскриптомики. *Молекулярная биология*. 2020;54(6):955–967. DOI: 10.31857/S0026898420060026.
- Clinical Genome Resource. URL: <https://clinicalgenome.org/>
- Ingles J., Goldstein J., Thaxton C., Caleshu C., Corty E.W., Crowley S.B. et al. Evaluating the clinical validity of hypertrophic cardiomyopathy genes. *Circ. Genom. Precis Med.* 2019;12(2):e002460. DOI: 10.1161/CIRCGEN.119.002460.
- ClinVar. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
- Нязова С.С., Чакова Н.Н., Комиссарова С.М., Сасинович М.А. Спектр мутаций в генах саркомерных белков и их фенотипическое проявление у белорусских пациентов с гипертрофической кардиомиопатией. *Медицинская генетика*. 2019;18(6):21–33. DOI: 10.25557/2073-7998.2019.06.21-33.
- Zou Y., Wang J., Liu X., Wang Y., Chen Y., Sun K. et al. Multiple gene mutations, not the type of mutation, are the modifier of left ventricle hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mol. Biol. Rep.* 2013;40(6):3969–3976. DOI: 10.1007/s11033-012-2474-2.

13. Sedaghat-Hamedani F., Kayvanpour E., Tugrul O.F., Lai A., Amr A., Haas J. et al. Clinical outcomes associated with sarcomere mutations in hypertrophic cardiomyopathy: a meta-analysis on 7675 individuals. *Clin. Res. Cardiol.* 2018;107(1):30–41. DOI: 10.1007/s00392-017-1155-5.
14. Curila K., Benesova L., Penicka M., Minarik M., Zemanek D., Veselka J. et al. Spectrum and clinical manifestations of mutations in genes responsible for hypertrophic cardiomyopathy. *Acta Cardiol.* 2012;67(1):23–29. DOI: 10.1080/ac.67.1.2146562.
15. Richmond C.M., James P.A., Pantaleo S.J., Chong B., Lunke S., Tan T.Y. et al. Clinical and laboratory reporting impact of ACMG-AMP and modified ClinGen variant classification frameworks in MYH7-related cardiomyopathy. *Genet. Med.* 2021;23(6):1108–1115. DOI: 10.1038/s41436-021-01107-y.
16. Van Driest S.L., Ackerman M.J., Ommen S.R., Shakur R., Will M.L., Nishimura R.A. et al. Prevalence and severity of “benign” mutations in the beta-myosin heavy chain, cardiac troponin T, and alpha-tropomyosin genes in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2002;106(24):3085–3090. DOI: 10.1161/01.cir.0000042675.59901.14.
17. Mori A.A., Castro L.R., Bortolin R.H., Bastos G.M., Oliveira V.F., Ferreira G.M. et al. Association of variants in *MYH7*, *MYBPC3* and *TNNI2* with sudden cardiac death-related risk factors in Brazilian patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Forensic. Sci. Int. Genet.* 2021;52:102478. DOI: 10.1016/j.fsigen.2021.102478.
18. Bashyam M.D., Savithri G.R., Gopikrishna M., Narasimhan C. A p.R870H mutation in the beta-cardiac myosin heavy chain 7 gene causes familial hypertrophic cardiomyopathy in several members of an Indian family. *Can. J. Cardiol.* 2007;23(10):788–790. DOI: 10.1016/s0828-282x(07)70828-0.
19. Laredo R., Monserrat L., Hermida-Prieto M., Fernández X., Rodríguez I., Cazón L. et al. Beta-myosin heavy-chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Rev. Esp. Cardiol.* 2006;59(10):1008–1018. DOI: 10.1157/13093977.
20. Nishi H., Kimura A., Harada H., Koga Y., Adachi K., Matsuyama K. et al. A myosin missense mutation, not a null allele, causes familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 1995;91(12):2911–2915. DOI: 10.1161/01.cir.91.12.2911.
21. Hershkovitz T., Kurolap A., Ruhrman-Shahar N., Monakier D., DeChene E.T., Peretz-Amit G. et al. Clinical diversity of MYH7-related cardiomyopathies: Insights into genotype-phenotype correlations. *Am. J. Med. Genet. A.* 2019;179(3):365–372. DOI: 10.1002/ajmg.a.61017.
22. Chung H., Kim Y., Cho S.M., Lee H.J., Park C.H., Kim J.Y. et al. Differential contributions of sarcomere and mitochondria-related multigene variants to the endophenotype of hypertrophic cardiomyopathy. *Mitochondrion.* 2020;53:48–56. DOI: 10.1016/j.mito.2020.04.010.
23. Waldmüller S., Erdmann J., Binner P., Gelbrich G., Pankweitz S., Geier C. et al. Novel correlations between the genotype and the phenotype of hypertrophic and dilated cardiomyopathy: results from the German Competence Network Heart Failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2011;13(11):1185–1192. DOI: 10.1093/ejhf/hfr074.
24. Marsiglia J.D., Credidio F.L., de Oliveira T.G., Reis R.F., Antunes Mde O., de Araujo A.Q. et al. Screening of *MYH7*, *MYBPC3*, and *TNNI2* genes in Brazilian patients with hyper-
- trophic cardiomyopathy. *Am. Heart J.* 2013;166(4):775–782. DOI: 10.1016/j.ahj.2013.07.029.
25. Rai T.S., Ahmad S., Bahl A., Ahuja M., Ahluwalia T.S., Singh B. et al. Genotype phenotype correlations of cardiac beta-myosin heavy chain mutations in Indian patients with hypertrophic and dilated cardiomyopathy. *Mol. Cell Biochem.* 2009;321(1–2):189–196. DOI: 10.1007/s11010-008-9932-0.
26. De Feria A.E., Kott A.E., Becker J.R. Sarcomere mutation negative hypertrophic cardiomyopathy is associated with ageing and obesity. *Open Heart.* 2021;8(1):e001560. DOI: 10.1136/openhrt-2020-001560.
27. Ниязова С.С., Чакова Н.Н., Михаленко Е.П., Чеботарева Н.В., Комиссарова С.М., Крупнова Э.В. Мутации в генах *MYH7*, *MYBPC* у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией в Республике Беларусь. *Молекулярная медицина.* 2014;3:45–50.
28. Wang S., Zou Y., Fu C., Xu X., Wang J., Song L. et al. Worse prognosis with gene mutations of beta-myosin heavy chain than myosin-binding protein C in Chinese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin. Cardiol.* 2008;31(3):114–118. DOI: 10.1002/clc.20151.
29. Havndrup O., Bundgaard H., Andersen P.S., Allan Larsen L., Vuust J., Kjeldsen K. et al. Outcome of clinical versus genetic family screening in hypertrophic cardiomyopathy with focus on cardiac beta-myosin gene mutations. *Cardiovasc. Res.* 2003;57(2):347–357. DOI: 10.1016/s0008-6363(02)00711-3.
30. Morales A., Ing A., Antolik C., Austin-Tse C., Baudhuin L.M., Bronicki L. et al. Harmonizing the Collection of Clinical Data on Genetic Testing Requisition Forms to Enhance Variant Interpretation in Hypertrophic Cardiomyopathy (HCM): A Study from the ClinGen Cardiomyopathy Variant Curation Expert Panel. *J. Mol. Diagn.* 2021;23(5):589–598. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2021.01.014.
31. Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Павлюкова Е.Н., Кучер А.Н., Валиахметов Н.Р., Марков А.В. и др. Опыт молекулярно-генетической диагностики гипертрофической кардиомиопатии с использованием нанопорового секвенирования ДНК. *Российский кардиологический журнал.* 2021;26(10):4673. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4673.
32. Tanjore R.R., Sikindlapuram A.D., Calambur N., Thakkar B., Kerkar P.G., Nallari P. Genotype-phenotype correlation of R870H mutation in hypertrophic cardiomyopathy. *Clin. Genet.* 2006;69(5):434–436. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2006.00599.x.
33. Copek P., Vondrasek J., Skvor J., Brdicka R. Hypertrophic cardiomyopathy: from mutation to functional analysis of defective protein. *Croat. Med. J.* 2011;52(3):384–391. DOI: 10.3325/cmj.2011.52.384.
34. Ferradini V., Parca L., Martino A., Lanzillo C., Silvetti E., Calò L. et al. Variants in *MYH7* gene cause arrhythmogenic cardiomyopathy. *Genes. (Basel).* 2021;12(6):793. DOI: 10.3390/genes12060793.
35. Pommié C., Levadoux S., Sabatier R., Lefranc G., Lefranc M.P. IMGT standardized criteria for statistical analysis of immunoglobulin V-REGION amino acid properties. *J. Mol. Recognit.* 2004;17(1):17–32. DOI: 10.1002/jmr.647.
36. Rayment I., Holden H.M., Sellers J.R., Fananapazir L., Epstein N.D. Structural interpretation of the mutations in the beta-cardiac myosin that have been implicated in familial

- hypertrophic cardiomyopathy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1995;92(9):3864–3868. DOI: 10.1073/pnas.92.9.3864.
37. Gruen M., Gautel M. Mutations in beta-myosin S2 that cause familial hypertrophic cardiomyopathy (FHC) abolish the interaction with the regulatory domain of myosin-binding protein-C. *J. Mol. Biol.* 1999;286(3):933–949. DOI: 10.1006/jmbi.1998.2522.
38. Cuda G., Fananapazir L., Epstein N.D., Sellers J.R. The in vitro motility activity of beta-cardiac myosin depends on the nature of the beta-myosin heavy chain gene mutation in hypertrophic cardiomyopathy. *J. Muscl. Res. Cell Motil.* 1997;18(3):275–283. DOI: 10.1023/a:1018613907574.
39. GnomAD. URL: <https://gnomad.broadinstitute.org/>
40. AnanR., ShonoH., TeiC. Novel cardiac beta-myosin heavy chain gene missense mutations (R869C and R870C) that cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum. Mutat.* 2000;15(6):584. DOI: 10.1002/1098-1004(200006)15:6<584::AID-HUMU25>3.0.CO;2-R.
41. Otsuka H., Arimura T., Abe T., Kawai H., Aizawa Y., Kubo T. et al. Prevalence and distribution of sarcomeric gene mutations in Japanese patients with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ. J.* 2012;76(2):453–461. DOI: 10.1253/circj.cj-11-0876.
42. Kaski J.P., Syrris P., Esteban M.T., Jenkins S., Pantazis A., Deanfield J.E. et al. Prevalence of sarcomere protein gene mutations in preadolescent children with hypertrophic cardiomyopathy. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2009;2(5):436–441. DOI: 10.1161/CIRGENETICS.108.821314.
43. Santos S., Marques V., Pires M., Silveira L., Oliveira H., Lança V. et al. High resolution melting: improvements in the genetic diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy in a Portuguese cohort. *BMC Med. Genet.* 2012;13:17. DOI: 10.1186/1471-2350-13-17.
44. Woo A., Rakowski H., Liew J.C., Zhao M.S., Liew C.C., Parker T.G. et al. Mutations of the beta myosin heavy chain gene in hypertrophic cardiomyopathy: critical functional sites determine prognosis. *Heart.* 2003;89(10):1179–1185. DOI: 10.1136/heart.89.10.1179.
45. McLeod C.J., Ackerman M.J., Nishimura R.A., Tajik A.J., Gersh B.J., Ommen S.R. Outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy and a normal electrocardiogram. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009;54(3):229–233. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.02.071.
46. Uchiyama K., Hayashi K., Fujino N., Konno T., Sakamoto Y., Sakata K. et al. Impact of QT variables on clinical outcome of genotyped hypertrophic cardiomyopathy. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* 2009;14(1):65–71. DOI: 10.1111/j.1542-474X.2008.00275.x.
47. Österberg A.W., Östman-Smith I., Jablonowski R., Carlsson M., Green H., Gunnarsson C. et al. High ECG risk-scores predict late gadolinium enhancement on magnetic resonance imaging in HCM in the young. *Pediatr. Cardiol.* 2021;42(3):492–500. DOI: 10.1007/s00246-020-02506-9.
48. Shimizu M., Ino H., Yamaguchi M., Terai H., Hayashi K., Kiyama M. et al. Chronologic electrocardiographic changes in patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with cardiac troponin I mutation. *Am. Heart J.* 2002;143(2):289–293. DOI: 10.1067/mhj.2002.119760.
49. Buja G., Miorelli M., Turrini P., Melacini P., Nava A. Comparison of QT dispersion in hypertrophic cardiomyopathy between patients with and without ventricular arrhythmias and sudden death. *Am. J. Cardiol.* 1993;72(12):973–976. DOI: 10.1016/0002-9149(93)91118-2.
50. Enjuto M., Francino A., Navarro-López F., Viles D., Paré J.C., Ballesta A.M. Malignant hypertrophic cardiomyopathy caused by the Arg723Gly mutation in beta-myosin heavy chain gene. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2000;32(12):2307–2313. DOI: 10.1006/jmcc.2000.1260.
51. Erdmann J., Daehmlow S., Wischke S., Senyuva M., Werner U., Raible J. et al. Mutation spectrum in a large cohort of unrelated consecutive patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin. Genet.* 2003;64(4):339–349. DOI: 10.1034/j.1399-0004.2003.00151.x.
52. Van Driest S.L., Vasile V.C., Ommen S.R., Will M.L., Tajik A.J., Gersh B.J. et al. Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004;44(9):1903–1910. DOI: 10.1016/j.jacc.2004.07.045.
53. Alfares A.A., Kelly M.A., McDermott G., Funke B.H., Lebo M.S., Baxter S.B. et al. Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: expanded panels offer limited additional sensitivity. *Genet. Med.* 2015;17(11):880–888. DOI: 10.1038/gim.2014.205.
54. Liu W., Liu W., Hu D., Zhu T., Ma Z., Yang J. et al. Mutation spectrum in a large cohort of unrelated Chinese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* 2013;112(4):585–589. DOI: 10.1016/j.amjcard.2013.04.021.
55. Harper A.R., Goel A., Grace C., Thomson K.L., Petersen S.E., Xu X. et al. Common genetic variants and modifiable risk factors underpin hypertrophic cardiomyopathy susceptibility and expressivity. *Nat. Genet.* 2021;53(2):135–142. DOI: 10.1038/s41588-020-00764-0.
56. Cirino A.L., Lakdawala N.K., McDonough B., Conner L., Adler D., Weinfeld M. et al. A Comparison of whole genome sequencing to multigene panel testing in hypertrophic cardiomyopathy patients. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2017;10(5):e001768. DOI: 10.1161/CIRGENETICS.117.001768.
57. Дземешкевич С.Л., Мотрева А.П., Калмыкова О.В., Мартынова Ю.Б., Синицын В.Е., Мершина Е.А. и др. Гипертрофическая кардиомиопатия у молодых: фенотип, генотип и варианты лечебной тактики. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. 2019;7(3):54–62. DOI: 10.24411/2308-1198-2019-13006.
58. Wang B., Wang J., Wang L.F., Yang F., Xu L., Li W.X. et al. Genetic analysis of monoallelic double MYH7 mutations responsible for familial hypertrophic cardiomyopathy. *Mol. Med. Rep.* 2019;20(6):5229–5238. DOI: 10.3892/mmr.2019.10754.
59. Coto E., Reguero J.R., Palacín M., Gómez J., Alonso B., Iglesias S. et al. Resequencing the whole MYH7 gene (including the intronic, promoter, and 3' UTR sequences) in hypertrophic cardiomyopathy. *J. Mol. Diagn.* 2012;14(5):518–524. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2012.04.001.
60. Puckelwartz M.J., Pesce L.L., Dellefave-Castillo L.M., Wheeler M.T., Pottinger T.D., Robinson A.C. et al. Genomic context differs between human dilated cardiomyopathy and hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Heart Assoc.* 2021;10(7):e019944. DOI: 10.1161/JAHA.120.019944.

61. Xu F., Chen Y., Tillman K.A., Cui Y., Williams R.W., Bhattacharya S.K. et al. Characterizing modifier genes of cardiac fibrosis phenotype in hypertrophic cardiomyopathy. *Int. J. Cardiol.* 2021;330:135–141. DOI: 10.1016/j.ijcard.2021.01.047.
62. Pieles G.E., Alkon J., Manlhiot C., Fan C.S., Kinnear C., Benson L.N. et al. Association between genetic variants in the HIF1A-VEGF pathway and left ventricular regional myocardial deformation in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Pediatr. Res.* 2021;89(3):628–635. DOI: 10.1038/s41390-020-0929-z.
63. Чакова Н.Н., Комиссарова С.М., Ниязова С.С. Мутации в генах ионных каналов при гипертрофической кардиомиопатии. Клиническая и экспериментальная хирургия. *Журнал имени академика Б.В. Петровского.* 2019;7(3):63–69. DOI: 10.24411/2308-1198-2019-13007.
64. Repetti G.G., Kim Y., Pereira A.C., Ingles J., Russell M.W., Lakdawala N.K. et al. Discordant clinical features of identical hypertrophic cardiomyopathy twins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2021;118(10):e2021717118. DOI: 10.1073/pnas.2021717118.
65. Niimura H., Bachinski L.L., Sangwanaroj S., Watkins H., Chudley A.E., McKenna W. et al. Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N. Engl. J. Med.* 1998;338(18):1248–1257. DOI: 10.1056/NEJM199804303381802.
66. Fananapazir L., Epstein N.D. Genotype-phenotype correlations in hypertrophic cardiomyopathy. Insights provided by comparisons of kindreds with distinct and identical beta-myosin heavy chain gene mutations. *Circulation.* 1994;89(1):22–32. DOI: 10.1161/01.cir.89.1.22.
67. Maron B.J., Mackey-Bojack S., Facile E., Duncanson E., Rowin E.J., Maron M.S. Hypertrophic cardiomyopathy and sudden death initially identified at autopsy. *Am. J. Cardiol.* 2020;127:139–141. DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.04.021.
68. Yogasundaram H., Alhumaid W., Dzwiniel T., Christian S., Oudit G.Y. Cardiomyopathies and genetic testing in heart failure: Role in defining phenotype-targeted approaches and management. *Can. J. Cardiol.* 2021;37(4):547–559. DOI: 10.1016/j.cjca.2021.01.016.
69. Musunuru K., Hershberger R.E., Day S.M., Klinedinst N.J., Landstrom A.P., Parikh V.N. et al. Genetic Testing for Inherited Cardiovascular Diseases: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2020;13(4):e000067. DOI: 10.1161/HCG.0000000000000067.
70. Garcia-Pavia P., Vázquez M.E., Segovia J., Salas C., Avellana P., Gómez-Bueno M. et al. Genetic basis of end-stage hypertrophic cardiomyopathy. *Eur. J. Heart Fail.* 2011;13(11):1193–1201. DOI: 10.1093/eurjhf/hfr110.

Вклад авторов

Кучер А.Н. – разработка концепции и дизайна, написание текста рукописи, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Валиахметов Н.Р., Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Павлюкова Е.Н. – анализ и интерпретация данных, написание текста рукописи, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Назаренко М.С. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Кучер Аксана Николаевна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, г. Томск, aksana-kucher@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3824-3641>

Валиахметов Наиль Раушанович – аспирант, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, г. Томск, valiakhmetov.nail@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7969-7020>

Салахов Рамиль Ринатович – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ; доцент, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом КЛД, СибГМУ, г. Томск, ramil.salahov@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9789-9555>

Голубенко Мария Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, г. Томск, maria-golubenko@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7692-9954>

Павлюкова Елена Николаевна – д-р мед. наук, профессор, зав. отделением атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, Томский НИМЦ, г. Томск, pavluk@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3081-9477>

Назаренко Мария Сергеевна – д-р мед. наук, руководитель лаборатории популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ; профессор, кафедра медицинской генетики, СибГМУ, г. Томск, maria.nazarenko@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0673-4094>

(✉) Кучер Аксана Николаевна, aksana-kucher@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 30.11.2021;
одобрена после рецензирования 10.02.2022;
принята к публикации 17.03.2022

УДК 616.5:611.018.23:575.113.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-217-226>

Синтез коллагена в коже: генетические и эпигенетические аспекты

Потекаев Н.Н.^{1,2}, Борзых О.Б.³, Шнайдер Н.А.^{3,4}, Петрова М.М.³, Карпова Е.И.¹,
Насырова Р.Ф.^{4,5}

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

² Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента
здравоохранения города Москвы (МНПЦДК ДЗМ)
119071, г. Москва, Ленинский пр., 17

³ Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии (НИЦ ПН) им. В.М. Бехтерева
Россия, 192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 3

⁵ Казанский (Приволжский) федеральный университет (КФУ)
Россия, 420008, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, 18

РЕЗЮМЕ

Одна из важных функций кожи, механическая, обеспечивается коллагеновыми волокнами и их взаимодействием с другими элементами внеклеточного матрикса. Синтез коллагеновых волокон – это сложный многоэтапный процесс. На каждом этапе может возникнуть нарушение, приводящее в итоге к снижению механических свойств соединительной ткани. Клинические нарушения коллагенообразования проявляются в виде повышенной дряблости, рыхлости кожи, раннего проявления признаков старения лица. Кроме клинической картины, врачу косметологу и дерматологу важно понимать этиологию и патогенез коллагенопатий. В нашем обзоре мы обобщили и систематизировали имеющуюся информацию о роли генетических и эпигенетических факторов в процессе синтеза коллагеновых волокон кожи. Понимание патогенеза нарушения коллагенообразования может позволить врачам назначать патогенетически обоснованное лечение с достижением наиболее эффективных результатов и минимизацией нежелательных реакций.

Ключевые слова: коллаген кожи, синтез коллагена, коллагенопатия, полиморфизм генов

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: Потекаев Н.Н., Борзых О.Б., Шнайдер Н.А., Петрова М.М., Карпова Е.И., Насырова Р.Ф. Синтез коллагена в коже: генетические и эпигенетические аспекты. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):217–226. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-217-226>.

Collagen synthesis in the skin: genetic and epigenetic aspects

Potekaev N.N.^{1,2}, Borzykh O.B.³, Shnayder N.A.^{3,4}, Petrova M.M.³, Karpova E.I.¹, Nasyrova R.F.^{4,5}

¹Pirogov Russian National Research Medical University

1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation

²Moscow Research and Practical Center for Dermatology and Cosmetology, Department of Healthcare

17, Leninskiy Av., Moscow, 119071, Russian Federation

³V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University

1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

⁴Bekhterev Psychoneurological Research Institute

3, Bekhtereva Str., St.-Petersburg, 192019, Russian Federation

⁵Kazan Federal University

18, Kremliovskaya Str., Kazan, 420008, Russian Federation

ABSTRACT

One of the most important functions of the skin, mechanical, is provided by collagen fibers and their interaction with other elements of the extracellular matrix. Synthesis of collagen fibers is a complex multistep process. At each stage, disturbances may occur, leading, as a result, to a decrease in the mechanical properties of the connective tissue. In clinical practice, disorders of collagen synthesis are manifested through increased skin laxity and looseness and premature aging. In addition to the clinical presentation, it is important for the cosmetologist and dermatologist to understand the etiology and pathogenesis of collagenopathies. The present review summarizes and systematizes available information about the role of genetic and epigenetic factors in the synthesis of collagen fibers in the skin. Understanding the etiology of collagen synthesis disorders can allow doctors to prescribe pathogenetically grounded treatment with the most effective results and minimize adverse reactions.

Keywords: skin collagen, collagen synthesis, collagenopathy, gene polymorphism

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: Potekaev N.N., Borzykh O.B., Shnayder N.A., Petrova M.M., Karpova E.I., Nasyrova R.F. Collagen synthesis in the skin: genetic and epigenetic aspects. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(3):217–226. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-3-217-226>.

ВВЕДЕНИЕ

Для назначения патогенетически обоснованной терапии эстетических недостатков кожи важно понимать физиологические и патологические процессы в коже, и, исходя из этого, рекомендовать комплекс мероприятий, направленных на восстановление физиологических свойств кожи [1]. Для этого необходимо углубиться в изучение синтеза коллагеновых волокон, включая генетические аспекты коллагенообразования. Объединение разрозненной информации о генах, кодирующих ключевые белки, в том числе и ферменты на всех звеньях процесса синтеза коллагеновых волокон кожи, может помочь разработке новых предиктивных стратегий во врачебной косметологии (эстетической медицине).

Коллаген составляет до 25% (по сухому весу) от всех белков в организме человека, что является основой соединительной ткани, в том числе и кожи [2]. Большое количество современных методик эстетической медицины направлено на улучшение, стимуляцию синтеза коллагеновых волокон в коже [3]. При этом часть компаний приводит результаты клинических испытаний, согласно которым применение той или иной методики приносит значимый результат по данным клинических и гистологических исследований. Но на практике далеко не всегда мы можем получить одинаковый значимый клинический эффект у всех пациентов. В случае получения отличающихся результатов у наших пациентов мы чаще всего говорим об «индивидуальных особенностях» конкретной персоны. Но что лежит в основе таких индивидуальных (персональных) особенностей?

Можно выделить две группы факторов, способных влиять на синтез коллагена в коже: внешние и внутренние [4]. К внешним факторам относятся: характер питания (полнота поступления нутриентов, необходимых для синтеза коллагена); воздействие факторов окружающей среды. К внутренним факторам относятся: состояние гормонального фона; генетический код структурных элементов кожи, заложенный при рождении; эпигенетическая регуляция активности генов, кодирующих ключевые белки и ферменты коллагенообразования [5]. Генетические аспекты обмена (синтеза и деградации), а также функции волокон коллагена и их роль в норме и патологии находятся в стадии активного изучения. Наибольшее количество работ посвящено коллагену костной ткани и внутренних органов. Исследования генетических предикторов коллагенообразования в коже увеличиваются в последние годы и требуют систематизации, что послужило поводом для подготовки настоящего обзора.

СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛЫ КОЛЛАГЕНА

В внеклеточном матриксе выделяют два основных класса макромолекул: гликопротеины (фибронектин, протеогликаны, ламинин); волокнистые белки (коллаген, эластин). Белки, составляющие внеклеточный матрикс, называются «матрисомы» [6]. Молекула коллагена представляет собой фибриллярный гликопротеин, характеризующийся универсальностью в построении различных тканей. Природная форма коллагенового волокна обеспечивает необходимую подвижность при растяжении кожи, но в рубцовых тканях волокна более прямые и тонкие, в результате снижается прочность коллагенового волокна на растяжение [7]. В зависимости от типа коллагена надмолекулярная структура его может быть двух видов: фибриллярная и нефибриллярная. Среди 28 типов коллагена для кожи наибольшее значение имеют фибриллярные коллагены I, III и V типов, и меньшее – нефибриллярные коллагены (коллаген IV типа, расположенный в базальной мембране, и коллагены VI, VII, XIV и XVII типов).

Все коллагены, хотя бы частично, представляют собой левозакрученную суперспираль, состоящую из трех полипептидных спиралей-цепочек [8]. Эти полипептидные цепи могут иметь одинаковую последовательность аминокислотных остатков, и тогда молекула коллагена называется гомомерной, или разную последовательность – гетеромерной молекула коллагена [9]. Так, доминирующей формой коллагена I типа является гетеротример. Гомотримерная форма встречается в тканях плода, опухолях и при некоторых фиброзных поражениях различных тканей, такая форма более устойчива к действию коллагеназ [10].

Коллаген III типа чаще всего встречается в виде гомотримера, он имеет диаметр волокон меньше, чем коллаген I типа, но при появлении коллагена I и III типов последние регулируют диаметр коллагенового волокна [11]. Молекула коллагена состоит из повторяющихся триад (X-Y-Gly)_n, где Gly – аминокислота глицин, а в положении X и Y – любые другие аминокислоты, но достаточно часто эти положения занимают пролин или гидроксипролин [12]. Глицин является самой маленькой из аминокислот, и его боковой водород всегда находится в центре спирали, данная аминокислота способствует завитку спирали молекулы коллагена и обеспечивает плотную упаковку коллагена в спираль [13, 14]. Соответственно, при мутациях генов, приводящих в замене аминокислоты глицина на другую, происходит изменение строения спирали с нарушением функции такого белка. Например, в настоящее время выявлено более 650 мутаций гена *COL3A1*, кодирующего альфа-1 спираль проколлагена III типа, среди которых наиболее распространены миссенс-мутации, заменяющие глицина на более объемную аминокислоту. Большинство замен глицина приводят к образованию более термолабильного белка, с большей восприимчивостью к протеиназам [15]. Большинство пациентов с такими мутациями гетерозиготны и могут продуцировать как нормальные, так и аномальные α-цепи проколлагена III типа, поэтому у них могут быть как нормальные и мутантные гомотримеры, так и тройные цепи, содержащие одну или две аномальные цепи [16].

СИНТЕЗ КОЛЛАГЕНА

Основными производителями компонентов внеклеточного матрикса, включая коллаген, являются фибробlastы. Синтез коллагенового волокна – сложный многоступенчатый процесс, который начинается с транскрипции гена, кодирующего коллаген, в ядре клетки и заканчивается сборкой коллагенового волокна во внеклеточном пространстве [17]. На каждом этапе можно отметить гены, вносящие свой вклад в формирование полноценного волокна. На первичном этапе – это гены, хранящие код строения полипептидной цепи. Также на этом этапе можно отметить роль эпигенетической регуляции. На следующих этапах сборки (пострансляционные изменения) важна роль генов, ответственных за пространственную организацию волокон коллагена, влияющую на функциональность такого волокна [18].

Сборка полипептидной цепи коллагена осуществляется на рибосомах, где происходит считывание информации с матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) и сборка полипептидной цепи (трансляция) из аминокислот с участием транспортной РНК (тРНК).

Первичная полипептидная цепь коллагена состоит из трех доменов: N-пропептидный, тройной спиральный (составляет 95% молекулы), C-пропептидный. Эти домены транспортируются в эндоплазматический ретикулум, где подвергаются последующей посттрансляционной модификации [19]. Ключевым этапом образования коллагена является синтез тройной суперспирали – тримеризация, которая начинается на C-концевом конце в месте S-двойных связей и протекает молниеносно к N-концу молекулы. Каждая отдельная полипептидная цепочка сворачивается в левозакрученную спираль. Затем все три цепочки сворачиваются вместе в правозакрученную спираль. Перед сборкой суперспирали с каждой из цепочек происходят посттрансляционные изменения: гидроксилирование, гликолизирование, окислительное дезаминирование. Все эти изменения происходят внутри

клетки [20]. Пролильные остатки в тройном спиральном домене гидроксилируются до 4-гидроксипролина пролил-4-гидроксилазой, кодируемой генами *P4HA1*, *P4HA2*, *P4HB*, *P4HA3* (для последующей термостабильности коллагена) (таблица) [21]. Часть остатков лизина гидроксилируется проколлаген-лизин,2-оксоглутарат-5-диоксигеназой, кодируемой геном *PLOD* (для последующей ретикуляции коллагена), затем гликозилируется [22, 23]. Из данных, представленных в таблице, видно, что большая активность экспрессии генов при физиологических состояниях в коже у *PLOD1* и *PLOD3*. При гидроксилировании необходимо присутствие кислорода и витамина С (для восстановления ионов железа в составе ферментов) и α-кетоглутарата [24]. Аскорбиновая кислота (витамин С) является кофактором пролилгидроксилаз и лизилгидроксилаз, участвующим в биосинтезе коллагена [25].

Таблица

Гены, кодирующие ферменты, участвующие в посттрансляционных изменениях коллагенового волокна [26]

Ген, кодируемый им белок/фермент	Локализация в хромосоме	Клинические проявления мутации/полиморфизма	Экспрессия в коже (RPKM)
Фибрillярные коллагены			
<i>P4HA1</i> , кодирующий α-субъединицу пролил 4-гидроксилазы	10q22.1, включает 17 экзонов	Ухудшение прогноза при злокачественных новообразованиях	7,129 ± 2,121
<i>P4HA2</i> , кодирующий α-субъединицу пролил 4-гидроксилазы	5q31.1, включает 17 экзонов	Ухудшение прогноза при злокачественных новообразованиях, риск миопии	4,6 ± 0,816
<i>P4HB</i> , кодирующий β-субъединицу пролил 4-гидроксилазы	17q25.3, включает 10 экзонов	Ухудшение прогноза при злокачественных новообразованиях	89,377 ± 8,824
<i>PLOD1 (LH1)</i> , кодирующий лизилгидроксилазу (проколлаген-лизин,2-оксоглутарат 5-диоксигеназу 1)	1p36.22, включает 20 экзонов	Синдром Элерса – Данлоса VI типа	11,061 ± 2,249
<i>PLOD2 (LH2)</i> , кодирующий лизилгидроксилазу (проколлаген-лизин,2-оксоглутарат 5-диоксигеназу 2)	3q24, включает 23 экзона	Синдром Элерса – Данлоса VIB типа, синдром Брука	0,988 ± 0,202
<i>PLOD3 (LH3)</i> , кодирующий лизилгидроксилазу (проколлаген-лизин, 2-оксоглутарат 5-диоксигеназу 3)	7q22.1, включает 19 экзонов	Синдром Элерса – Данлоса VIB типа, Стиклера-подобный синдром	7,062 ± 2,361
<i>LOX</i> , кодирующий лизилоксидазу	5q23.1, включает 8 экзонов	Аневризмы аорты, сосудистые нарушения	4,234 ± 1,207
<i>ADAMTS1</i> , кодирующий фермент дезинтегрин и металлопротеаза с тромбоспондиновым мотивом 1	21q21.3, включает 9 экзонов	Нарушение роста, fertильности и морфологии органов	2,796 ± 0,682
<i>ADAMTS2</i> , кодирующий фермент дезинтегрин и металлопротеаза с тромбоспондиновым мотивом 2	5q35.3, включает 23 экзона	Синдром Элерса – Данлоса VIIIC типа	1,395 ± 0,248
<i>ADAMTS10</i> , кодирующий фермент дезинтегрин и металлопротеаза с тромбоспондиновым мотивом 10	5q35.3, включает 23 экзона	Нарушение роста и развития кожи, хрусталика и сердца, синдром Вейля – Маршесани	1,485 ± 0,952
<i>BMP1</i> , кодирующий костный морфогенетический белок 1	8p21.3, включает 21 экзон	Несовершенный остеогенез, нарушение морфогенеза, регенерации разных тканей	5,382 ± 1,39
<i>BMP2</i> , кодирующий костный морфогенетический белок 2	20p12.3, включает 3 экзона	Нарушение развития костной и хрящевой ткани	2,551 ± 0,444
<i>BMP4</i> , кодирующий костный морфогенетический белок 4	14q22.2, включает 6 экзонов	Патология зубочелюстной системы, орофасциальная расщелина, микрофтальмия, сердечно-сосудистая патология	2,207 ± 0,446
<i>BMP7</i> , кодирующий костный морфогенетический белок 7	20q13.31, включает 7 экзонов	Патология костной системы, почек и бурого жира	7,722 ± 0,536

Другие остатки лизина и гидроксилизина в N- и C-тепептидах проходят окислительное дезаминирование при помощи лизилоксидазы (LOX), при этом образуются реактивные альдегиды, способные формировать ковалентные внутримолекулярные и межмолекулярные поперечные связи [27]. Тримеризация происходит в эндоплазматическом ретикулуме, этому процессу содействуют белки шапероны. Сворачивание молекулы проколлагена начинается только после завершения трансляции всей белковой молекулы с автономного сворачивания C-пропептидного домена на каждой мономерной нити. После сворачивания C-пропептид, богатый цистеином, стабилизируется дисульфидными связями. После образования складок отдельные C-пропептидные домены «узнают» друг друга и собираются вместе, в фибрillлярных белках этот процесс опосредуется Ca^{2+} и межмолекулярными дисульфидными связями [28]. После чего собранный C-пропептидный тример инициирует молниеподобное сворачивание тройного спирального домена, богатого пролином и глицином, с предварительной изомеризацией пролиновых пептидных связей в трансконформацию [10]. В образовавшейся тройной спирали ослабляется дальнейшее гидроксилирование проколлагена и начинается подготовка к секреции белка (неканоническим путем). После образования суперспирали происходит удаление больших глобулярных доменов с двух сторон молекулы C-амино(N)-концевыми протеиназами с получением тропоколлагена. В дальнейшем происходит ретикуляция коллагена – между некоторыми остатками лизина и гидроксилизина образуются перекрестные связи [29].

Регуляция смещения и ориентации различных коллагеновых цепей происходит дополнительными глобулярными неколлагеновыми доменами. После образования тройной спирали происходит отщепление концевых пропептидов. N-концевые пропептиды отщепляются цинк-зависимыми протеазами, принадлежащими к группе ADAMTS (A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs – дезинтегрин и металлопротеаза с тромбоспондиновым мотивом). C-концевые пропептиды коллагена отщепляются группой металлопротеаз, принадлежащих к BMP1 (Bone morphogenetic protein 1 – костный морфогенетический белок 1) (см. таблицу) [30]. Как видно из таблицы, экспрессия генов ADAMTS1, ADAMTS2, ADAMTS10 в коже в физиологических условиях примерно одинаковая, тогда как у остальных ферментов группы ADAMTS в коже наблюдается лишь следовая экспрессия генов. Однако ключевым ферментом, участвующим в отщеплении N-концевого пропептида, является

N-протеаза, кодируемая геном ADAMTS2. В группе генов BMP наибольшая экспрессия в коже при физиологических условиях наблюдается у BMP7 и BMP1, но ключевая роль в отщеплении C-концевого пропептида проколлагена в коже принадлежит BMP-1 [31].

Сборка молекулы коллагена пространственно организована в зависимости от типа коллагена и ферментативно поддерживается дополнительными молекулярными организаторами, такими как фибронектин, интегрины и минорные коллагены [32]. Вначале из молекулы тропоколлагена формируются надмолекулярные структуры из 4-5 молекул – протофибриллы, затем образуются микрофибриллы, из которых с участием протеогликанов формируется фибрилла (диаметром от 10 до 300 нм) [33]. Протеогликаны на поверхности фибрилл создают своеобразную оболочку, затем при аутогезии фибриллы формируют коллагеновое волокно, в состав которых также входят гликозаминогликаны, гликопротеины и неколлагеновые белки. Фибролигенез является спонтанным процессом (самосборка) – доказательством служит внезапное образование фибрилл коллагеновыми волокнами *in vitro*. Но *in vivo* фибролигенез коллагена I типа контролируют клеточные механизмы: он осуществляется только в присутствии коллагена V типа, фибронектина и интегринов (фибронектинсвязывающих и коллагенсвязывающих) [34]. При этом считается, что коллаген V типа важен для зарождения фибриллы коллагена I типа, а фибронектин и интегрины – при сборке.

Тканеспецифичность коллагенового волокна определяется конечными составом различных коллагенов в гетеротипических фибриллах, на который влияют различные сигнальные молекулы, участвующие в фибролигенезе [35]. В молекуле коллагена существуют связи внутриспиральные и межспиральные. Ретикуляция осуществляется двумя механизмами: специфическим (ферментативно контролируемым) и неспецифическим (спонтанным). По первому механизму происходит окисление лизина лизилоксидазой, в дальнейшем с образованием альдиминов. Затем происходит реакция с гистидином до образования химически устойчивого гистидино-гидроксилизинонорлейцина [36]. Лизилоксидаза, осуществляющая гидроксилирование лизильных остатков коллагенов I и II типов, кодируется геном LOX [37]. При втором механизме может быть множество неспецифических реакций с глюкозой и продуктами ее окисления, в результате чего образуются конечные продукты гликации. Этот механизм особо важен при старении и при таких заболеваниях, как сахарный диабет. Углеводы и окисленные углеводы вступают

в реакцию с аргинином, лизином и гидроксилизином с образованием глицированного белка. Ретикулированный коллаген устойчив к ферментативному и химическому расщеплению.

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА КОЛЛАГЕНА

На синтез и сборку коллагенового волокна влияет множество сигнальных молекул и белков, среди которых можно выделить несколько наиболее важных: N-пропептиды коллагена I типа; фибронектин; лизилоксидаза; тенасцин-X; тромbosпондин; матриллины; перлекан; декорин; бигликан; фибромодулин; люмикан. Так мутация гена, кодирующего тенасцин-X, приводит к развитию синдрома Элерса – Данлоса. При этом синдроме обнаруживаются коллагеновые фибриллы обычного размера и формы, но с меньшей плотностью упаковки. В результате чего снижается общее содержание коллагена в коже на 30% [38]. Кроме того, существует регуляция по принципу отрицательной обратной связи: коллаген и N-пропептиды тормозят дальнейший синтез протоколлагена. Одним из наиболее распространенных гликопротеинов межклеточного матрикса является фибронектин, который через интегрин-опосредованную сигнализацию играет важную роль в развитии, клеточном росте, дифференцировке, адгезии, миграции клеток [39].

Для образования фибрилл коллагена I требуется присутствие коллагена V типа. Таким образом, коллаген V типа выступает в роли центрального ядра при формировании коллагенового волокна I типа. В регуляции экспрессии генов коллагена также играют роль трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (Transforming growth factor (TGF $\beta 1$)), Wnt/ β -катенин и p38-митоген-активированная протеинкиназа (p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)) [40]. TGF β также связывается с внеклеточным матриксом через соединение с латентным TGF β связывающим белком 1, который ассоциируется с микрофибриллами фибронектина 1 и фибриллина [41]. Однако стоит отметить, что TGF- $\beta 1$ стимулирует дифференцировку миофибробластов, в результате чего при регенерации ткани развивается патологический фиброз (рубцевание). Дополнительным фактором дифференцировки миофибробластов является механическое напряжение (жесткость) тканей, которая поддерживает профибротическую активацию [42]. В подавлении активности TGF- $\beta 1$ могут участвовать различные цитокины, включая интерферон гамма (IFN γ), интерлейкин-1 (IL-1) и основные факторы роста фибробластов (bFGF, FGF-2). В результате их действия уменьшается отложение коллагена и индуцируется апоптоз [43]. Гипоксия может влиять на

снижение уровня мРНК и белка коллагена III типа в хондроцитах и активизацию в легких, приводя к фиброзу альвеол. В коже в ответ на гипоксию, травму или метаболический стресс выделяется аденоzin, пурин, образующийся из АТФ и АДФ. В фибробластах аденоzin, действуя через свои рецепторы, активирует экспрессию гена COL3A1 [44]. Эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor (EGF)) и основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor (bFGF)) также усиливают экспрессию мРНК COL3A1 и белка в фибробластах кожи человека через сигнализацию MAPK [45].

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

Эпигенетика изучает наследуемое изменение синтеза белков без изменений последовательности нуклеотидов. Классически такие изменения вызваны действием регуляторов синтеза белка (де-/метилирование ДНК, де-/ацетилирование гистонов, де-/фосфорилирование транскрипционных факторов, действие регуляторной микроРНК (miRNA) и другие внутриклеточные механизмы. Модификация ДНК и гистонов (участвуют в упаковке ДНК в ядре клетки) изменяет взаимодействие «гистон–гистон» и «гистон–ДНК», в результате регулируя доступность факторов транскрипции и влияя на транскрипцию генов [46]. Эпигенетические механизмы лежат среди прочих в основе механизмов старения кожи и коллагеновых волокон. Наиболее часто изучается роль метилирования ДНК и гистонов, а также ацетилирования гистонов [47]. В частности, при метилировании ДНК происходит репрессия транскрипции и долгосрочное поддержание стабильности генома, но в некоторых спорадических случаях метилирование ДНК приводит к активации генов в нескольких видах клеток [48]. Деметилированию ДНК способствует воздействие некоторых внешних и внутренних факторов. Поддержание метилированной ДНК важно для сохранения клеток-предшественников и самообновления кожи [49].

При старении кожи накапливается так называемый эпигенетический дрейф, в результате чего накапливаются как гипометилированные, так и гиперметилированные участки ДНК. При этом в гипометилирование ДНК большой вклад вносит ультрафиолетовое (УФ) излучение, а степень гипометилирования коррелирует с клиническими показателями фотостарения кожи [50]. Примером эпигенетических изменений является снижение регуляции гена, кодирующего LOX, в старых фибробластах, в результате чего снижаются механические свойства кожи [51]. Метилирование гистонов, в зависимости от того, какой участок модифицирован, может приводить к активации или

подавлению транскрипции. Ацетилирование (деацетилирование) хвостов гистонов вызывает противоположные метилированию (деметилированию) эффекты: ацетилирование приводит к релаксации хроматина и активации транскрипции; деацетилирование, наоборот, – к более плотному скручиванию хроматина и торможению транскрипции.

Специфические НАД⁺-зависимые ферменты сиртуины (SIRT) за счет участия в ацетилировании гистонов играют ключевую роль в эпигенетической регуляции и облегчении транскрипции, участвуют в контроле энергетического метаболизма и окислительного стресса, выживания клеток, реакции на УФ-повреждение, reparации ДНК, регенерации тканей и воспалении [52]. В дерме сиртуины могут ингибировать деградацию коллагена, регулировать reparацию ДНК, повышать активность синтеза коллагена I типа фибробластами. Активность сиртуинов снижается с возрастом и в условиях окислительного стресса [53].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большое количество генетических и эпигенетических факторов влияют на полноценность функционирования коллагеновых волокон и, соответственно, механических свойств кожи. Мутации, приводящие к различным коллагенопатиям, могут быть связаны с одним из генов, кодирующих коллагеновые белки, ферменты, участвующие в посттрансляционных модификациях коллагена, белки миоматрицы или гликозаминогликаны [10]. В российской медицине ранее предложены термины дифференцированных и недифференцированных наследственных дисплазий соединительной ткани. Внедрение современных методов молекулярно-генетической диагностики свидетельствует о том, что к наиболее распространенным наследственным («дифференцированным») коллагенопатиям относятся несовершенный остеогенез, синдром Элерса – Данлоса, болезнь Каффи, синдром Марфана [25], которые следует учитывать врачам эстетической медицины. Это моногенные синдромы с mendelianским типом наследования, обусловленные причинными (патогенными) генными мутациями, при которых вклад окружающей среды минимален или отсутствует. Например, к генам, участвующим в развитии синдрома Элерса – Данлоса, относятся: *COL5A1*, *COL5A2*, *COL3A1*, *PLOD1*, *COL1A1*, *COL1A2*, *ADAMTS2*, *TNXB*, *FMNA*, *CHST14*, *SLC39A13*, *B4GALT7*, *FKBP14* [54].

Однако увеличивается число ассоциативных генетических исследований мультифакторных («недифференцированных») коллагенопатий, при которых важным является как носительство полимор-

физмов кандидатных генов коллагенообразования, так и влияние внешнесредовых факторов. Это обусловлено более высокой частотой встречаемости в популяции мультифакторных коллагенопатий по сравнению с моногенными коллагенопатиями, многие из которых являются редкими (орфанными). Исследование вклада однонуклеотидных вариантов/полиморфизмов в развитие мультифакторных заболеваний соединительной ткани в целом и в развитие патологии коллагена кожи человека, в частности [55] является актуальным. Однако ассоциативных генетических исследований генов, ответственных за полноценность коллагеновых волокон, в настоящее время недостаточно для составления полного и четкого персонализированного алгоритма ведения таких пациентов врачами косметологами и дерматологами. Поэтому врачи в большей степени ориентируются на клиническую картину: повышенную дряблость; гиперэластичность; раннее проявление старения; другие признаки, косвенно указывающие на патологию в звене коллагена. И только на основе клинической картины составляют план лечения, направленного на протекцию и улучшение синтеза коллагеновых волокон. Например, к таким рекомендациям, исходя из внешних и внутренних факторов, можно отнести изменение образа жизни, дополнительный прием витаминов, минералов, мезотерапию (биоревитализацию) с необходимыми для синтеза коллагена аминокислотами и кофакторами. Учет результатов молекулярно-генетической диагностики моногенных и мультифакторных коллагенопатий и их трансляция в реальную практику врача косметолога и дерматолога позволят повысить эффективность и безопасность местной и общей терапии процессов нормального и патологического старения кожи.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Капулер О., Сельская Б., Галеева А., Камилов Ф. Метаболизм коллагеновых волокон на фоне возрастных изменений. *Врач.* 2015;8:64–69.
2. Antoine E.E., Vlachos P.P., Rylander M.N. Review of collagen I hydrogels for bioengineered tissue microenvironments: characterization of mechanics, structure, and transport. *Tissue Eng. Part B. Rev.* 2014;20(6):683–696. DOI: 10.1089/ten.TEB.2014.0086.
3. Мантуррова Н.Е., Стенько А.Г., Петинати Я.А., Чайковская Е.А., Болгарина А.А. Инъекционный коллаген в коррекции возрастных изменений кожи: экспериментально-клинические параллели. *Вестник РГМУ.* 2019;1:79–85. DOI: 10.24075/vrgmu.2019.010.
4. Blair M.J., Jones J.D., Woessner A.E., Quinn K.P. Skin structure-function relationships and the wound healing response to intrinsic aging. *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2020;9(3):127–143. DOI: 10.1089/wound.2019.1021.

5. Zhang S., Duan E. Fighting against skin aging: the way from bench to bedside. *Cell Transplant.* 2018;27(5):729–738. DOI: 10.1177/0963689717725755.
6. Arseni L., Lombardi A., Orioli D. From structure to phenotype: impact of collagen alterations on human health. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(5):1407. DOI: 10.3390/ijms19051407.
7. Limandjaja G.C., Niessen F.B., Scheper R.J., Gibbs S. Hypertrophic scars and keloids: Overview of the evidence and practical guide for differentiating between these abnormal scars. *Exp. Dermatol.* 2021;30(1):146–161. DOI: 10.1111/exd.14121.
8. Fertala A. Three Decades of research on recombinant collagens: reinventing the wheel or developing new biomedical products? *Bioengineering (Basel)*. 2020;7(4):155. DOI: 10.3390/bioengineering7040155.
9. Sharma U., Carrique L., Vadon-Le Goff S., Mariano N., Georges R.N., Delolme F. et al. Structural basis of homo- and heterotrimerization of collagen I. *Nat. Commun.* 2017;8:14671. DOI: 10.1038/ncomms14671.
10. Lu Y., Zhang S., Wang Y., Ren X., Han J. Molecular mechanisms and clinical manifestations of rare genetic disorders associated with type I collagen. *Intractable Rare Dis. Res.* 2019;8(2):98–107. DOI: 10.5582/irdr.2019.01064.
11. Asgari M., Latifi N., Heris H.K., Vali H., Mongeau L. In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics. *Sci. Rep.* 2017;7(1):1392. DOI: 10.1038/s41598-017-01476-y.
12. Rowley A.T., Nagalla R.R., Wang S.W., Liu W.F. Extracellular matrix-based strategies for immunomodulatory biomaterials engineering. *Adv. Healthc. Mater.* 2019;8(8):e1801578. DOI: 10.1002/adhm.201801578.
13. San Antonio J.D., Jacenko O., Fertala A., Orgel J.P.R.O. Collagen Structure-Function Mapping Informs Applications for Regenerative Medicine. *Bioengineering (Basel)*. 2020;8(1):3. DOI: 10.3390/bioengineering8010003.
14. Jafari H., Lista A., Siekappen M.M., Ghaffari-Bohlouli P., Nie L., Alimoradi H. et al. Fish collagen: extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. *Polymers. (Basel)*. 2020;12(10):2230. DOI: 10.3390/polym12102230.
15. Wan T., Ye J., Wu P., Cheng M., Jiang B., Wang H. et al. Recurrent pneumothorax and intrapulmonary cavitary lesions in a male patient with vascular Ehlers-Danlos syndrome and a novel missense mutation in the COL3A1 gene: a case report. *BMC Pulm. Med.* 2020;20(1):149. DOI: 10.1186/s12890-020-1164-4.
16. Sakai K., Toda M., Kyoyama H., Nishimura H., Kojima A., Kuwabara Y. et al. Vascular Ehlers-Danlos syndrome with a novel missense mutation in *COL3A1*: a man in His 50s with aortic dissection after interventional treatment for hemothorax as the first manifestation. *Intern. Med.* 2019;58(23):3441–3447. DOI: 10.2169/internalmedicine.2983-19.
17. Rajan A.M., Ma R.C., Kocha K.M., Zhang D.J., Huang P. Dual function of perivascular fibroblasts in vascular stabilization in zebrafish. *PLoS Genet.* 2020;16(10):e1008800. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008800.
18. Merl-Pham J., Basak T., Knüppel L., Ramanujam D., Athanasson M., Behr J. et al. Quantitative proteomic profiling of extracellular matrix and site-specific collagen post-translational modifications in an *in vitro* model of lung fibrosis. *Matrix Biol. Plus.* 2019;1:100005. DOI: 10.1016/j.mbpplus.2019.04.002.
19. Wong M.Y., Shoulders M.D. Targeting defective proteostasis in the collagenopathies. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2019;50:80–88. DOI: 10.1016/j.cbpa.2019.02.021.
20. Sipilä K.H., Drushinin K., Rappu P., Jokinen J., Salminen T.A., Salo A.M. et al. Proline hydroxylation in collagen supports integrin binding by two distinct mechanisms. *J. Biol. Chem.* 2018;293(20):7645–7658. DOI: 10.1074/jbc.RA118.002200.
21. Qi Y., Xu R. Roles of PLODs in Collagen Synthesis and Cancer Progression. *Front. Cell Dev. Biol.* 2018;6:66. DOI: 10.3389/fcell.2018.00066.
22. Karna E., Szoka L., Huynh T.Y.L., Palka J.A. Proline-dependent regulation of collagen metabolism. *Cell Mol. Life Sci.* 2020;77(10):1911–1918. DOI: 10.1007/s00018-019-03363-3.
23. Lim P.J., Lindert U., Opitz L., Haussler I., Rohrbach M., Giunta C. Transcriptome profiling of primary skin fibroblasts reveal distinct molecular features between *PLOD1*- and *FKBP14*-kyphoscoliotic Ehlers-Danlos syndrome. *Genes (Basel)*. 2019;10(7):517. DOI: 10.3390/genes10070517.
24. Pullar J.M., Carr A.C., Vissers M.C.M. The roles of vitamin C in skin health. *Nutrients.* 2017;9(8):866. DOI: 10.3390/nu9080866.
25. Castori M. Ehlers-Danlos syndrome, hypermobility type: an underdiagnosed hereditary connective tissue disorder with mucocutaneous, articular, and systemic manifestations. *ISRN Dermatol.* 2012;2012:751768. DOI: 10.5402/2012/751768.
26. NCBI. Genes & Expression. Gene. Accessed 23 April 2021. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
27. DiChiara A.S., Li R.C., Suen P.H., Hosseini A.S., Taylor R.J., Weickhardt A.F. et al. A cysteine-based molecular code informs collagen C-propeptide assembly. *Nat. Commun.* 2018;9(1):4206. DOI: 10.1038/s41467-018-06185-2.
28. Caviness P., Bauer R., Tanaka K., Janowska K., Roeser J.R., Harter D. et al. Ca²⁺-induced orientation of tandem collagen binding domains from clostridial collagenase ColG permits two opposing functions of collagen fibril formation and retardation. *FEBS J.* 2018;285(17):3254–3269. DOI: 10.1111/febs.14611.
29. Rosell-García T., Paradela A., Bravo G., Dupont L., Bekhouche M., Colige A. et al. Differential cleavage of lysyl oxidase by the metalloproteinases BMP1 and ADAMTS2/14 regulates collagen binding through a tyrosine sulfate domain. *J. Biol. Chem.* 2019;294(29):11087–11100. DOI: 10.1074/jbc.RA119.007806.
30. Heumüller S.E., Talantikite M., Napoli M., Armengaud J., Mörgelin M., Hartmann U. et al. C-terminal proteolysis of the collagen VI α3 chain by BMP-1 and proprotein convertase(s) releases endotrophin in fragments of different sizes. *J. Biol. Chem.* 2019;294(37):13769–13780. DOI: 10.1074/jbc.RA119.008641.
31. Graham J., Raghunath M., Vogel V. Fibrillar fibronectin plays a key role as nucleator of collagen I polymerization during macromolecular crowding-enhanced matrix assembly. *Biomat. Sci.* 2019;7(11):4519–4535. DOI: 10.1039/c9bm00868c.
32. Goldbloom-Hetzner L., Hao D., Wang A. Developing regenerative treatments for developmental defects, injuries, and diseases using extracellular matrix collagen-targeting

- peptides. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(17):4072. DOI: 10.3390/ijms20174072.
33. Hoop C.L., Zhu J., Nunes A.M., Case D.A., Baum J. Revealing accessibility of cryptic protein binding sites within the functional collagen fibril. *Biomolecules*. 2017;7(4):76. DOI: 10.3390/biom7040076.
34. McKay T.B., Priyadarsini S., Karamichos D. Mechanisms of collagen crosslinking in diabetes and keratoconus. *Cells*. 2019;8(10):1239. DOI: 10.3390/cells8101239.
35. Rosell-Garcia T., Rodriguez-Pascual F. Enhancement of collagen deposition and cross-linking by coupling lysyl oxidase with bone morphogenetic protein-1 and its application in tissue engineering. *Sci. Rep.* 2018;8(1):10780. DOI: 10.1038/s41598-018-29236-6.
36. Harlow C.R., Wu X., van Deemter M., Gardiner F., Poland C., Green R. et al. Targeting lysyl oxidase reduces peritoneal fibrosis. *PLoS One*. 2017;12(8):e0183013. DOI: 10.1371/journal.pone.0183013.
37. Cai L., Xiong X., Kong X., Xie J. The role of the lysyl oxidases in tissue repair and remodeling: a concise review. *Tissue Eng. Regen. Med.* 2017;14(1):15–30. DOI: 10.1007/s13770-016-0007-0.
38. Petersen J.W., Douglas J.Y. Tenascin-X, collagen, and Ehlers-Danlos syndrome: tenascin-X gene defects can protect against adverse cardiovascular events. *Med. Hypotheses*. 2013;81(3):443–447. DOI: 10.1016/j.mehy.2013.06.005.
39. Hielscher A., Ellis K., Qiu C., Porterfield J., Gerecht S. Fibronectin deposition participates in extracellular matrix assembly and vascular morphogenesis. *PLoS One*. 2016;11(1):e0147600. DOI: 10.1371/journal.pone.0147600.
40. Song Y., Kim J.S., Choi E.K., Kim J., Kim K.M., Seo H.R. TGF- β -independent CTGF induction regulates cell adhesion mediated drug resistance by increasing collagen I in HCC. *Oncotarget*. 2017;8(13):21650–21662. DOI: 10.18632/oncotarget.15521.
41. Spada S., Tocci A., Di Modugno F., Nisticò P. Fibronectin as a multiregulatory molecule crucial in tumor matrisome: from structural and functional features to clinical practice in oncology. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2021;40(1):102. DOI: 10.1186/s13046-021-01908-8.
42. Duong T.E., Hagood J.S. Epigenetic regulation of myofibroblast phenotypes in fibrosis. *Curr. Pathobiol. Rep.* 2018;6(1):79–96. DOI: 10.1007/s40139-018-0155-0.
43. Wang P., Shu B., Xu Y., Zhu J., Liu J., Zhou Z. et al. Basic fibroblast growth factor reduces scar by inhibiting the differentiation of epidermal stem cells to myofibroblasts via the Notch1/Jagged1 pathway. *Stem. Cell Res Ther.* 2017;8(1):114. DOI: 10.1186/s13287-017-0549-7.
44. Gómez-Leduc T., Desancé M., Hervieu M., Legendre F., Ollitrault D., de Vienne C. et al. Hypoxia is a critical parameter for chondrogenic differentiation of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells in type I/III collagen sponges. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(9):1933. DOI: 10.3390/ijms18091933.
45. Zeng F., Harris R.C. Epidermal growth factor, from gene organization to bedside. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2014;28:2–11. DOI: 10.1016/j.semcd.2014.01.011.
46. Yang I.V. Epigenomics of idiopathic pulmonary fibrosis. *Epigenomics*. 2012;4(2):195–203. DOI: 10.2217/epi.12.10.
47. Perdigoto C.N., Valdes V.J., Bardot E.S., Ezhkova E. Epigenetic regulation of epidermal differentiation. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2014;4(2):a015263. DOI: 10.1101/cshperspect.a015263.
48. Stoll S., Wang C., Qiu H. DNA methylation and histone modification in hypertension. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(4):1174. DOI: 10.3390/ijms19041174.
49. Vandiver A.R., Irizarry R.A., Hansen K.D., Garza L.A., Runarsson A., Li X. et al. Age and sun exposure-related widespread genomic blocks of hypomethylation in nonmalignant skin. *Genome Biol.* 2015;16(1):80. DOI: 10.1186/s13059-015-0644-y.
50. Moulin L., Cenizo V., Antu A.N., André V., Pain S., Sommer P. et al. Methylation of LOXL1 promoter by DNMT3A in aged human skin fibroblasts. *Rejuvenation Res.* 2017;20(2):103–110. DOI: 10.1089/rej.2016.1832.
51. Ghosh K., O’Neil K., Capell B.C. Histone modifiers: Dynamic regulators of the cutaneous transcriptome. *J. Dermatol. Sci.* 2018;89(3):226–232. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2017.12.006.
52. Garcia-Peterson L.M., Wilking-Busch M.J., Ndiaye M.A., Philippe C.G.A., Setaluri V., Ahmad N. Sirtuins in skin and skin cancers. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2017;30(4):216–224. DOI: 10.1159/000477417.
53. Carloni F., D’Agostino M., Beji S., Torcinaro A., Rizzi R., Zaccagnini G. et al. Oxidative stress-induced miR-200c disrupts the regulatory loop among SIRT1, FOXO1, and eNOS. *Antioxid. Redox Signal.* 2017;27(6):328–344. DOI: 10.1089/ars.2016.6643.
54. Kuivaniemi H., Tromp G. Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases. *Gene*. 2019;707:151–171. DOI: 10.1016/j.gene.2019.05.003.
55. Борзых О.Б., Петрова М.М., Шнайдер Н.А., Насырова Р.Ф. Проблемы внедрения персонализированной медицины во врачебной косметологии в России. *Сибирское медицинское обозрение*. 2021;128(2):12–22.

Вклад авторов

Потекаев Н.Н. – разработка концепции и дизайна работы. Борзых О.Б. – анализ публикаций обсуждаемой темы, обсуждение дизайна и написание статьи. Шнайдер Н.А. – окончательное утверждение на представление рукописи. Петрова М.М. – обоснование рукописи. Карпова Е.И. – анализ публикаций обсуждаемой темы, написание статьи. Насырова Р.Ф. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Потекаев Николай Николаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой кожных болезней и косметологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова, директор МНПЦДК ДЗМ, г. Москва, klinderma@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9578-5490>

Борзых Ольга Борисовна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, центр коллективного пользования «Молекулярные и клеточные технологии», КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, kurumchina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3651-4703>

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; вед. науч. сотрудник, центр коллективного пользования «Молекулярные и клеточные технологии», КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, naschneider@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2840-837X>

Петрова Марина Михайловна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой поликлинической терапии и семейной медицины с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, stk99@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8493-0058>

Карпова Елена Ивановна д-р мед. наук, профессор, кафедра кожных болезней и косметологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, elena-karpova@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0510-1022>

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, Россия; гл. науч. сотрудник, научно-исследовательская лаборатория OpenLab «Генные и клеточные технологии», Институт фундаментальной медицины и биологии, КФУ, Казань, nreginaf77@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-1874-9434>

(✉) **Борзых Ольга Борисовна, kurumchina@mail.ru**

Поступила в редакцию 10.09.2021;
одобрена после рецензирования 30.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

РОСТИСЛАВ СЕРГЕЕВИЧ КАРПОВ (к 85-летию со дня рождения)



8 сентября 2022 г. исполнилось 85 лет со дня рождения Ростислава Сергеевича Карпова, доктора медицинских наук, профессора, действительного члена Российской академии наук (РАН). Ростислав Сергеевич – ведущий отечественный ученый терапевт-кардиолог, получивший заслуженное признание не только в России, но и за рубежом. За его плечами достойная школа жизни, богатый опыт медицинской и научно-педагогической деятельности – более 60 лет служения добру, своим пациентам, ученикам и коллегам.

Р.С. Карпов в 1960 г. успешно окончил Томский медицинский институт по специальности «лечебное дело». Прошел профессиональный путь от врача клиник Томского медицинского института (1962) до заведующего кафедрой факультетской терапии с курсом клинической фармакологии Сибирского государственного медицинского университета (1979–2018) и директора Научно-исследовательского института (НИИ) кардиологии, Томск (1985–2015). С 30 июня 2015 г. по настоящее время работает в должности научного руководителя НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук, с 2016 г. – руководитель научного направления Томского НИМЦ.

С именем академика РАН Р.С. Карпова связано продолжение традиций томской терапевтической школы академиков АН СССР и РАМН М.С. Курлова, Д.Д. Яблокова и активное формирование, продвижение в стране и регионе новых научных направлений – ревматологии, кардиологии, детской кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии. Ростислав Сергеевич явился одним из организаторов и многолетним консультантом ревматологической службы г. Томска. Результат научной, педагогической и практической деятельности Р.С. Карпова – снижение показателей заболеваемости, инвалидизации и смертности больных ревматологического профиля. Профессор Р.С. Карпов стал организатором и первым деканом факультета усовершенствования специалистов при Томском медицинском институте (1979), открытие которого имело принципиально важное значение для профессиональной подготовки врачей региона.

Совместно с академиками РАМН Е.И. Чазовым и В.А. Алмазовым Ростислав Сергеевич считается основателем кардиологической службы СССР, отвечаая за ее становление и развитие в Сибири и на Дальнем Востоке. При его непосредственном участии в 1980 г. в Томске был открыт филиал Всесоюзного кардиологического центра (сегодня – НИИ кардиологии), который под руководством Р.С. Карпова стал крупнейшим научно-исследовательским, клиническим и образовательным комплексом на востоке страны с филиалом в г. Тюмени. На протяжении 36 лет (1980–2016) филиал выполнял функции головного учреждения в Сибири и на Дальнем Востоке по кардиологии и детской кардиологии. По инициативе академика РАН Р.С. Карпова в Томске был открыт первый за Уралом кардиологический диспансер мощностью 40 тысяч посещений в год. Под его руководством впервые в России была разработана и внедрена в практическое здравоохранение Томской области мобильная автоматизированная система оказания кардиологической помощи в условиях рассредоточено проживающего населения Сибирского региона, которая в настоящее время в виде различных аналогов на базе автобусов, поездов, речных судов продолжает активно развиваться и функционировать в стране.

В 1987 г. при активном участии и поддержке Р.С. Карпова академиком РАМН В.В. Пекарским на базе НИИ кардиологии было организовано одно из первых в России кардиохирургических отделений. Клиника института всегда являлась и продолжает оставаться объектом особого внимания и заботы Ростислава Сергеевича. В настоящее время она представляет собой уникальный сердечно-сосудистый кластер, позволяющий решать актуальные проблемы здоровья населения по разделу «кардиология» и «сердечно-сосудистая хирургия». Клиника входит в пятерку лидеров федеральных медицинских учреждений, участвующих в оказании высокотехнологичной медицинской помощи гражданам Российской Федерации.

С самого начала Р.С. Карпов задал тон инновационному и трансляционному направлению научных исследований в институте. С целью развития инновационных технологий на базе отделения хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца института в 1998 г. был создан Сибирский федеральный аритмологический центр, который за годы своего функционирования по праву признан ведущим региональным центром по аритмологии, во многом определяющим прогресс в лечении сложных сердечных аритмий у населения Сибири, Дальнего Востока и ближнего зарубежья. В 2010 г. при активной поддержке Р.С. Карпова на базе отделения детской кардиологии была организована функциональная инновационная структура «Центр детского сердца» с целью помочь детям и подросткам с сердечно-сосудистыми заболеваниями, начиная с prenatalной диагностики и заканчивая многоэтапными гемодинамическими и электрофизиологическими коррекциями жизнеугрожающих врожденных пороков сердца и нарушений ритма сердца. По спектру выполняемых вмешательств и результатам лечения сегодня «Центр детского сердца» признан одной из ведущих клиник России.

Являясь сторонником пациент-ориентированного подхода в медицине, в 2016 г. Р.С. Карпов выступил одним из инициаторов объединения шести томских научно-исследовательских медицинских институтов (кардиологии, онкологии, медицинской генетики,

психиатрии, фармакологии и регенеративной медицины, акушерства, гинекологии и перинатологии) в единый Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, который за 5 лет стал крупнейшей научной медицинской организацией страны, занимающей 1 место в научном рейтинге среди организаций Министерства образования и науки по направлению «Клиническая медицина».

Р.С. Карповым создана известная терапевтическая и кардиологическая научная школа. В его научных трудах нашли достойное отражение наиболее значимые этапы в решении ведущих проблем современной медицинской науки и здравоохранения. Основные направления его научных исследований – ревматология, кардиология, клиническая фармакология, клиническая и популяционная эпидемиология, профилактика сердечно-сосудистых заболеваний, общественное здоровье и здравоохранение. Он является автором более 1 000 научных трудов, в том числе 38 монографий, 43 патентов на изобретения. Под его руководством выполнено и защищено 42 докторских и 81 кандидатская диссертации. Ученые Ростислава Сергеевича успешно трудятся на поприще терапии, кардиологии, ревматологии и клинической кардиологии более чем в 40 ведущих организациях страны и мира.

За выдающиеся заслуги Ростислав Сергеевич награжден многочисленными государственными и общественными наградами.

Вся жизнь Ростислава Сергеевича посвящена истинному служению людям – своим пациентам, ученикам, коллегам. Он и сегодня остается в рабочем строю, щедро делясь с окружающими своей зелой мудростью, бесценным человеческим и профессиональным опытом.

Администрация и коллектив НИИ кардиологии Томского НИМЦ сердечно поздравляют Учителя, Друга, Коллегу – Ростислава Сергеевича Карпова с юбилеем, желают ему отменного здоровья, радости, позитивного настроения и активного долголетия! Пусть никогда не угасает интерес к жизни, а положительные эмоции вдохновляют на новые дела!

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 20
№ 4. 2021

4. 2015



БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



1. 2013



3. 2013

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



6. 2013

20 ЛЕТ ЖУРНАЛУ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ»

bulletin.tomsk.ru

ISSN PRINT: 1682-0363 ISSN ONLINE: 1819-3684 Бюллетень сибирской медицины
bulletin.ru ENG | РУС

Бюллетень сибирской медицины

Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ О ЖУРНАЛЕ МОЙ КАЛИНЕТ ПОИСК СВЕЖИЙ НОМЕР АРХИВ НОВОСТИ АРХИВ 2002-2011

Научно-практический рецензируемый журнал
Научно-практический журнал общемедицинского профиля «Бюллетень сибирской

Научно/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 бионженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина;
- трансплантационная 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 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 26.05.2001 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

Отправить статью
Правила для авторов
Редакционная коллегия
Рецензирование
Этика публикаций

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание интегральной энзимы альфа-акозы в кистях после физической нагрузки различного характера

Эм 16, № 1 (2017)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети

OPEN ACCESS ANRI СТЕЛЕСКА
DOAJ LIBRARY.RU SCOPUS
Global Google SCOPUS
HEICON NLM Catalog Open Archives
ResearchGate РГБ SCOPUS
rnmj.ru ROAD Russian Science Citation Index
Scopus ULRICH'S PERIODICALS DIRECTORY
WorldCat znanium.com

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (online)
БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
2022. Т. 21. № 3. 1–228