

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

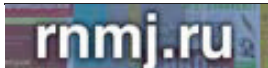
BSM



Том 22

№ 2. 2023

ЖУРНАЛ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ» ПРЕДСТАВЛЕН НА СЛЕДУЮЩИХ РЕСУРСАХ

	Крупнейшая в мире база данных рефератов и цитирований от компании Elsevier
	DOAJ – это уникальный и обширный индекс разнообразных журналов открытого доступа со всего мира
	Национальная библиографическая база данных научного цитирования российских авторов
	База российских научных медицинских журналов
	КиберЛенинка – это научная электронная библиотека, построенная на парадигме открытой науки (Open Science)
	AcademicKeys.com предоставляет ресурсы, которые объединяют и информируют академическое сообщество
	Международный центр ISSN
	Реферативно-библиографическая база данных научных публикаций российских учёных и индекс цитирования научных статей
	Электронно-библиотечная система
	Сервис предоставляет глобальный доступ к знаниям в области открытых инноваций
	Платформа, предоставляющая сервисы совместной работы с библиографическими данными, которая была создана для построения социальной сети учёных на основе их публикаций
	Citations Open – независимая некоммерческая инфраструктурная организация, занимающаяся публикацией открытых библиографических данных и данных о цитировании с использованием технологий Semantic Web (связанных данных)

bulletin.ssmu.ru

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 22, № 2, 2023

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.ssmu.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 29.06.2023 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 23. Усл. печ. л. 22,5.
Тираж 500 экз. Заказ 315.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 30.06.2023.

При перепечатке ссылка на
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна.

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

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

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

Peer-reviewed scientific-practical journal
Issued quarterly

Volume 22, No. 2, 2023

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 Siberian Medicine"
is included in the list of peer-reviewed scientific journals
and publications issued in the Russian Federation,
which should publish main scientific results
of 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.ssmu.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 29.06.2023
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.s. 23. C.p.s. 22,5.
500 copies. Order No. 315.

The price – free.
Date of publication 30.06.2023.

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

© Siberian State Medical University, 2023

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)*
O.S. Fedorova, *Professor (Tomsk)*
I.A. Khlusov, *Professor (Tomsk)*
Ye.L. Choinzonov, *Academician of RAS (Tomsk)*
A.G. Chuchalin, *Academician of RAS (Moscow)*
A.V. Shabrov, *Academician of RAS (St.-Petersburg)*
V.A. Shkurupiy, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
M.S. Yusubov, *Professor (Tomsk)*
A. Antsaklis, *Professor (Greece)*
F. Chervenak, *Professor (USA)*
C. Dadak, *Professor (Austria)*
Y. Dekhtyar, *Professor (Latvia)*
M. Epple, *Professor (Germany)*
D. Gailani, *Professor (USA)*
P. Odermatt, *(Switzerland)*
J. Odland, *(Norway)*
M. Poyurovsky, *Professor (Israel)*
V. Zhdankin, *Professor (USA)*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	ORIGINAL ARTICLES
Алифороенко А.Е., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С., Станкевич С.А., Павловский В.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И. Анальгетическая активность антагониста брадикинина – про- изводного 1,4-бензодиазепин-2-она	Aliforenko A.E., Bykov V.V., Bykova A.V., Motov V.S., Stankevich S.A., Pavlovsky V.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I. Analgesic effect of a bradykinin antagonist – a 1,4-benzodiazepine-2-one derivative
Ворвуль А.О., Бобынцев И.И., Мишина Е.С., Медведева О.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Влияние пептида АКТГ6-9-Pro-Gly-Pro на морфофункцио- нальное состояние толстой кишки крыс в условиях хрониче- ского иммобилизационного стресса	Vorvul A.O., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Medvedeva O.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Effects of the ACTH6–9-Pro-Gly-Pro peptide on the morphofunctional state of rat colon under conditions of chronic restraint stress
Горбунов Н.С., Кобер К.В., Каспаров Э.В., Ростовцев С.И., Протасюк Е.Н. Вариантная анатомия и коды внутривольных путей грудос- пинного нерва	Gorbunov N.S., Kober K.V., Kasparov E.V., Rostovtsev S.I., Protasyuk E.N. Anatomical variations and coding of the intra-trunk pathways in the thoracodorsal nerve
Гракова Е.В., Копьева К.В., Гусакова А.М., Сморгон А.В., Ахмедов Ш.Д., Калюжин В.В., Тепляков А.Т. Сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выбро- са левого желудочка при неокклюзирующем коронарном ате- росклерозе: клиническая полезность оценки вариабельности сердечного ритма	Grakova E.V., Kopeva K.V., Gusakova A.M., Smorgon A.V., Akhmedov Sh.D., Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T. Heart failure with preserved left ventricular ejection fraction in non-obstructive coronary artery disease: clinical utility of heart rate variability
Иванова А.А., Гуразева А.А., Мельникова Е.С., Максимов В.Н., Немцова Е.Г. Исследование молекулярно-генетических маркеров синдро- ма Жильбера	Ivanova A.A., Gurazheva A.A., Mel'nikova E.S., Nemcova E.G., Maksimov V.N. Study of molecular genetic markers of Gilbert's syndrome
Исаева Н.В., Минаева Н.В., Утемов С.В., Шерстнев Ф.С., Зорина Н.А., Змеева Ю.С., Бутолина М.А. Жизнеспособность ядродержащих клеток в лейкоконцен- тратах на этапах их получения, замораживания и декриокон- сервирования	Isaeva N.V., Minaeva N.V., Utemov S.V., Sherstnev F.S., Zorina N.A., Zmeeva Yu.S., Butolina M.A. Viability of mononuclear cells in leukocyte concentrates at the stages of their preparation, freezing, and thawing.
Кобалава Ж.Д., Сафарова А.Ф., Асланова Р.Ш., Вацик-Городецкая М.В. Почечная венозная доплерография – новый параметр для прогнозирования исходов у пациентов с декомпенсацией хро- нической сердечной недостаточности	Kobalava Zh.D., Safarova A.F., Aslanova R.Sh., Vatsik-Gorodetskaya M.V. Renal venous Doppler ultrasound – a new parameter for predicting outcomes in patients with decompensated heart failure

Колесникова И.М., Карбышев М.С., Гапонов А.М.,
Хуснутдинова Д.Р., Григорьева Т.В., Камальдинова Д.Р.,
Борисенко О.В., Макаров В.В., Юдин С.М., Румянцев С.А.,
Шестопалов А.В.

Особенности таксономической принадлежности бактериальной днк крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения

61

Кушлинский Н.Е., Ковалева О.В., Прищеп П.Л., Зыбина Н.Н.,
Юришич В., Алферов А.А., Кузьмин Ю.Б., Горячева И.О.,
Кузнецов И.Н., Булычева И.В., Варфоломеева С.Р.,
Сушенцов Е.А., Герштейн Е.С., Рогожин Д.В.,
Янушевич О.О., Стилиди И.С.

Галектин-3 в сыворотке крови больных опухолями костей

68

Крыльский Е.Д., Разуваев Г.А., Попова Т.Н., Нихаев Л.Е.,
Акинина А.И.

Уровень мРНК генов антиоксидантной системы и активность НАДФН-генерирующих ферментов при ротенон-индуцированном паркинсонизме у крыс

78

Маянская С.Д., Абзалова Г.Ф., Гараева Л.А.,
Абдулханов И.В., Тепляков А.Т., Березикова Е.Н.,
Гребенкина И.А.

Особенности ремоделирования миокарда левого желудочка и сердечной гемодинамики после коронарного шунтирования on-pump или off-pump

88

Тарабрина А.А., Огородова Л.М., Самойлова Ю.Г.,
Федосенко С.В., Федорова О.С., Петров В.А.,
Подчиненова Д.В., Бойко А.С.

Цитокиновый профиль при ожирении и бронхиальной астме у детей

97

Четверяков А.В., Цепелев В.Л.

Прогностическое значение уровня белка CTLA-4 и его лиганда В7.2 у больных раком толстого кишечника

104

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

Климов В.В., Загрешенко Д.С., Уразова О.И., Климов А.В.,
Найдина О.А., Цыплина Е.Ю., Кологривова Е.Н.,
Кошовкина Т.В., Кошкарлова Н.С.

Инфламасома как ранний патофизиологический феномен воспалительного процесса при болезнях кожи и других патологиях

111

Kolesnikova I.M., Karbyshev M.S., Gaponov A.M.,
Khusnutdinova D.R., Grigoryeva T.V., Kamaldinova D.R.,
Borisenko O.V., Makarov V.V., Yudin S.M., Roumiantsev S.A.,
Shestopalov A.V.

Features of bacterial dna taxonomy in blood of patients with various metabolic phenotypes of obesity

Kushlinskii N.E., Kovaleva O.V., Prishchep P.L., Zybina N.N.,
Jurisic V., Alferov A.A., Kuzmin Yu.B., Goryacheva I.O.,
Kuznetsov I.N., Bulytcheva I.V., Varfolomeeva S.R.,
Sushentsov E.A., Gershtein E.S., Rogozhin D.V.,
Yanushevich O.O., Stilidi I.S.

Galectin-3 in the blood serum of patients with bone tumors

Kryl'skii E.D., Razuvaev G.A., Popova T.N., Nikhaev L.E.,
Akinina A.I.

mRNA level of antioxidant genes and activity of NADPH-generating enzymes in rotenone-induced parkinsonism in rats

Mayanskaya S.D., Abzalova G.F., Garaeva L.A.,
Abdulianov I.V., Teplyakov A.T., Berezikova E.N.,
Grebinkina I.A.

Characteristics of left ventricular and cardiac hemodynamic remodeling after on-pump or off-pump coronary artery bypass grafting

Tarabrina A.A., Ogorodova L.M., Samoilova Yu.G.,
Fedosenko S.V., Fedorova O.S., Petrov V.A.,
Podchinenova D.V., Boyko A.S.

The cytokine profile in obesity and asthma in children

Chetveryakov A.V., Tsepelev V.L.

Prognostic value of the levels of CTLA-4 and its ligand B7.2 in patients with colorectal cancer.

REVIEWS AND LECTURES

Klimov V.V., Zagreshenko D.S., Urazova O.I., Klimov A.V.,
Naidina O.A., Tsyplina E.Yu., Kologrivova E.N.,
Koshovkina T.V., Koshkarova N.S.

Inflammasome as an early pathophysiological phenomenon of inflammation in skin diseases and other pathologies.

<i>Ковалев О.И., Вторушин С.В., Кайгородова Е.В.</i> Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса	122	<i>Kovalev O.I., Vtorushin S.V., Kaigorodova E.V.</i> Stem cell properties of cancer cells in ascitic fluid of patients with ovarian cancer: a key to control over cancer progression
<i>Кручинина М.В., Першина Н.Е., Светлова И.О., Кручинина Э.В.</i> Факторы, влияющие на развитие фиброза печени, у пациентов, перенесших COVID-19	134	<i>Kruchinina M.V., Pershina N.E., Svetlova I.O., Kruchinina E.V.</i> Factors affecting the development of liver fibrosis in patients who experienced COVID-19
<i>Наумова Л.А., Стародумова В.А.</i> Современные представления о цервикальном канцерогенезе	145	<i>Naumova L.A., Starodumova V.A.</i> Modern concepts in cervical carcinogenesis
<i>Серебрякова В.Н., Кавешников В.С., Кузьмичкина М.А.</i> Хирургическая реваскуляризация у женщин: фокус на факторы, ухудшающие прогноз	156	<i>Serebryakova V.N., Kaveshnikov V.S., Kuzmichkina M.A.</i> Surgical revascularization in women: focus on factors worsening the prognosis
СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ		CLINICAL CASES
<i>Захарьян Е.А., Григорьев П.Е., Шатов Д.В., Солдатова О.В., Федорец А.В., Капитанова Л.Э.</i> Клинический случай ретроаортального хода огибающей ветви, отходящей от правой коронарной артерии	165	<i>Zakharyan E.A., Grigoriev P.E., Shatov D.V., Soldatova O.A., Fedorets A.V., Kapitanova L.E.</i> A clinical case of the retroaortal course of the circumflex artery from the right coronary artery
<i>Курочкина Ю.Д., Королев М.А., Лetyagina Е.А., Фишман В.С., Гридина М.М., Валеева Э.С.</i> Семейный случай редкого аутовоспалительного заболевания, ассоциированного с мутациями в генах <i>NLRP3</i> и <i>TNFRSF1A</i> , в практике ревматолога	170	<i>Kurochkina Yu.D., Korolev M.A., Letyagina E.A., Fishman V.S., Gridina M.M., Valeeva E.S.</i> A family case of a rare autoinflammatory disease associated with mutations in the <i>NLRP3</i> and <i>TNFRSF1A</i> genes in the practice of a rheumatologist
<i>Плотников Д.М., Алифиров В.М., Мосиенко Е.С.</i> Мигренозный инсульт: клиническое наблюдение	176	<i>Plotnikov D.M., Alifirova V.M., Mosienko E.S.</i> A clinical case of migrainous stroke
КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ		SHORT REPORTS
<i>Куликов Е.С., Федорова О.С., Толмачев И.В., Рязанцева У.В., Вразнов Д.А., Губанов А.В., Нестерович С.В., Шмырина А.А.</i> Русскоязычный репозиторий открытых клинических данных SibMED Data Clinical Repository	182	<i>Kulikov E.S., Fedorova O.S., Tolmachev I.V., Ryazantseva U.V., Vrazhnov D.A., Gubanov A.V., Nesterovich S.V., Shmyrina A.A.</i> Russian-language repository of the open clinical data "SibMED Data Clinical Repository"

УДК 615.212/.214:577.175.853

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-6-13>

Анальгетическая активность антагониста брадикинина – производного 1,4-бензодиазепин-2-она

Алифороенко А.Е.^{1,2}, Быков В.В.^{1,2}, Быкова А.В.², Мотов В.С.², Станкевич С.А.², Павловский В.И.^{2,3}, Хазанов В.А.², Венгеровский А.И.¹

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

² ООО «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»)
Россия, 634021, г. Томск, ул. Елизаровых, 79/4

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить анальгетическую активность нового производного 1,4-бензодиазепин-2-она (шифр – PAV-0056) на моделях боли у мышей, противовоспалительное действие при экспериментальном экссудативном воспалении у крыс, а также его потенциальное ulcerогенное действие.

Материалы и методы. Производное 1,4-бензодиазепин-2-она, обозначенное шифром PAV-0056, вводили в растворе поливинилпирролидона в желудок 192 мышам стока CD-1 массой тела 20–25 г и 140 крысам стока Sprague Dawley массой тела 250–300 г. Анальгетическую активность соединения PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг изучали у мышей на моделях острой термической боли (тесты «горячая пластина» и отдергивания хвоста при погружении в горячую воду), острой хемогенной боли (формалиновый тест) и висцеральной спастической боли (тест «уксусные корчи»). Противовоспалительное действие PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг исследовали при экспериментальном воспалении, вызванном у крыс субплантарным введением брадикинина и гистамина. Потенциальное ulcerогенное влияние изучали у интактных крыс, которым вещество PAV-0056 в дозах 1 и 50 мг/кг вводили 4 раза. Анальгетический эффект соединения PAV-0056 сравнивали с действием диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг и трамадола в дозе 20 мг/кг, противовоспалительное и возможное ulcerогенное действие – с влиянием диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг.

Результаты. В тесте «горячая пластина» соединение PAV-0056 в дозе 0,1 мг/кг увеличивало у мышей время до появления первой болевой реакции на 36%, в дозе 1 мг/кг – на 46% ($p < 0,05$). В тесте отдергивания хвоста при погружении в горячую воду соединение PAV-0056 в дозе 1 мг/кг увеличивало латентное время наступления термической боли у мышей на 46% ($p < 0,05$). При субплантарном введении формалина соединение PAV-0056 в дозах 0,01–1 мг/кг оказывало выраженное анальгетическое действие, что проявлялось уменьшением на 39–55% количества болевых реакций ($p < 0,05$). При внутрибрюшинной инъекции мышам раствора уксусной кислоты соединение PAV-0056 в дозах 0,1 и 1 мг/кг уменьшало количество «корчей» на 46 и 57% соответственно, в дозе 0,1 мг/кг отодвигало наступление первой «корчи» на 21% ($p < 0,05$). В экспериментах на крысах соединение PAV-0056 препятствовало развитию экссудативного воспаления, вызванного субплантарным введением брадикинина, и не оказывало противовоспалительного эффекта при гистаминовом воспалении, не вызывало образования язв и кровоизлияний на слизистой оболочке желудка.

Заключение. Производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в широком диапазоне доз (0,01–1 мг/кг) вызывает выраженную аналгезию на моделях термической, хемогенной, соматической и висцеральной боли, по анальгетической активности не уступает эффекту диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг и трамадола в дозе 20 мг/кг. Анальгетическое действие соединения PAV-0056 является селективным, мало зависит от подавления воспалительной экссудации и обусловлено антагонизмом с брадикинином. Это вещество малотоксично и не повреждает слизистую оболочку желудка.

✉ Быков Владимир Валерьевич, preclin5_dep@iphar.ru

Ключевые слова: производное 1,4-бензодиазепин-2-она, анальгетическое, противовоспалительное и потенциальное ulcerогенное действие, мыши, крысы

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке АО «Органика» (г. Новокузнецк).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальными этическими комитетами ООО «Инновационные Фармакологические Разработки» (протокол № 77/2020 от 24.11.2020) и СибГМУ (протокол № 8992 от 21.02.2022).

Для цитирования: Алифоре́нко А.Е., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С., Станкевич С.А., Павловский В.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И. Анальгетическая активность антагониста брадикинина – производного 1,4-бензодиазепин-2-она. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):6–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-6-13>.

Analgesic effect of a bradykinin antagonist – a 1,4-benzodiazepine-2-one derivative

Aliforenko A.E.^{1,2}, Bykov V.V.^{1,2}, Bykova A.V.², Motov V.S.², Stankevich S.A.², Pavlovsky V.I.^{2,3}, Khazanov V.A.², Vengerovskii A.I.¹

¹ *Siberian State Medical University*

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² *Innovative Pharmacology Research LLC (IPHAR LLC)*

79/4, Elizarovskiy Str., Tomsk, 634021, Russian Federation

³ *National Research Tomsk Polytechnic University (TPU)*

30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the analgesic effect of a new 1,4-benzodiazepine-2-one derivative (codenamed PAV-0056) in pain models in mice, its anti-inflammatory effect in experimental exudative inflammation in rats, and its potential ulcerogenic effect.

Materials and methods. A 1,4-benzodiazepine-2-one derivative (codenamed PAV-0056) was orally administered in polyvinylpyrrolidone (PVP) solution to 192 CD-1 mice weighing 20–25 g and 140 Sprague – Dawley rats weighing 250–300 g. The analgesic effect of the PAV-0056 compound at a dose of 0.01, 0.1, and 1 mg / kg was studied in murine acute thermal pain models (hot plate test, hot water immersion tail-flick test), acute chemogenic pain models (formalin test), and visceral spasticity-related pain models (acetic acid-induced writhing test). The anti-inflammatory effect of PAV-0056 at doses of 0.01, 0.1, and 1 mg / kg was studied in an experimental rat model of inflammation induced by subplantar administration of bradykinin and histamine. The potential ulcerogenic effect was studied in intact rats, who were injected with PAV-0056 at doses of 1 and 50 mg / kg four times. The analgesic effect of the PAV-0056 compound was compared to that of diclofenac sodium at a dose of 10 mg / kg and tramadol at a dose of 20 mg / kg. Its anti-inflammatory and potential ulcerogenic effects were compared to those of diclofenac sodium at a dose of 10 mg / kg.

Results. In the hot plate test, the PAV-0056 compound at a dose of 0.1 mg / kg increased response latency in mice by 36%, and at a dose of 1 mg / kg, it increased response latency by 46% ($p < 0.05$). In the tail-flick test, the PAV-0056 compound at a dose of 1 mg / kg increased response latency to heat stimulation in mice by 46% ($p < 0.05$). After subplantar administration of formalin, PAV-0056 at doses of 0.01–1 mg / kg had a pronounced analgesic effect, as shown by a decrease in the number of pain responses by 39–55% ($p < 0.05$). When mice were intraperitoneally injected with an acetic acid solution, the PAV-0056 compound at doses of 0.1 and 1 mg / kg reduced the frequency of writhings by 46 and 57%, respectively; at a dose of 0.1 mg / kg, it delayed the onset of the first writhing by 21% ($p < 0.05$). In experiments on rats, the PAV-0056 compound prevented the development of exudative inflammation induced by subplantar administration of bradykinin and did not have an anti-inflammatory

effect in histamine-induced inflammation. PAV-0056 did not cause formation of gastric ulcers and gastric mucosal bleeding.

Conclusion. A 1,4-benzodiazepine-2-one derivative, PAV-0056, has a pronounced analgesic effect in models of thermal, chemogenic, somatic, and visceral pain in a wide range of doses (0.01–1 mg / kg). Its analgesic effects are the same as those of diclofenac sodium at a dose of 10 mg / kg and tramadol at a dose of 20 mg / kg. The analgesic effect of the PAV-0056 compound is selective, depends little on suppression of inflammatory exudation, and is caused by bradykinin antagonism. This substance has low toxicity and does not damage the gastric mucosa.

Keywords: 1,4-benzodiazepine-2-one derivative, analgesic, anti-inflammatory, and potential ulcerogenic effects, mice, rats

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

Source of financing. The study was carried out with the financial support of Organica JSC (Novokuznetsk).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at IPHAR LLC (Protocol No. 77/2020 of 24.11.2020) and Siberian State Medical University (Protocol No. 8992 of 21.02.2022).

For citation: Aliforenko A.E., Bykov V.V., Bykova A.V., Motov V.S., Stankevich S.A., Pavlovsky V.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I. Analgesic effect of a bradykinin antagonist – a 1,4-benzodiazepine-2-one derivative. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):6–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-6-13>.

ВВЕДЕНИЕ

Болевой синдром является сложным психоэмоциональным ощущением в ответ на воздействие ноцицептивных факторов, характеризуется нарушением адаптации и ухудшением качества жизни больных [1]. Для ослабления боли применяют опиоидные, неопиоидные анальгетики и нестероидные противовоспалительные средства. Опиоидные анальгетики устраняют сильную боль любой этиологии, но угнетают дыхательный центр, создают риск развития психической, физической зависимости и привыкания [2]. Нестероидные противовоспалительные средства наиболее эффективны при боли, обусловленной раздражением ноцицепторов в очаге воспаления, среди их побочных эффектов – язвотропное и нефротоксическое действие, нарушение функций сердечно-сосудистой системы, бронхоспазм и кровотечение [3].

Одна из современных стратегий поиска новых анальгетиков – создание антагонистов аутокоидов (брадикинина, гистамина, серотонина), препятствующих их активирующему влиянию на ноцицептивную систему [4–6]. Нонапептид брадикинин образуется при воспалении, аллергии, инфекциях из тканевого кининогена при участии калликреина и активирует метаботропные В-рецепторы [7]. Брадикинин прямо раздражает чувствительные нервные окончания и способствует секреции других аллогенных факторов – субстанции Р, нейрокина А и кальцитонин-ген-родственного пептида. В зоне воспаления брадикинин расширяет капилляры, увеличивает контакты между клетками эндотелия, увеличи-

чивает экссудацию и миграцию нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов [8]. В медицинской практике отсутствуют анальгетики с антибрадикининовым действием. В-рецепторы брадикинина блокируют производные 1,4-бензодиазепин-2-она [9–12], среди них наиболее высокой анальгетической активностью обладает соединение, обозначенное шифром PAV-0056 [13].

Целью работы являлось изучение анальгетической активности нового производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 на экспериментальных моделях боли и воспаления, а также оценка его потенциального язвотропного действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Соединение PAV-0056 представляет собой метил-2-(7-нитро-2-оксо-5-фенил-3-пропокси-2,3-дигидро-1Н-бензо[с] [1,4] диазепин-1-ил)ацетат (рис. 1).

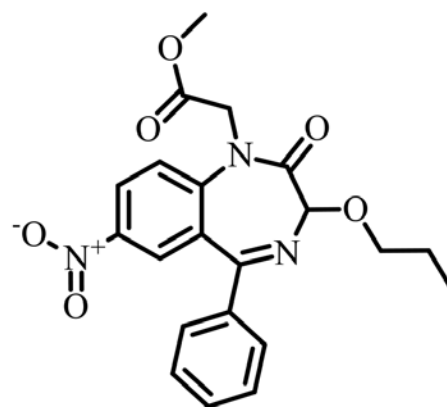


Рис. 1. Структурная формула соединения PAV-0056

Производные 1,4-бензодиазепин-2-она синтезированы в ООО «Ифар» на основе молекулярного дизайна и изучения связи химического строения с аффинитетом к бензодиазепиновым рецепторам и анальгетической активностью [14]. В этой группе веществ соединение PAV-0056 обладает минимальной токсичностью, его LD₅₀ при введении в желудок мышам и крысам > 2 000 мг/кг.

Эксперименты выполняли в испытательном центре ООО «Ифар» на свободных от патогенной микрофлоры 192 мышах самцах стока CD-1 массой тела 20–25 г и 140 крысах самцах стока Sprague Dawley массой тела 250–300 г. Животных получали из отделения лабораторных животных испытательного центра ООО «Ифар», содержали по 5–6 особей в пластиковых клетках при температуре воздуха 20–23 °С, влажности не более 50%, объеме воздухообмена (вытяжка : приток) – 8 : 10, световом режиме 12 ч день : 12 ч ночь.

Исследование одобрено локальными этическими комитетами ООО «Ифар» (протокол № 77/2020 от 24.11.2020) и СибГМУ (протокол № 8992 от 21.02.2022), проведено в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите лабораторных животных (Страсбург, 1986) с соблюдением принципов и правил надлежащей лабораторной практики (Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 и ГОСТ 33044–2014).

Для оценки анальгетического действия в желудок мышам вводили соединение PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг или препараты сравнения диклофенак натрия (Хемофарм, Сербия) в дозе 10 мг/кг [15] и трамадол (Pharmaceuticals Formenti S.p.A., Италия) в дозе 20 мг/кг [16]. Все вещества растворяли в 0,5 мл 1%-го водного раствора поливинилпирролидона (Plasdone S-630, Ashland Inc., США). Контрольные животные получали растворитель в эквивалентном объеме. Дозы соединения PAV-0056 были выбраны на основании ранее проведенных пилотных исследований. Анальгетическое действие оценивали через 60 мин после введения вещества PAV-0056, диклофенака натрия или трамадола, сравнивали с показателями контрольных животных. Количество животных в каждой экспериментальной группе – по 6–10 особей.

Тест «горячая пластина». Мышей (шесть групп по шесть животных в группе) помещали на нагретую до 55 ± 1 °С металлическую поверхность (термостатик HWT-75, Россия). Измеряли время до наступления первой болевой реакции, зарегистрированной по отдергиванию и облизыванию лапок. Мыши находились на горячей пластине не более 1 мин во избежание травмирования [4, 17].

Тест отдергивания хвоста при погружении в горячую воду. Хвост мышей (шесть групп по 10 животных в группе) на половину длины погружали в воду с температурой 45 ± 1 °С (водяная баня Sakura 1450, Япония). Измеряли время до отдергивания хвоста [4, 17].

Формалиновый тест. Мышам (шесть групп по 10 животных в группе) под плантарный апоневроз задней конечности вводили 0,02 мл 0,5%-го водного раствора формалина (Sigma-Aldrich, США). В течение 60 мин регистрировали болевую реакцию по количеству облизываний и потряхиваний поврежденной лапки. В первые 15 мин (фаза I) возникает острая фаза боли, обусловленная сенситизацией периферических структур ноцицептивной системы, в последующие 45 мин (фаза II) развивается тоническая фаза, которая вызвана активацией центральных структур ноцицептивной системы [17, 18].

Тест «уксусные корчи». Мышам (шесть групп по шесть животных в группе) вводили внутрибрюшинно 0,75%-й водный раствор уксусной кислоты (Sigma-Aldrich, США) в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела. В течение 20 мин оценивали количество сокращений брюшных мышц («корчей») и срок до наступления первой «корчи» [17, 18].

Противовоспалительное действие соединения PAV-0056 исследовали на моделях острого экссудативного воспаления. Под апоневроз задней конечности крысам (10 групп по 10 животных в группе) вводили по 0,1 мл 0,1%-го водного раствора брадикинина или 2%-го водного раствора гистамина (оба Sigma-Aldrich, США). В другую заднюю конечность этих животных вводили 0,1 мл изотонического раствора натрия хлорида (контроль). Соединение PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг или диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг [19] вводили за 1 ч до инъекции брадикинина или гистамина. Объем конечностей измеряли с помощью плетизмометра (UGO BASIL, Италия) спустя 30 мин после инъекции медиаторов воспаления. Степень уменьшения отека воспаленной конечности выражали в процентах к контролю [4].

Для исследования потенциального ulcerогенного действия интактным крысам (четыре группы по 10 животных) четырехкратно (с интервалом 24 ч) вводили в желудок соединение PAV-0056 в дозах 1 и 50 мг/кг или диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг. Через 3 ч после последнего введения животных выводили из эксперимента в атмосфере углекислого газа. Слизистую оболочку желудка на наличие эрозий, язв и кровоизлияний изучали с помощью стереоскопического микроскопа («Наблюдательные приборы», Россия), $\times 10$. Степень повреждения оценивали по четырехбалльной шкале: 0 – отсутствие повреждений; 0,5 – гиперемия слизистой оболочки; 1 – одно или

два точечных кровоизлияния на слизистой оболочке; 2 – единичные эрозии и точечные кровоизлияния на слизистой оболочке; 3 – множественные эрозии и кровоизлияния на слизистой оболочке; 4 – массивные кровоизлияния, язвы на всем протяжении слизистой оболочки [4].

Результаты обрабатывали статистически с помощью программы Statistica v. 8.0 (StatSoft, США). Нормальность распределения значений признака оценивали с использованием критерия Шапиро – Уилка. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения. Различия между группами выявляли по t -критерию Стьюдента и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте «горячая пластина» производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозе 0,1 мг/кг удлиняло латентный период до наступления болевой реакции на 36%, в дозе 1 мг/кг – на 46% по сравнению с латентным периодом у мышей, получавших поливинилпирролидон ($p < 0,05$), в дозе 0,01 мг/кг не оказывало анальгетического влияния. Диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг и трамадол в дозе 20 мг/кг увеличивали срок до появления боли на 64 и 82% соответственно ($p < 0,05$) (рис. 2). Анальгетическая активность соединения PAV-0056 в дозах 0,1 и 1 мг/кг была сопоставима с эффектом диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг ($p > 0,05$), но уступала действию трамадола в дозе 20 мг/кг ($p < 0,05$).

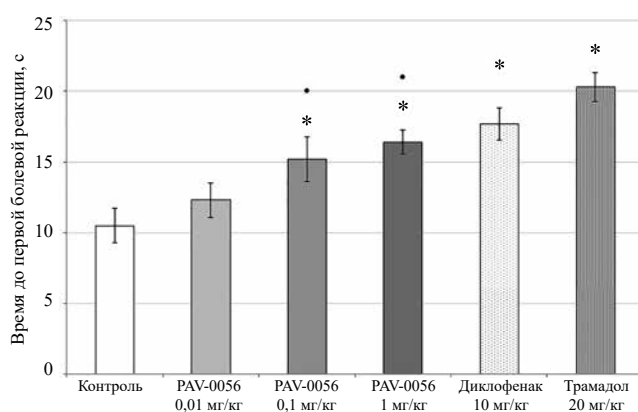


Рис. 2. Латентный период до появления болевой реакции в тесте «горячая пластина» при введении мышам соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола: * различия с показателем контрольной группы, $p < 0,05$; • различия с показателем группы, получавшей трамадол, $p < 0,05$

Соединение PAV-0056 в дозе 1 мг/кг на 46% удлиняло у мышей время до отдергивания хвоста, погруженного в горячую воду ($p < 0,05$), в дозах 0,1 и 0,01 мг/кг не вызывало анальгезию. Диклофенак на-

трия в дозе 10 мг/кг удлинял латентный период до наступления боли на 46%, трамадол в дозе 20 мг/кг – на 36%. Анальгетический эффект трамадола оказался слабым: латентный период до появления боли не отличался от показателя мышей, получавших поливинилпирролидон ($p > 0,05$) (рис. 3).

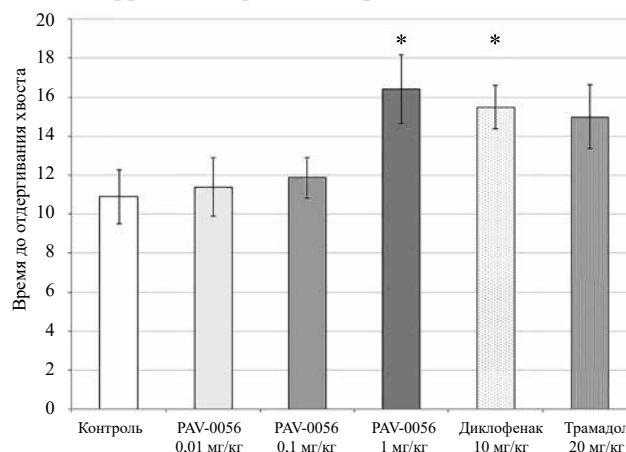


Рис. 3. Латентный период до появления болевой реакции у мышей в тесте отдергивания хвоста после погружения в горячую воду при введении соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола: * различия с показателем контрольной группы, $p < 0,05$

При субплантарной инъекции формалина производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозах 0,01–1 мг/кг уменьшало количество болевых реакций в фазах острой и тонической боли ($p < 0,05$). Диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг и трамадол в дозе 20 мг/кг также оказывали анальгетическое действие в обеих фазах ($p < 0,05$). Соединение PAV-0056 во всех исследованных дозах вызывало анальгезию в такой же степени, как диклофенак натрия и трамадол (табл. 1).

Соединение PAV-0056 в дозе 0,1 мг/кг уменьшало на 46%, в дозе 1 мг/кг – на 57% количество «корчей», вызванных внутрибрюшинной инъекцией раствора уксусной кислоты, в дозе 0,1 мг/кг увеличивало время до наступления первой «корчи» на 21% ($p < 0,05$). Диклофенак натрия и трамадол уменьшали количество «корчей» на 49 и 68%, удлиняли срок до наступления первой «корчи» на 49 и 52% соответственно ($p < 0,05$). Анальгетическое действие соединения PAV-0056 в дозах 0,1 и 1 мг/кг не уступало эффекту диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг, в дозе 0,1 мг/кг было слабее действия трамадола в дозе 20 мг/кг (табл. 2).

Вклад противовоспалительного эффекта в механизм анальгетического действия производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг исследовали на моделях экссудативного воспаления, вызванного у крыс субплантарной инъекцией раствора брадикинина или гистамина.

Таблица 1

Анальгетическая активность соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола при введении мышам в формалиновом тесте, $M \pm m$						
Показатель	Контроль, $n = 10$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 10$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 10$	Трамадол 20 мг/кг, $n = 10$
Фаза I	31 ± 3	19 ± 1*	14 ± 1*	16 ± 1*	20 ± 4*	21 ± 3*
Фаза II	15 ± 2	6 ± 1*	6 ± 2*	8 ± 3* [#]	7 ± 2*	9 ± 2*

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем контрольных животных здесь и в табл. 2–4.

[#] Выявлен один выброс, определенный критерием Смирнова – Граббса.

Таблица 2

Анальгетическая активность соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола при введении мышам в тесте «уксусные корчи», $M \pm m$						
Показатель	Контроль, $n = 6$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 6$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 6$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 6$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 6$	Трамадол 20 мг/кг, $n = 6$
Время до наступления первой «корчи», с	258 ± 8	336 ± 66	312 ± 10* [#]	326 ± 59	385 ± 39*	393 ± 47*
Количество «корчей», шт.	37 ± 1	29 ± 4	20 ± 2*	16 ± 2*	19 ± 4*	12 ± 3*

[#] $p < 0,05$ по сравнению с показателем группы, получавшей трамадол.

Препаратом сравнения являлся диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг [19]. При введении за 1 ч до инъекции брадикинина соединение PAV-0056 уменьшало отек конечности на 33–58% ($p < 0,05$) (табл. 3), при гистаминовом отеке противовоспалительный эффект PAV-0056 был выражен незначительно, объем конеч-

ности становился меньше всего на 6–16% ($p > 0,05$). Диклофенак натрия препятствовал развитию отека лапки на 43–54% при обеих моделях воспаления ($p < 0,05$) (табл. 4). Результаты этого эксперимента свидетельствуют об антагонизме вещества PAV-0056 с брадикинином и слабым антигистаминовым эффекте.

Таблица 3

Противовоспалительная активность соединения PAV-0056 и диклофенака натрия в тесте с субплантарной инъекцией брадикинина крысам, $M \pm m$					
Показатель	Контроль, $n = 10$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 10$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 10$
Величина отека конечности, мл	0,24 ± 0,02	0,16 ± 0,03*	0,08 ± 0,03*	0,10 ± 0,02*	0,11 ± 0,02*

Таблица 4

Противовоспалительная активность соединения PAV-0056 и диклофенака натрия в тесте с субплантарной инъекцией гистамина крысам, $M \pm m$					
Показатель	Контроль, $n = 10$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 10$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 10$
Величина отека конечности, мл	0,30 ± 0,08	0,32 ± 0,09	0,28 ± 0,11	0,25 ± 0,10	0,17 ± 0,05*

При четырехкратном введении крысам в желудок производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозах 1 и 50 мг/кг не оказывало ульцерогенного эффекта: в слизистой оболочке желудка отсутствовали язвы и кровоизлияния. При четырехкратном введении диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг вызывал множественные повреждения – кровотокающие эрозии и язвы (3,5 балла).

Таким образом, производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 проявляет анальгетическую активность в широком диапазоне доз (0,01–1 мг/кг)

и не уступает эффектам нестероидного противовоспалительного средства диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг и опиоидного анальгетика трамадола в дозе 20 мг/кг. В тесте «горячая пластина» соединение PAV-0056 вызывает умеренную аналгезию, так как термическая соматическая боль возникает с минимальным участием медиаторов воспаления, терморецепторы передают болевую информацию в ретикулярную формацию среднего мозга и таламус. В тесте отдергивания хвоста, погруженного в горячую воду, активируются высокопороговые механорецеп-

торы на большой поверхности теплового раздражения, болевой сигнал по полимодальным волокнам С и Аδ проводится преимущественно в задние рога спинного мозга и затем передается на мотонейроны передних рогов [20]. Можно предположить, что более выраженная анальгетическая активность соединения PAV-0056 в тесте «горячая пластина» связана с активацией антиноцицептивной системы головного мозга.

Соединение PAV-0056 эффективно ослабляло хемотренную боль, вызванную формалином и уксусной кислотой. В формировании такой боли основное значение имеет раздражение брадикинином ноцицепторов в зоне повреждения. При субплантарной инъекции формалина мышам соединение PAV-0056 больше уменьшало количество потягиваний лапкой, чем число ее облизываний. Это обусловлено блокадой ноцицепторов и торможением передачи потенциалов действия по афферентным нервным волокнам в задние рога спинного мозга с подавлением соматического рефлекса. Вещество PAV-0056 слабее влияет на обработку болевых сигналов в коре больших полушарий, поэтому меньше препятствует формированию осознанного ответа на боль в виде облизывания лапки.

Соединение PAV-0056 оказывает анальгетическое и противовоспалительное влияние, обусловленное антагонизмом с брадикинином, и менее эффективное при воспалении, вызванном гистамином. Анальгетический и противовоспалительный эффекты диклофенака натрия вызваны антагонизмом с простагландинами, гистамином и в меньшей степени с брадикинином. В тесте радиолигандного связывания с циторецепторами яичника китайского хомячка было показано, что некоторые производные бензодиазепина, близкие по структуре с PAV-0056, в наномолярных концентрациях блокируют В-рецепторы [10].

Важным достоинством производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 является отсутствие ulcerогенного действия. Как известно, нестероидные противовоспалительные средства, ингибируя циклооксигеназу-1, тормозят синтез гастропротективных простагландинов и серьезно повреждают слизистую оболочку желудка [21]. В проведенном нами эксперименте диклофенак натрия вызывал образование в желудке многочисленных язв, осложненных кровотечением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые продемонстрирована анальгетическая активность нового производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 на экспериментальных моделях термической и хемотренной

боли (соматической, висцеральной). Соединение PAV-0056 оказывает умеренное антиэкссудативное действие при экспериментальном воспалении, вызванном брадикинином. Оно не повреждает слизистую оболочку желудка. Анальгетическое действие вещества PAV-0056 выражено не слабее эффекта диклофенака натрия и трамадола. Производное 1,4-бензодиазепин-2-она оценивается как перспективное и безопасное лекарственное средство с селективным анальгетическим влиянием.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kumar K.H., Elavarasi P., David C.M. Definition of pain and classification of pain disorders. *JCRI*. 2016;3:87–90. DOI: 10.15713/ins.jcri.112.
2. Rizzi A., Ruzza C., Bianco S., Trapella C., Calo' G. Antinociceptive action of NOP and opioid receptor agonists in the mouse orofacial formalin test. *Peptides*. 2017;94:71–77. DOI: 10.1016/j.peptides.2017.07.002.
3. Lanas A., Chan F.K.L. Peptic ulcer disease. *Lancet*. 2017;390(10094):613–624. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32404-7.
4. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013:944.
5. Gonçalves E.C.D., Vieira G., Gonçalves T.R., Simões R.R., Brusco I., Oliveira S.M. et al. Bradykinin receptors play a critical role in the chronic postischemia pain model. *Cell Mol. Neurobiol.* 2021;41(1):63–78. DOI: 10.1007/s10571-020-00832-3.
6. Литвицкий П.Ф. Воспаление. *Вопросы современной педиатрии*. 2006;5(4):75–81.
7. Kaplan A.P., Joseph K., Silverberg M. Pathways for bradykinin formation and inflammatory disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002;109(2):195–209. DOI: 10.1067/mai.2002.121316.
8. Golias Ch., Charalabopoulos A., Stagikas D., Charalabopoulos K., Batistatou A. The kinin system – bradykinin: biological effects and clinical implications. Multiple role of the kinin system – bradykinin. *Hypokratia*. 2007;11(3):124–128.
9. Dziadulewicz E.K., Brown M.C., Dunstan A.R., Lee W., Said N.B., Garratt P.J. The design of non-peptide human bradykinin B₂ receptor antagonists employing the benzodiazepine peptidomimetic scaffold. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999;9(3):463–468. DOI: 10.1016/S0960-894X(99)00015-3.
10. Wood M.R., Kim J.J., Han W., Dorsey B.D., Homnick C.F., DiPardo R.M. et al. Benzodiazepines as potent and selective bradykinin B1 antagonists. *J. Med. Chem.* 2003;46(10):1803–1806. DOI: 10.1021/jm034020y.
11. Pavlovsky V.I., Tsybalyuk O.V., Martynyuk V.S., Kabanova T.A., Semenishyna E.A., Khalimova E.I. et al. Analgesic effects of 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepines and their possible mechanisms. *Neurophysiology*. 2013;45:427–432. DOI: 10.1007/s11062-013-9389-y.
12. Павловский В.И., Ушаков И.Ю., Кабанова Т.А., Халимова Е.И., Кравцов В.Х., Андронати С.А. Синтез и анальгетическая активность 3-ариламино-1,2-дигидро-3н-1,4-бензодиазепин-2-онов. *Химико-фармацевтический журнал*.

- 2015;49(9):22–27. DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-9-22-27.
13. Павловский В.И., Хазанов В.А., Станкевич С.А., изобретатели; Общество с ограниченной ответственностью «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»), правопреемник. Производные 1,4-бензодиазепин-2-она и их применение. Патент Российской Федерации RU 2701557 C2. 30 сентября 2019 г. РФ.
 14. Virych P.A., Shelyuk O.V., Kabanova T.A., Khalimova E.I., Martynyuk V.S., Pavlovsky V.I. et al. Effect of 3-substituted 1,4-benzodiazepin-2-ones on bradykinin-induced smooth muscle contraction. *Ukr. Biochem. J.* 2017;89(1):31–37. DOI: 10.15407/ubj89.01.031.
 15. Hasani A., Soljakova M., Jakupi M., Ustalar-Ozgen S. Pre-emptive analgesic effects of midazolam and diclofenac in rat model. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2011;11(2):113–118. DOI: 10.17305/bjbms.2011.2593.
 16. Bandapati S., Podila K.S., Yadala V.R. Comparative study of antinociceptive effect of venlafaxine with tramadol by tail-flick test in animal model of mice. *Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol.* 2021;11(6):633–637. DOI: 10.5455/njp.pp.2021.11.11307202001022021.
 17. Gregory N.S., Harris A.L., Robinson C.R., Dougherty P.M., Fuchs P.N., Sluka K.A. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *J. Pain.* 2013;14(11):1255–1269. DOI: 10.1016/j.jpain.2013.06.008.
 18. Чайка А.В., Черетаев И.В., Хусаинов Д.Р. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах. *Ученые записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.* 2015;1(67):161–173.
 19. Santos L.H., Feres C.A., Melo F.H., Coelho M.M., Nothenberg M.S., Oga S. et al. Anti-inflammatory, antinociceptive and ulcerogenic activity of a zinc-diclofenac complex in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2004;37(8):1205–1213. DOI: 10.1590/S0100-879X2004000800011.
 20. Бондаренко Д.А., Дьяченко И.А., Скобцов Д.И., Мурашев А.Н. *In vivo* модели для изучения анальгетической активности. *Биомедицина.* 2011;2:84–94.
 21. Takeuchi K. Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. *World J. Gastroenterol.* 2012;18(18):2147–2160. DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2147.

Вклад авторов

Алифороенко А.Е., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С. – разработка концепции и дизайна, выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных. Павловский В.И. – химический синтез соединения PAV-0056. Хазанов В.А., Станкевич С.А. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Венгеровский А.И. – окончательное утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Алифороенко Анастасия Евгеньевна – аспирант, кафедра фармакологии, СибГМУ; мл. науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, clin_dep2@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1656-8429>

Быков Владимир Валерьевич – канд. мед. наук, ст. преподаватель, кафедра фармакологии, СибГМУ; начальник отдела фармакологических исследований, ООО «Ифар», г. Томск, preclin5_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5145-2184>

Быкова Арина Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, preclin7_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8495-8560>

Мотов Валерий Сергеевич – науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, preclin13_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0197-7521>

Станкевич Сергей Александрович – канд. мед. наук, науч. руководитель доклинических исследований, ООО «Ифар», г. Томск, project_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1313-4967>

Павловский Виктор Иванович – д-р хим. наук, профессор, научно-образовательный центр Н.М. Кижнера, НИ ТПУ; вед. науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, med_chem@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4583-6245>

Хазанов Вениамин Абрамович – д-р мед. наук, профессор, генеральный директор, ООО «Ифар», г. Томск, gen_dir@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8833-785X>

Венгеровский Александр Исаакович – д-р мед. наук, профессор, кафедра фармакологии, СибГМУ, г. Томск, pharm-sibgmu@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5094-3742>

(✉) **Быков Владимир Валерьевич**, preclin5_dep@iphar.ru

Поступила в редакцию 11.08.2022;
одобрена после рецензирования 05.09.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.348-008.615:615.331]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-14-20>

Влияние пептида АКТГ₆₋₉-Pro-Gly-Pro на морфофункциональное состояние толстой кишки крыс в условиях хронического иммобилизационного стресса

Ворвуль А.О.¹, Бобынцев И.И.¹, Мишина Е.С.¹, Медведева О.А.¹, Андреева Л.А.², Мясо-едов Н.Ф.²

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)
Россия, 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3

² Институт молекулярной генетики (ИМГ), Национальный исследовательский центр (НИЦ) Курчатовский институт
Россия, 123182, г. Москва, пл. Ак. Курчатова, 2

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить морфофункциональное состояние стенки толстой кишки у крыс при применении N-концевого аналога адрекортикотропного гормона (АКТГ) пептида АКТГ₆₋₉-Pro-Gly-Pro (АКТГ₆₋₉-ППП) в условиях хронического стресса.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 55 самцах крыс линии Вистар, которые были разделены на пять групп ($n = 11$): 1 – контрольная группа (введение физиологического раствора без стрессирования); 2 – хронический иммобилизационный стресс (ХИС) + введение физиологического раствора; 3 – ХИС + введение АКТГ₆₋₉-ППП в дозе 5 мкг/кг; 4 – 50 мкг/кг; 5 – 500 мкг/кг. Проводили гистологическое исследование толстой кишки крыс. Изучали гистоархитектонику стенки толстой кишки, глубину крипт, число бокаловидных клеток в них. Подсчитывали число гранулоцитов, плазматиков, лимфоцитов, макрофагов и тучных клеток.

Результаты. Установлено, что хронический (14 сут) иммобилизационный стресс приводит к развитию воспалительных процессов в стенке толстой кишки животных. Внутривентриальное введение АКТГ₆₋₉-ППП в дозах 50 и 500 мкг/кг 1 раз/сут на протяжении всего времени стрессорного воздействия препятствовало развитию наблюдавшихся у контрольных животных стресс-индуцированных сдвигов. При этом отмечались противовоспалительные эффекты пептида в стенке толстой кишки и снижение уровня кортикостерона в сыворотке крови.

Заключение. Результаты свидетельствуют о необходимости продолжения изучения механизмов их влияния на процессы воспаления и поиска мишеней АКТГ₆₋₉-ППП.

Ключевые слова: АКТГ₆₋₉-ППП, крысы линии Вистар, хронический иммобилизационный стресс, толстая кишка, воспаление

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 КГМУ (протокол № 3 от 16.11.2020).

Для цитирования: Ворвуль А.О., Бобынцев И.И., Мишина Е.С., Медведева О.А., Андреева Л.А., Мясо-едов Н.Ф. Влияние пептида АКТГ₆₋₉-Pro-Gly-Pro на морфофункциональное состояние толстой кишки крыс

в условиях хронического иммобилизационного стресса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):14–20.
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-14-20>.

Effects of the ACTH₆₋₉-Pro-Gly-Pro peptide on the morphofunctional state of rat colon under conditions of chronic restraint stress

Vorvul A.O.¹, Bobyntsev I.I.¹, Mishina E.S.¹, Medvedeva O.A.¹, Andreeva L.A.³,
 Myasoedov N.F.²

¹ Kursk State Medical University (KSMU)
 3, K. Marksa Str., Kursk, 305041, Russian Federation

² Institute of Molecular Genetics (IMG), Kurchatov Institute
 2, Akademika Kurchatova Sq., Moscow, 123182, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the morphofunctional state of the colonic wall in rats when using the N-terminal analog of the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) ACTH₆₋₉-Pro-Gly-Pro (ACTH₆₋₉-PGP) peptide under chronic stress.

Materials and methods. The study was performed on 55 male Wistar rats, which were divided into 5 groups ($n = 11$): group 1 – control group (administration of saline solution without stress); group 2 – chronic restraint stress (CRS) + administration of saline solution; group 3 – CRS + administration of ACTH₆₋₉-PGP at a dose of 5 µg / kg; group 4 – administration of ACTH₆₋₉-PGP at a dose of 50 µg / kg; group 5 – administration of ACTH₆₋₉-PGP at a dose of 500 µg / kg. A histologic examination of the rat colon was performed. The histologic architecture of the colonic wall, the depth of crypts, and the number of goblet cells were assessed. Furthermore, the number of granulocytes, plasma cells, lymphocytes, macrophages, and mast cells was counted.

Results. The study demonstrated that chronic (14 days) restraint stress resulted in the development of inflammations in the colonic wall of the animals. Intraperitoneal administration of ACTH₆₋₉-PGP at doses of 50 and 500 µg / kg daily throughout the entire time of stress exposure prevented the development of stress-induced alterations observed in the control animals. At the same time, anti-inflammatory effects of the peptide in the colonic wall and a decrease in the level of corticosterone in the blood serum were noted.

Conclusion. The results of this work and data from other studies on the effects of N-terminal analogs of ACTH indicate the need for studying the mechanisms of their effect on inflammation and searching for targets of ACTH₆₋₉-PGP.

Keywords: ACTH₆₋₉-PGP, Wistar rats, chronic restraint stress, colon, inflammation

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 KSMU (Protocol No. 3 of 16.11.2020).

For citation: Vorvul A.O., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Medvedeva O.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Effects of the ACTH₆₋₉-Pro-Gly-Pro peptide on the morphofunctional state of rat colon under conditions of chronic restraint stress. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):14–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-14-20>.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что N-концевые фрагменты адрекортикотропного гормона (АКТГ) обладают широким спектром биологических эффектов и являются пер-

спективными молекулами для практического применения в виде фармакологических препаратов [1, 2]. В частности, в настоящее время в медицине используется препарат «Семакс», созданный на основе молекулы АКТГ₄₋₇-Pro-Gly-Pro. Ранее был установлен

ряд его эффектов в условиях хронического иммобилизационного стресса (ХИС) [3–5], в том числе на состояние нервной системы в соответствии с представлениями о функциональных взаимосвязях в оси кишечник – мозг [6].

Структурно и функционально родственным секвестру пептидом является АКГГ₆₋₉-Pro-Gly-Pro. Последовательность His-Phe-Arg-Trp, соответствующая участку АКГГ₆₋₉, является активным центром АКГГ, который взаимодействует со всеми типами меланокортиновых рецепторов (MCR), кроме MC2R [7]. Присоединение трипептида Pro-Gly-Pro (ПГП) к С-концу данной молекулы повышает ее устойчивость к действию карбоксипептидаз. Так, АКГГ₆₋₉-ПГП обладает широким спектром нейротропных эффектов и в сопоставимых дозах проявляет более выраженную, чем АКГГ₄₋₇-ПГП, активность в отношении тревожных и депрессивных реакций [8, 9], выработки и консолидации условных рефлексов [10], болевой чувствительности [11].

Ранее нами было показано, что пептид обладает анксиолитическим и антидепрессивными эффектами, препятствует развитию кишечного дисбиоза в условиях ХИС [12]. При этом исследования морфофункционального состояния стенки кишки на фоне применения АКГГ₆₋₉-ПГП не проводились. Учитывая провоспалительный характер хронического стрессорного воздействия на стенку толстой кишки и противовоспалительный эффект АКГГ₄₋₇-ПГП [5], нами выполнено исследование, целью которого являлось изучение морфофункционального состояния стенки толстой кишки у крыс при применении пептида АКГГ₆₋₉-ПГП в условиях хронического стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самцах крыс линии Вистар ($n = 55$) массой 280–300 г, полученных из SPF-вивария Института цитологии и генетики СО РАН. Все эксперименты соответствовали принципам ARRIVE и проведены в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Животных содержали при температуре воздуха 22 ± 2 °С, влажности $60 \pm 5\%$ и 12-часовом световом режиме (свет с 8:00 до 20:00) при доступе к корму и воде *ad libitum*. Подопытные крысы были разделены на пять групп по 11 особей в каждой: 1 – контрольная группа (введение физиологического раствора без стрессирования); 2 – ХИС (введение физиологического раствора и стрессирование животных);

3 – ХИС + 5 (ХИС + введение АКГГ₆₋₉-ПГП 5 мкг/кг); 4 – ХИС + 50 (ХИС + введение АКГГ₆₋₉-ПГП 50 мкг/кг); 5 – ХИС + 500 (ХИС + введение АКГГ₆₋₉-ПГП 500 мкг/кг).

ХИС моделировали путем помещения крыс в тесные прозрачные пластиковые боксы с отверстиями для вентиляции, размер которых подбирали индивидуально. Животных подвергали стрессу в течение 2 ч (с 11:00 до 13:00) на протяжении 14 сут.

В исследовании использовали АКГГ₆₋₉-ПГП, синтезированный в Институте молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», который растворяли в физиологическом растворе и вводили внутривентрально в дозах 5, 50 и 500 мкг/кг ежедневно за 15 мин до начала каждого стрессорного воздействия в объеме из расчета 1 мл на 1 кг массы тела. Интактные и контрольные животные ежедневно получали эквивалентные объемы физиологического раствора.

Через 24 ч после заключительного стрессорного воздействия проводили эвтаназию животных под эфирным наркозом путем забора 7,0–7,5 мл крови из правого желудочка. Собранную кровь центрифугировали (1 500 g, 15 мин) и полученную сыворотку замораживали для дальнейшего исследования.

Для морфометрического и гистологического исследования выделяли ободочную кишку крыс, иссекали ее среднюю треть и фиксировали в 10%-м растворе забуференного нейтрального формалина. Далее аутопаты подвергали стандартной гистологической проводке с получением парафиновых срезов толщиной 5–7 мкм и последующей их окраской гематоксилином и эозином. Для выявления и оценки морфофункциональных изменений бокаловидных и тучных клеток срезы окрашивали реакцией Шиффа с доокраской альциановым синим.

Морфологическое исследование гистологических препаратов выполняли на микроскопе Nikon Eclipse Ci (Nikon, Япония) со штатной цифровой камерой. Морфометрическое исследование осуществляли путем подсчета клеточного состава воспалительного инфильтрата. В дальнейшем рассчитывали соотношение представителей клеточной популяции, выраженное в процентах. Подсчет клеток проводили на 100 клеток в 10 полях зрения при $\times 400$ или 502 мкм² (для достоверной идентификации кариоцитологических признаков) по пяти срезам исследуемого аутопсийного материала [13].

Для оценки выраженности стресс-реакции определяли содержание кортикостерона в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием

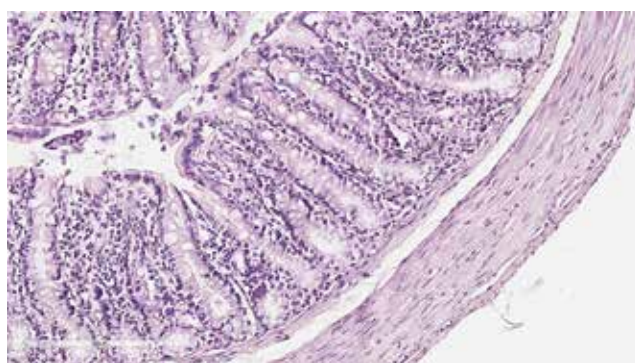
набора Corticosterone ELISA kit (ADI-900-097, Enzo Life Sciences, США), многофункционального планшетного анализатора Varioskan Flash (Thermo Fisher Scientific, США) и программного обеспечения SkanIt (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием языка программирования R v. 4.1.0 в интегрированной среде разработки RStudio Desktop v. 1.4.1717 (RStudio, PBC, США; <https://www.rstudio.com>). Для подтверждения гипотезы о нормальности распределения применяли критерий Шапиро – Уилка, для подтверждения гипотезы о равенстве дисперсий – критерий Левене. При срав-

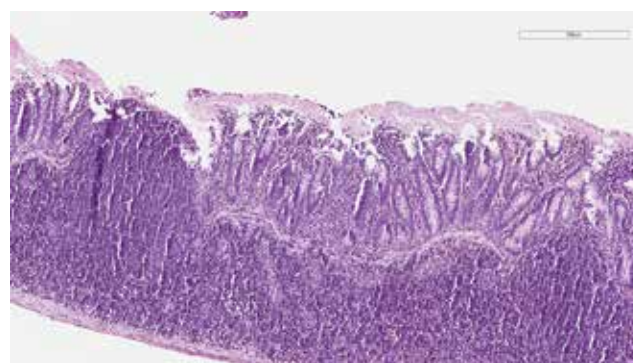
нении двух групп использовали *U*-критерий Манна – Уитни, для четырех групп – критерий Краскела – Уоллиса с апостериорным тестом Данна. В целях снижения эффекта множественных сравнений применяли поправку Бенжамини – Хохберга. Данные представлены в виде медианы интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Различия считали значимыми при достигнутом $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При гистологическом исследовании фрагментов толстой кишки в ее стенке патоморфологических изменений не обнаружено (рис. 1, *a*).



a



b

Рис. 1. Участок толстой кишки животного из контрольной группы, $\times 100$ (*a*); из группы ХИС, $\times 40$ (*b*). Здесь и на рис. 2 окраска гематоксилином и эозином

При моделировании стресса в стенке кишки определяются выраженные патологические изменения с изменением архитектоники слизистой оболочки (см. рис. 1, *b*). Крипты приобретают выраженную булавовидную форму, их глубина уменьшается на 28,5% ($p = 0,00001$) (таблица). Количество бокаловидных клеток также снижается на 23,6% ($p = 0,0332$). В просвете кишки и на ее поверхности большое количество слизи с разрушенными клеточными элементами. Очагово отмечается десквамация эпителия и поверхностный некроз. Со стороны лимфоидной ткани определяются выраженные реактивные изменения – большое количество крупных лимфоидных фолликулов с расширенными герминативными центрами. На протяжении всех слоев визуализируется выраженная диффузная полиморфноклеточная инфильтрация. Среди клеток преобладают лимфоциты и гранулоциты, относительное число которых увеличивается в 6,8 раза ($p = 0,00005$) и 1,5 раза ($p = 0,00007$) соответственно. Также отмечается увеличение числа тучных клеток в 3,8 раза ($p = 0,00008$).

После введения АКТГ₆₋₉-ППП в дозе 5 мкг/кг в стенке кишки сохраняются воспалительно-некротические изменения, сглаженные складки с тонким

слоем слизистой оболочки (рис. 2, *a*). На фоне низкой глубины крипт отмечается увеличение числа бокаловидных клеток (на 22,4%, $p = 0,0134$), что свидетельствует об активном слизиобразовании. Отмечается интерстициальный отек, умеренное полнокровие капилляров и мелких венозных сосудов. В поле зрения большое количество увеличенных лимфоидных фолликулов, занимающих всю толщу стенки толстой кишки. На некоторых участках толстой кишки в слизистом и подслизистом слоях определяется очаговая выраженная инфильтрация гранулоцитами (отмечается снижение их числа (на 29,4%, $p = 0,00003$) по сравнению с группой ХИС), среди которых преобладают эозинофилы.

С увеличением дозы АКТГ₆₋₉-ППП до 50 мкг/кг выраженность патологических изменений уменьшается (рис. 2, *b*). В поверхностных отделах слизистой сохраняется диффузная выраженная полиморфноклеточная инфильтрация с преобладанием гранулоцитов. Наблюдается отек собственно слизистого и подслизистого слоев. Крипты относительно сглажены, их высота не отличается от показателей группы ХИС ($p = 0,5337$). Отмечается достоверное увеличение числа бокаловидных клеток (на 14,3%,

$p = 0,0459$). Обращают на себя внимание дисциркуляторные нарушения в виде большого количества

расширенных полнокровных сосудов микроциркуляторного русла.

Таблица

Морфометрические показатели толстой кишки крыс в условиях ХИС и при применении АКГГ ₆₋₉ -ППП, Me [Q_1 ; Q_3]					
Показатель	Контроль, $n = 11$	ХИС, $n = 11$	ХИС + 5, $n = 11$	ХИС + 50, $n = 11$	ХИС + 500, $n = 11$
Глубина крипт, мкм	159,4 [136,9; 182,34]	114,5 [86,2; 122,1]*	114,9 [97,9; 123,4]	116,6 [86,6; 130,5]	149,6 [102,5; 166,4] [#]
Бокаловидные клетки, ед. в поле зрения	63,20 [42,3; 68,0]	48,3 [34,4; 54,2]*	59,1 [46,1; 67,3] [#]	55,2 [45,8; 64,6] [#]	60,3 [42,6; 66,1] [#]
Гранулоциты, %	11 [10; 12]	17 [15; 23]*	12 [11; 13] [#]	12 [11; 14] [#]	11 [11; 13] [#]
Плазмоциты, %	2,5 [2; 3]	17 [15; 18]*	5 [5; 7] [#]	7 [6; 9] [#]	3 [3; 4] [#]
Макрофаги, %	3 [3; 5]	13 [13; 15]*	13 [11; 15]	14 [13; 16]	10 [10; 11] [#]
Лимфоциты, %	15 [13; 17]	36 [34; 39]*	22 [19; 24] [#]	25 [24; 26] [#]	22 [19; 24] [#]
Тучные клетки, ед. в поле зрения	5, [5; 5,5]	19 [17,5; 20]*	15 [14; 15]	12 [11,5; 13] [#]	10 [10; 11] [#]
Кортикостерон, нг/мл	282,4 [168,9; 299,7]	325,4 [251,9; 375,4]*	263,8 [164,6; 302,6] [#]	294,4 [261,8; 312,8] [#]	269,8 [145,8; 314,0] [#]

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (U -критерий Манна – Уитни); [#] $p < 0,05$ по сравнению с группой ХИС (критерий Кра-скела – Уоллиса с post hoc тестом Данна).

После введения АКГГ₆₋₉-ППП в дозе 500 мкг/кг степень выраженности реактивных изменений снижается (рис. 2, с). Отмечается активная пролиферация поверхностного эпителия, значительное увеличение глубины крипт (на 30,7%, $p = 0,0036$) и количества бокаловидных клеток на стандартную площадь поля зрения (на 24,8%, $p = 0,0427$). При этом общее количество клеток воспалительного ряда снижается по сравнению с предыдущей экс-

периментальной группой: лимфоцитов – на 38,9% ($p = 0,00006$), гранулоцитов – на 35,3% ($p = 0,00008$), плазмоцитов – на 82,4% ($p = 0,00004$) и макрофагов – на 23,1% ($p = 0,00005$), а также отмечается снижение числа тучных клеток на 47,3% ($p = 0,00008$). Локально определяется слабо выраженный склероз собственной пластинки слизистой. В мышечной и серозной оболочке проявлений отека и воспалительной инфильтрации не отмечается.

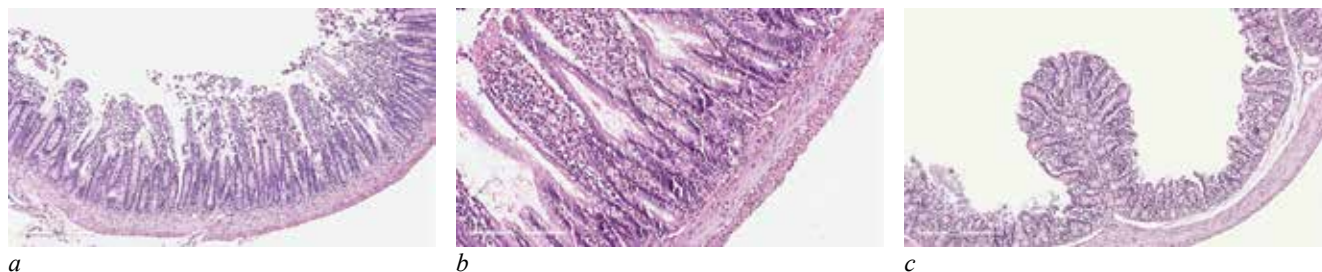


Рис. 2. Участок толстой кишки животного: из группы ХИС + 5×100 (а); из группы ХИС + 50, ×100 (b); из группы ХИС + 500, ×40 (с)

ОБСУЖДЕНИЕ

Установленные в результате изменения могут быть обусловлены повышением проницаемости слизистой оболочки и транслокацией представителей кишечной микрорфлоры в нижележащие слои. Ранее было показано, что ключевую роль в повышении проницаемости кишечной стенки играет кортикотропин-рилизинг фактор (КРФ), продукция которого повышается при стрессорных воздействиях [14]. Увеличение кишечной парацеллюлярной проницаемости под влиянием КРФ может развиваться за счет зависящего от тучных клеток (ТК) высвобождения фактора некроза опухоли α и протеаз.

Установлено, что высвобождаемые при активации ТК триптазы индуцируют разрушение плотных контактов посредством активации рецепторов, активируемых протеазой-2 эпителиальных клеток [14]. Также показано, что фармакологическое ингибирование активации ТК нивелировало вызванную стрессом повышенную проницаемость кишечника на различных моделях у животных [15, 16]. Кроме того, КРФ вызывал гиперплазию ТК и увеличение адгезии бактерий и (или) их проникновение в слизистую оболочку крыс, тогда как у крыс с дефицитом ТК таких изменений не отмечалось [15]. Кроме того, под действием стрессора в системе гомеостаза могут

наблюдаться сдвиги как в виде активации, так и угнетения отдельных ее звеньев, в частности снижение антикоагулянтной и фибринолитической активности крови с одновременной активацией тромбоцитарного звена гемостаза в условиях продолжительного стресса [17], что может быть причиной развития атрофических изменений в стенке толстой кишки.

Установленные нами в данной работе противовоспалительные эффекты АКТГ₆₋₉-ППП в стенке толстой кишки могут быть обусловлены как центральными стресс-лимитирующими эффектами пептида [8, 9], так и местным действием вследствие своей биологической полифункциональности, характерной для регуляторных пептидов [18]. В основе центрального действия пептида могут находиться следующие механизмы. Так, АКТГ₆₋₉-ППП мог снижать активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси путем взаимодействия с центральными меланокортиновыми рецепторами вследствие его способности проникать через гематоэнцефалический барьер [19]. Данное обстоятельство может обусловить снижение секреции КРФ в гипоталамусе и, следовательно, АКТГ и глюкокортикоидов. Установленное снижение уровня кортикостерона может являться подтверждением участия вышеописанных механизмов в реализации противовоспалительного эффекта АКТГ₆₋₉-ППП. Кроме того, микробиота кишечника может оказывать влияние на продукцию КРФ в гипоталамусе через продукцию медиаторов и (или) действие на вагус [20]. Данные о препятствующем действии пептида на развитие кишечного дисбиоза [12] позволяют нам предполагать еще один возможный путь реализации его эффектов – через действие на микробиоту кишечника.

С учетом экспрессии MC1R на поверхности тучных клеток [21] правомочно предполагать, что АКТГ₆₋₉-ППП также может снижать проницаемость кишечника за счет местного действия через снижение активности тучных клеток. Также фрагмент АКТГ₆₋₉ и глипролин Pro-Gly-Pro обладают антикоагулянтной, фибринолитической, антитромбоцитарной активностью [22, 23], что может способствовать улучшению микроциркуляции и предотвращению развития дистрофических изменений в стенке толстой кишки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненное исследование показало, что хронический иммобилизационный стресс приводит к развитию воспалительных процессов в стенке толстой кишки животных. Внутривентральное введение АКТГ₆₋₉-ППП в дозах 50 и 500 мкг/кг 1 раз/сут на протяжении всего времени стрессорного воздей-

ствия препятствовало развитию стресс-индуцированных сдвигов в стенке толстой кишки и снижало уровень кортикостерона в сыворотке крови. Результаты настоящей работы и данные других исследований эффектов N-концевых аналогов АКТГ свидетельствуют о необходимости продолжения изучения механизмов их влияния на процессы воспаления и поиска мишеней АКТГ₆₋₉-ППП.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Catania A. Neuroprotective actions of melanocortins: a therapeutic opportunity. *Trends Neurosci.* 2008;31(7):353–360. DOI: 10.1016/j.tins.2008.04.002.
2. Yang Y., Hruby V.J., Chen M., Crasto C., Cai M., Harmon C.M. Novel binding motif of ACTH analogues at the melanocortin receptors. *Biochemistry.* 2009;48(41):9775–9784. DOI: 10.1021/bi900634e.
3. Volodina M.A., Sebentsova E.A., Glazova N.Y., Manchenko D.M., Inozemtseva L.S., Dolotov O.V. et al. Correction of long-lasting negative effects of neonatal isolation in white rats using semax. *Acta Naturae.* 2012;4(1):86–92.
4. Svishcheva M.V., Mukhina A.Y., Medvedeva O.A., Shevchenko A.V., Bobyntsev I.I., Kalutskii P.V. et al. Composition of colon microbiota in rats treated with ACTH(4-7)-PGP peptide (semax) under conditions of restraint stress. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020;169(3):357–360. DOI: 10.1007/s10517-020-04886-7.
5. Svishcheva M.V., Mishina Y.S., Medvedeva O.A., Bobyntsev I.I., Mukhina A.Y., Kalutskii P.V. et al. Morphofunctional state of the large intestine in rats under conditions of restraint stress and administration of peptide ACTH(4-7)-PGP (semax). *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;170(3):384–388. DOI: 10.1007/s10517-021-05072-z.
6. Cryan J.F., O’Riordan K.J., Cowan C.S.M., Sandhu K.V., Bastiaansen T.F.S., Boehme M. et al. The microbiota-gut-brain axis. *Physiol. Rev.* 2019;99(4):1877–2013. DOI: 10.1152/physrev.00018.2018.
7. Левицкая Н.Г., Каменский А.А. Меланокортиновая система. *Успехи физиологических наук.* 2009;40(1):44–65.
8. Додонова С.А., Бобынцев И.И., Бельх А.Е., Анфилова М.Г., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Сравнительное исследование антидепрессивной активности N-концевых аналогов адренкортикотропного гормона у крыс. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2019;4(4):83–89. DOI: 10.21626/vestnik/2019-4/10.
9. Левицкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Андреева Л.А., Каменский А.А. и др. Ноотропные и анксиолитические эффекты гептапептида АКТГ₆₋₉Pro-Gly-Pro. *Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова.* 2019;105(6):761–770. DOI: 10.1134/S0869813919060049.
10. Dodonova S.A., Bobyntsev I.I., Belykh A.E., Vorvul’ A.O. ACTH₆₋₉-PGP improves memory consolidation processes in rats. *Res. Results Pharmacol.* 2021;7(1):27–32. DOI: 10.3897/rpharmacology.7.62479.
11. Dodonova S.A., Bobyntsev I.I., Belykh A.E., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Changes in the nociceptive response to thermal stimulation in rats following administration of N-termi-

- nal analogs of the adrenocorticotrophic hormone. *Bulletin of RSMU*. 2021;(6):33–36. DOI: 10.24075/brsmu.2019.085.
12. Vorvul A.O., Bobytsev I.I., Medvedeva O.A., Mukhina A.Y., Svishcheva M.V., Azarova I.E. et al. ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro ameliorates anxiety-like and depressive-like behaviour and gut mucosal microbiota composition in rats under conditions of chronic restraint stress. *Neuropeptides*. 2022;93:102247. DOI: 10.1016/j.npep.2022.102247.
13. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. М.: Медицина, 1984:285.
14. Overman E.L., Rivier J.E., Moeser A.J. CRF induces intestinal epithelial barrier injury via the release of mast cell proteases and TNF- α . *PLoS One*. 2012;7(6):e39935. DOI: 10.1371/journal.pone.0039935.
15. Santos J., Yang P.C., Söderholm J.D., Benjamin M., Perdue M.H. Role of mast cells in chronic stress induced colonic epithelial barrier dysfunction in the rat. *Gut*. 2001;48(5):630–636.
16. Santos J., Yates D., Guilarte M., Vicario M., Alonso C., Perdue M.H. Stress neuropeptides evoke epithelial responses via mast cell activation in the rat colon. *Psychoneuroendocrinology*. 2008;33(9):1248–1256. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2008.07.002.
17. Spiezia L., Tormene D., Pesavento R., Salmaso L., Simioni P., Prandoni P. Thrombophilia as a predictor of persistent residual vein thrombosis. *Haematologica*. 2008;93(3):479–480. DOI: 10.3324/haematol.12205.
18. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клиническая медицина*. 2020;98(3):165–167. DOI: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177.
19. Shevchenko K.V., Nagaev I.Y., Babakov V.N., Andreeva L.A., Shevchenko V.P., Radilov A.S. et al. Proteolysis of His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro in the blood and brain of rats *in vivo*. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2015;464:301–304. DOI: 10.1134/S1607672915050087.
20. Hosoi T., Okuma Y., Nomura Y. Electrical stimulation of afferent vagus nerve induces IL-1 β expression in the brain and activates HPA axis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2000;279(1):R141–R147. DOI: 10.1152/ajp-regu.2000.279.1.R141.
21. Adachi S., Nakano T., Vliagoftis H., Metcalfe D.D. Receptor-mediated modulation of murine mast cell function by α -melanocyte stimulating hormone. *J. Immunol.* 1999;163(6):3363–3368.
22. Рогозинская Э.Я., Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Аргининсодержащие пептиды и их влияние на параметры системы гемостаза в норме у крыс. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2019;(2):31–36. DOI: 10.25555/THR.2019.2.0877.
23. Lyapina L.A., Grigor'eva M.E., Andreeva L.A., Myasoe-dov N.F. Protective antithrombotic effects of proline-containing peptides under the influence of stress on the animal organism. *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 2010;37:392–396. DOI: 10.1134/S1062359010040096.

Вклад авторов

Ворвуль А.О. – анализ и интерпретация данных. Бобынцев И.И. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Мишина Е.С. – анализ и интерпретация данных; проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Медведева О.А. – разработка концепции и дизайна; проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. – разработка концепции и дизайна.

Информация об авторах

Ворвуль Антон Олегович – аспирант, ассистент, кафедра патофизиологии, мл. науч. сотрудник, НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск, vorvul1996@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1529-6014>

Бобынцев Игорь Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии, директор НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск, bobig@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7745-2599>

Мишина Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, КГМУ, г. Курск, katusha100390@list.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3835-0594>

Медведева Ольга Анатольевна – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, КГМУ, г. Курск, olgafrida@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2889-155X>

Андреева Людмила Александровна – канд. хим. наук, руководитель сектора регуляторных пептидов, отдел химии физиологически активных веществ, ИМГ, НИЦ Курчатовский институт, г. Москва, landr@img.ras.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3927-8590>

Мясоедов Николай Федорович – д-р хим. наук, профессор, академик РАН, зав. отделом химии физиологически активных веществ, ИМГ, НИЦ Курчатовский институт, г. Москва, nfm@img.ras.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1294-102X>

(✉) **Ворвуль Антон Олегович**, vorvul1996@mail.ru

Поступила в редакцию 11.11.2022;
одобрена после рецензирования 05.12.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 611.833.4.019

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-21-27>

Вариантная анатомия и коды внутриствольных путей грудоспинного нерва

Горбунов Н.С.^{1,2}, Кобер К.В.³, Каспаров Э.В.², Ростовцев С.И.¹, Протасюк Е.Н.¹

¹ Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

² Научно-исследовательский институт (НИИ) медицинских проблем Севера Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3и

³ Красноярский краевой клинический онкологический диспансер (КККОД) им. А.И. Крыжановского Россия, 660133, г. Красноярск, ул. 1-я Смоленская, 16

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить варианты внутриствольных путей пучков грудоспинного нерва и разработать систему их кодирования.

Материалы и методы. После фиксации в 2%-м растворе уксусной кислоты с помощью стереоскопической лупы МБС-10 выполнено макромикроскопическое внутриствольное препарирование пучков грудоспинного нерва на 121 препарате плечевого сплетения от 105 трупов мужчин и женщин в возрасте 40–97 лет. Из полученных показателей в программе MS Excel 12 сформирована база данных и проведено определение количества встречающихся вариантов строения в абсолютных и относительных (% от 121 препарата) единицах.

Результаты. Проведенное исследование позволило выявить, что грудоспинной нерв является смешанным нервом, состоит из 1–3 чувствительных и одного двигательного пучков, которые неодинаково проходят через спинномозговые нервы, стволы, подмышечный нерв с образованием 20 внутриствольных путей. В 77% случаев чувствительные пучки от грудоспинного нерва проходят через задний пучок, заднее разделение, средний ствол и спинномозговой нерв С7 или нижний ствол и С8. В 22% у грудоспинного нерва кроме основного имеется еще один, редко – два дублирующих чувствительных пути. Двигательный пучок до грудоспинного нерва в 93% проходит через спинномозговой нерв С7 и средний ствол, заднее разделение и задний пучок. Кодирование вариантов внутриствольных путей в направлении чувствительный пучок → задний пучок → заднее разделение → ствол → спинномозговой нерв; двигательный пучок ← задний пучок ← заднее разделение ← ствол ← спинномозговой нерв позволяет кратко, наглядно и полно отобразить все морфологические разнообразия строения.

Заключение. Выявленные варианты внутриствольных путей могут быть полезны при диагностике травм и заболеваний, расширяют показания использования спинномозговых нервов и стволов плечевого сплетения, грудоспинного нерва в реконструктивных операциях.

Ключевые слова: грудоспинной нерв, внутриствольные пути, чувствительные пучки, двигательный пучок, смешанный пучок, варианты, коды

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

Источник финансирования. Исследование поддержано Красноярским краевым фондом науки.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 91 от 11.09.2018).

✉ Горбунов Николай Станиславович, gorbunov_ns@mail.ru

Для цитирования: Горбунов Н.С., Кобер К.В., Каспаров Э.В., Ростовцев С.И., Протасюк Е.Н. Вариантная анатомия и коды внутривольных путей грудоспинного нерва. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):21–27. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-21-27>.

Anatomical variations and coding of the intra-trunk pathways in the thoracodorsal nerve

Gorbunov N.S.^{1,2}, Kober K.V.³, Kasparov E.V.², Rostovtsev S.I.¹, Protasyuk E.N.¹

¹ V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University
1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

² Research Institute of Medical Problems of the North
3i, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

³ A.I. Kryzhanovsky Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Center
16, 1st Smolenskaya Str., Krasnoyarsk, 660133, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study anatomical variations of the intra-trunk pathways in the thoracodorsal nerve bundles and to develop a system for their coding.

Materials and methods. After fixation in a 2% solution of acetic acid using the MBS-10 stereomicroscope, we performed macro- and microscopic intra-trunk dissection of thoracodorsal nerve bundles in 121 specimens obtained from 105 corpses of males and females who died at the age of 40–97 years. Using the obtained findings, we compiled a database in the MS Excel 12.0 software and determined the number of anatomical variations in absolute and relative (% from 121 specimens) units.

Results. The study revealed that the thoracodorsal nerve is a mixed nerve, which consists of 1 motor and 1–3 sensory bundles that variously pass through the spinal nerves, trunks, and the axillary nerve with the formation of 20 intra-trunk pathways. In 77% of cases, sensory bundles arising from the thoracodorsal nerve pass through the posterior bundle, the posterior division, the middle trunk, and the C7 spinal nerve or the inferior trunk and the C8 spinal nerve. In 22% of cases, the thoracodorsal nerve has one or, rarely, two duplicate sensory pathways besides the main one. In 93% of cases, the motor bundle to the thoracodorsal nerve passes through the C7 spinal nerve and the middle trunk, the posterior division, and the posterior bundle. Coding the anatomical variations of the intra-trunk pathways in the direction of sensory bundle «posterior bundle → posterior division → trunk → spinal nerve; motor bundle ← posterior bundle ← posterior division ← trunk ← spinal nerve allows to briefly yet clearly and fully display the morphological diversity of the nerve anatomy.

Conclusion. The identified anatomical variations of the intra-trunk pathways can be useful in the diagnosis of injuries and diseases. They expand indications for the use of spinal nerves, trunks of the brachial plexus, and the thoracodorsal nerve in reconstructive surgery.

Keywords: thoracodorsal nerve, intra-trunk pathways, sensory bundles, motor bundle, mixed bundle, anatomical variations, codes

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 Krasnoyarsk Regional Science Foundation.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Protocol No. 91 of 11.09.2018).

For citation: Gorbunov N.S., Kober K.V., Kasparov E.V., Rostovtsev S.I., Protasyuk E.N. Anatomical variations and coding of the intra-trunk pathways in the thoracodorsal nerve. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):21–27. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-21-27>.

ВВЕДЕНИЕ

Плечевое сплетение характеризуется значительной вариабельностью строения и изучено довольно подробно [1, 2]. Однако на практике анатомическая вариабельность нервов плечевого сплетения встречается чаще, чем об этом сообщается, и составляет 50% от всех особенностей нервной системы [3]. Несмотря на высокую неопределенность соматотопической организации, чувствительные и двигательные волокна нервов имеют тенденцию группироваться в пучки [4], которые изучаются с помощью гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методов на плоскостных срезах [5, 6]. В клинической практике востребованными являются знания вариантов внутриствольных путей пучков нервных волокон на всем протяжении – от исполнительных органов до центральных отделов нервной системы [7, 8]. Особенно это актуально в связи с развитием микрохирургических технологий на пучках периферических нервов [9, 10]. Тщательное сопоставление и сшивание однофункциональных пучков в соответствии с их внутриствольной топографией являются залогом успешного восстановления подвижности и чувствительности в полном объеме [11, 12].

Несмотря на активное использование грудоспинного нерва в клинической практике [13, 14], его пучковому строению посвящено ограниченное количество исследований [15–17]. Однако и в имеющихся работах не отражаются особенности прохождения каждого пучка грудоспинного нерва на всем протяжении с учетом их функциональной принадлежности.

Цель настоящего исследования – изучить варианты внутриствольных путей пучков грудоспинного нерва и разработать систему их кодирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в отделении экспертизы трупов Красноярского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы на 121 препарате плечевого сплетения от 105 трупов мужчин и женщин в возрасте 40–97 лет. Большинство исследуемых трупов – мужчины (76, или 69%) и меньше – женщины (29, или 31%). Причиной смерти во всех случаях были общесоматические заболевания, без повреждений головы, шеи, верхних конечностей и грудной клетки.

У всех трупов плечевое сплетение изучено с правой стороны, а у 16 трупов одновременно справа и слева. Преимущественный выбор стороны связан с большим количеством правосторонних травм и оперативных вмешательств.

Изучение вариантов строения грудоспинного нерва осуществлялось с помощью макромикроско-

пического внутриствольного препарирования. Первым этапом проводилось послойное анатомическое препарирование с выделением фрагмента шейного и грудного отделов спинного мозга, корешковых нитей, передних (двигательных) и задних (чувствительных) корешков, передних ветвей спинномозговых нервов, стволов, задних разделений, задних пучков, подмышечного и грудоспинного нервов.

Выделенный препарат плечевого сплетения помещали на 1–3 сут в 10%-й раствор нейтрального формалина, а в дальнейшем фиксировали в 2%-м растворе уксусной кислоты. Выбор уксусной кислоты связан с ее свойствами противодействия усадочному эффекту и растворению коллагена эпиневрия [18].

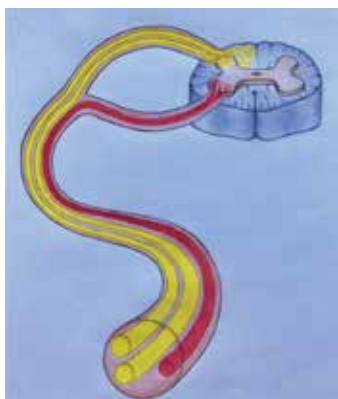
Вторым этапом с помощью стереоскопической лупы МБС-10 при $\times 16$ – 56 проводилось макромикроскопическое внутриствольное препарирование пучков грудоспинного нерва на всем протяжении плечевого сплетения – от широчайшей мышцы спины до спинного мозга. Исключительно повышенное внимание уделялось тому, через какие корешки спинномозговых нервов проходят пучки грудоспинного нерва, что позволило идентифицировать их функциональную принадлежность: через передние корешки проходят двигательные, через задние – чувствительные.

В статье результаты исследования приведены после изучения 121 препарата плечевого сплетения от 105 трупов людей без разделения их по половому признаку и билатеральной принадлежности. Это связано с тем, что статистически значимых половых и билатеральных различий в частоте встречаемости вариантов внутриствольных путей грудоспинного нерва нами не выявлено.

Все особенности внутриствольных путей грудоспинного нерва занесены в программу MS Excel 12.0 (Microsoft Corporation, США). Проведено определение количества встречающихся вариантов строения в абсолютных и относительных (% от 121 препарата) единицах.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Макромикроскопическое препарирование выявило, что грудоспинный нерв имеет четкое фасцикулярное внутриствольное строение и состоит из разного количества (1–4) пучков. Дальнейшее препарирование этих пучков в проксимальном направлении позволило определить их функциональную принадлежность и варианты внутриствольных путей. Функциональная принадлежность пучков грудоспинного нерва определена на основании их прохождения через корешки спинномозгового нерва: через задний – чувствительные, через передний – двигательный (рис.).



Система кодирования позволяет кратко, наглядно и полно отобразить все разнообразие внутриствольных путей грудоспинного нерва. Так, первый вариант строения расшифровывается следующим образом: грудоспинной нерв имеет двухпучковое строение, при котором чувствительный и двигательный пучки проходят по спинномозговому нерву C7, далее через средний ствол, его заднее разделение и задний пучок.

Проведенное исследование показало, что чувствительные пучки грудоспинного нерва проходят через большее количество элементов плечевого сплетения. Преимущественно чувствительные пучки проходят через спинномозговой нерв C7 и средний ствол (42% – 51/121), а также через C8 и нижний ствол (35% – 42/121). Возможно, что они являются основными чувствительными путем у грудоспинного нерва. В 22% (26/121) у грудоспинного нерва кроме основных имеется еще один дублирующий чувствительный путь, а в одном сплетении из 121 – два.

В отличие от чувствительных пучков, двигательный путь не дублируется и проходит через спинномозговой нерв C7 (93% – 112/121) и средний ствол (89% – 108/121), реже – через C8 (девять сплетений из 121) и нижний ствол (11 сплетений из 121), совсем редко – через C7 и верхний ствол (два сплетения из 121).

Таким образом, с помощью макромикроскопического препарирования у грудоспинного нерва выявлено 20 вариантов функционально обусловленных внутриствольных путей. Установлены дублирующие пути чувствительных пучков. Для наглядности отображения всего разнообразия, а также с целью упрощения использования в клинической практике предложена система кодирования выявленных вариантов внутриствольных путей. Полученные данные о вариантах внутриствольных путей грудоспинного нерва могут использоваться в клинической практике при диагностике травм и заболеваний, выполнении реконструктивных операций.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное нами внутриствольное макромикроскопическое препарирование выявило, что грудоспинной нерв имеет четкое фасцикулярное строение, является смешанным и содержит больше (1–3) чувствительных пучков и только один – двигательный. Эти результаты подтверждают данные B. Gesslbauer и соавт. (2017), которые с помощью иммуофлуоресцентного метода подсчитали в грудоспинном нерве 6 904 (± 3 070) аксонов, из которых 5 977 (± 3 066) являются сенсорными, а 927 (± 79) – моторными [17]. Такое преобладание в нерве чувствительных воло-

кон и пучков над двигательными позволяет получить полную информацию о состоянии широчайшей мышцы спины, проводить постоянную координацию и коррекцию ее сокращений.

Определение функциональной принадлежности пучков грудоспинного нерва достигнуто благодаря проведенному тщательному препарированию их на всем протяжении плечевого сплетения после фиксации в 2%-м растворе уксусной кислоты. W. Lu и соавт. (2008) по аналогичной методике смогли препарировать пучки грудоспинной нерв только до уровня стволов плечевого сплетения [15]. Нам удалось проследить пучки грудоспинного нерва дальше – в спинномозговых нервах, их передних (двигательных) и задних (чувствительных) корешках. Аналогичных работ в доступной литературе нами не обнаружено.

Такой анатомический подход обладает двумя преимуществами над гистохимическими, электрофизиологическими, инструментальными методами и позволяет не только точно определить функциональную принадлежность каждого пучка, но и проследить их путь на всем протяжении плечевого сплетения – от широчайшей мышцы спины до спинного мозга. В результате выявлено 20 вариантов функционально обусловленных внутриствольных путей грудоспинного нерва. Причем установлены вариabельные и стабильные участки. Стабильными являются корешки спинномозговых нервов (чувствительные пучки проходят через задние, двигательный – через передний), задние разделения и задний пучок, а вариabельными – спинномозговые нервы и стволы.

Основное количество вариантов связано с неодинаковым прохождением чувствительных и двигательных пучков через верхний, средний и нижний стволы, спинномозговые нервы C6, C7 и C8. Выделение остальных шести вариантов связано с прохождением пучков грудоспинного нерва через подмышечный нерв. По данным R. Rastogi и соавт. (2013), грудоспинной нерв отходит от подмышечного нерва в 23% случаев [19], а по нашим данным – в семи сплетениях из 121.

Преобладающим путем для чувствительных пучков является средний ствол и C7 (42%) или нижний ствол и C8 (35%), а для двигательного – C7 (93%) и средний ствол (89%). Это несколько отличается от данных W. Lu и соавт. (2008), которые установили, что более 52% двигательных волокон грудоспинного нерва берет свое начало в C7 [15]. По данным K.S. Lee (2007), наиболее часто (в 60% случаев) формирование грудоспинного нерва осуществляется двумя спинномозговыми нервами C7 и C8, реже – C6, C7 и C8 (25%), C6 и C7 (10%) и C7 (5%) [20].

Нами выявлен еще один вариант участия только спинномозгового нерва С8 в формировании грудоспинного нерва, который встретился в девяти сплетениях из 121 и в литературе не описан. Полученные нами данные отличаются от результатов W. Lu и соавт. (2008), которые выявили только три варианта прохождения пучков грудоспинного нерва через стволы: верхний и средний (5%), все три ствола (85%), средний и нижний (10%) [15]. По нашим данным, вариант прохождения пучков через все три ствола выявлен только в пяти сплетениях из 121. Все выявленные различия, очевидно, связаны с региональными, этническими особенностями или разным количеством изучаемого материала.

Проведенное исследование выявило у грудоспинного нерва единственный двигательный путь и дублирующие чувствительные пути, которые встречаются в 22% случаев. В литературе отсутствуют сведения о дублирующих чувствительных путях грудоспинного нерва.

Для наглядности отображения всего разнообразия, а также с целью упрощения использования в клинической практике разработана система кодирования выявленных вариантов внутриствольных путей в направлении: чувствительный пучок → задний пучок → заднее разделение → ствол → спинномозговой нерв; двигательный пучок ← задний пучок ← заднее разделение ← ствол ← спинномозговой нерв.

На основании полученных данных определена закономерность формирования внутриствольных путей грудоспинного нерва, которая характеризуется большей вариантностью чувствительных пучков в проксимальных отделах плечевого сплетения. Возможно, эмбриональный рост отростков нейронов в зачатке руки на начальных этапах пути очень восприимчив к препятствиям, что и приводит к такому внутриствольному разнообразию чувствительных пучков [21]. Более стабильный внутриствольный путь двигательного пучка связан с тем, что дендриты прорастают быстрее и по их ходу, с отставанием ориентируются аксоны [22]. Более поздние двигательные волокна движутся по уже существующим трактам и меньше встречают препятствия [23].

Выявленные варианты внутриствольных путей могут быть полезными при диагностике травм и заболеваний, расширяют показания использования спинномозговых нервов и стволов плечевого сплетения, грудоспинного нерва в реконструктивных операциях.

ВЫВОДЫ

1. Грудоспинный нерв является смешанным нервом, состоит из 1–3 чувствительных и одного двигательного пучков, которые неодинаково проходят

через спинномозговые нервы, стволы, подмышечный нерв с образованием 20 внутриствольных путей.

2. В большинстве случаев чувствительные пучки от грудоспинного нерва проходят через задний пучок, заднее разделение и средний ствол в спинномозговой нерв С7 (42%) или нижний ствол и С8 (35%). В 22% случаев у грудоспинного нерва кроме основного имеется еще один, редко – два дублирующих чувствительных пути.

3. Путь двигательного пучка до грудоспинного нерва не дублируется и в большинстве случаев проходит через спинномозговой нерв С7 (93%) и средний ствол (89%), а далее через заднее разделение и задний пучок.

4. Кодирование вариантов внутриствольных путей грудоспинного нерва позволяет кратко, наглядно и полно отобразить все морфологические разнообразия строения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Emamhadi M., Chabok S.Y., Samini F., Alijani B., Behzadnia H., Firozabad F.A. et al. Anatomical Variations of Brachial Plexus in Adult Cadavers; A Descriptive Study. *Archives of Bone and Joint Surgery*. 2016;4(3):253–258.
2. Golarz S.R., White J.M. Anatomic variation of the phrenic nerve and brachial plexus encountered during 100 supraclavicular decompressions for neurogenic thoracic outlet syndrome with associated postoperative neurologic complication. *Annals of Vascular Surgery*. 2020;62:70–75. DOI: 10.1016/j.avsg.2019.04.010.
3. Hassan A., Jan N. Anatomical variations in brachial plexus formation and branching pattern in adult cadavers. *Annals of R.S.C.B.* 2021;25(4):4869–4876.
4. Mioton L., Dumanian G.A., De la Garza M., Ko J.H. Histologic analysis of sensory and motor axons in branches of the human brachial plexus. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2019;144(6):1359–1368. DOI: 10.1097/PRS.0000000000006278.
5. Agarwal P., Bajaj J., Sharma D. Techniques for Differentiating Motor and Sensory Fascicles of a Peripheral Nerve – A Review. *Indian Journal of Neurotrauma*. 2020;17(1). DOI: 10.1055/s-0040-1713458.
6. Zhou X., Du J., Qing L., Mee T., Xu X., Wang Zh. et al. Identification of sensory and motor nerve fascicles by immunofluorescence staining after peripheral nerve injury. *J. Transl. Med.* 2021;19(1):207. DOI: 10.1186/s12967-021-02871-w.
7. Osborne N.R., Anastakis D.J., Davis K.D. Peripheral nerve injuries, pain, and neuroplasticity. *Journal of Hand Therapy*. 2018;31(2):184–194. DOI: 10.1016/j.jht.2018.01.011.
8. Llusá M., Morro M.R., Casañas J., Moore A.M. Surgical anatomy of the brachial plexus. In: Shin A.Y., Pulos N. (eds). *Operative Brachial Plexus Surgery*. Springer, Cham. 2021;19–31. DOI: 10.1007/978-3-030-69517-0_2.
9. Beris A., Gkiatas I., Gelalis I., Papadopoulos D., Kostas-Agnantis I. Current concepts in peripheral nerve surgery. *European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology*. 2019;29:263–269. DOI: 10.1007/s00590-018-2344-2.

10. Park S.O., Kim J., Kim Il-K., Chung J.H., Jin U.S., Chang H. Minimizing donor site morbidity using the interfascicular nerve splitting technique in single-stage latissimus neuromuscular transfer for facial reanimation. *Correspondence and Communications*. 2021;74(5):1101–1160. DOI: 10.16/j.bjps.2020.10.030.
11. Manoukian O.S., Baker J.T., Rudraiah S., Arul M.R., Vella A.T., Domb A.J. et al. Functional polymeric nerve guidance conduits and drug delivery strategies for peripheral nerve repair and regeneration. *Journal of Controlled Release*. 2020;10(317):78–95. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.11.021.
12. Gordon T. Peripheral nerve regeneration and muscle reinnervation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(22):8652. DOI: 10.3390/ijms21228652.
13. Bedarida V., Qasemyar Q., Temam S., Janot F., Kolb F. Facial functional outcomes analysis after reconstruction by vascularized thoracodorsal nerve free flap following radical parotidectomy with facial nerve sacrifice. *Head & Neck*. 2020;42(5):994–1003. DOI: 10.1002/hed.26076.
14. Guyonvarch P., Benmoussa N., Moya-Plana A., Leymarie N., Mangialardi M.L., Honart J. et al. Thoracodorsal artery perforator free flap with vascularized thoracodorsal nerve for head and neck reconstruction following radical parotidectomy with facial nerve sacrifice: Step-by-step surgical technique video. *Head & Neck*. 2021;43(7):2255–2258. DOI: 10.1002/hed.26701.
15. Lu W., Xu J.G., Wang D.P., Gu Y.D. Microanatomical study on the functional origin and direction of the thoracodorsal nerve from the trunks of brachial plexus. *Wiley InterScience*. 2008;21(6):509–513. DOI: 10.1002/ca.20656.
16. Raksakulkiat R., Leechavengvongs S., Malungpaishrope K., Uerpaiojkit C., Witoonchart K., Chongthammakun S. Restoration of winged scapula in upper arm type brachial plexus injury: anatomic feasibility. *J. Med. Assoc. Thai*. 2009;92(6):S244–250.
17. Gesslbauer B., Hruby L.A., Roche A.D., Farina D., Blumer R., Oskar C. et al. Axonal components of nerves innervating the human arm. *Ann. Neurol*. 2017;82(3):396–408. DOI: 10.1002/ana.25018.
18. Oh S.Y., Jung K., Kim E.H. Production of collagen nanofiber using electrospinning dope of acid-soluble collagen isolated from fish skin. *Textile Science and Engineering*. 2020;57(3):186–191. DOI: 10.12772/TSE.2020.57.186.
19. Rastogi R., Budhiraja V., Bansal K. Posterior cord of brachial plexus and its branches: anatomical variations and clinical implication. *ISRN Anat*. 2013;2013:501813. DOI: 10.5402/2013/501813.
20. Lee K.S. Variation of the spinal nerve compositions of thoracodorsal nerve. *Clin. Anat*. 2007;20(6):660–662. DOI: 10.1002/ca.20484.
21. Leijnse J.N., Bakker B.S., D'Herde K. The brachial plexus – explaining its morphology and variability by a generic developmental model. *J. Anat*. 2020;236(5):862–882. DOI: 10.1111/joa.13123.
22. Brushart T., Kebaisch F., Wolinsky R., Skolasky R., Li Z., Barker N. Sensory axons inhibit motor axon regeneration in vitro. *Experimental Neurology*. 2019;323:113073. DOI: 10.1016/j.expneurol.2019.113073.
23. Spead O., Poulain F.E. Trans-axonal signaling in neural circuit wiring. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(14):5170. DOI: 10.3390/ijms21145170.

Вклад авторов

Горбунов Н.С. – научный руководитель работы, окончательное утверждение для публикации рукописи. Кобер К.В., Каспаров Э.В., Ростовцев С.И., Протасюк Е.Н. – проведение исследования, сбор и анализ данных.

Информация об авторах

Горбунов Николай Станиславович – д-р мед. наук, профессор, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; вед. науч. сотрудник, НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, gorbunov_ns@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4809-4491>

Кобер Кристина Владимировна – хирург-онколог, КККОД им. А.И. Крыжановского, г. Красноярск, k-kober@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5209-182X>

Каспаров Эдуард Вильямович – д-р мед. наук, профессор, директор НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, rsimpn@scn.ru, <http://orcid.org/0000000259881688>

Ростовцев Сергей Иванович – д-р мед. наук, доцент, кафедра анестезиологии и реаниматологии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, rostovcev.1960@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1462-7379>

Протасюк Екатерина Николаевна – ординатор, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, demonshire@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1204-7821>

(✉) Горбунов Николай Станиславович, gorbunov_ns@mail.ru

Поступила в редакцию 29.06.2022;
одобрена после рецензирования 03.11.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.12-008.46:616.13-004.6:616.12-008.3-073.96

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-28-38>

Сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса левого желудочка при неокклюзирующем коронарном атеросклерозе: клиническая полезность оценки вариабельности сердечного ритма

Гракова Е.В.¹, Копьева К.В.¹, Гусакова А.М.¹, Сморгон А.В.¹, Ахмедов Ш.Д.¹,
Калюжин В.В.², Тепляков А.Т.¹

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить роль вегетативной дисрегуляции ритма сердца в патогенезе хронической сердечной недостаточности (ХСН) с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) у больных с необструктивным поражением коронарных артерий (КА).

Материалы и методы. В одномоментное исследование включено 65 пациентов (55,4% мужского пола) с впервые диагностированным необструктивным поражением КА. Необструктивное поражение КА (стеноз менее 50%) подтверждено данными компьютерной коронарной ангиографии. Вариабельность сердечного ритма исследовали посредством суточного мониторингирования электрокардиограммы (ЭКГ), рассматривая показатели временного и спектрального анализа.

Результаты. В зависимости от наличия СНсФВ пациенты были разделены на две группы: в первую ($n = 48$) вошли больные с СНсФВ, во вторую ($n = 17$) – пациенты без ХСН. У пациентов с СНсФВ на фоне неокклюзирующего атеросклероза коронарного русла обнаружено статистически значимое снижение общей вариабельности сердечного ритма и парасимпатических влияний на сердце преимущественно в ночное время, а также повышенная активность церебральных эрготропных систем. Установлено, что у пациентов первой группы значения показателей временного анализа дисперсии ритма сердца, основанных на исследовании продолжительности интервалов R-R ЭКГ (SDANN и SDNNidx), имели прямую статистически значимую связь с уровнем миокардиального стресса в диастолу, величиной сердечно-сосудистого сопротивления, а также соотношением скорости трансмитрального кровотока в раннюю фазу диастолы и скорости раннего диастолического смещения боковой части фиброзного кольца митрального клапана. Определены пороговые значения SDNNidx и pNN50, которые у таких пациентов могут использоваться в качестве маркера для ранней диагностики СНсФВ.

Заключение. У пациентов с необструктивным поражением КА и СНсФВ при выполнении суточного мониторингирования ЭКГ целесообразна оценка параметров дисперсии ритма сердца, анализируемых временными методами, которые по сравнению с показателями спектрального анализа имеют более тесную связь с характеристиками диастолической функции и постнагрузки левого желудочка.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, сохраненная фракция выброса, неокклюзирующий коронарный атеросклероз, вариабельность ритма сердца, биомаркеры

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

✉ Копьева Кристина Васильевна, kristin-kop@inbox.ru

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20019 «Изучение роли гуморальных маркеров и вегетативной регуляции сердечной деятельности в патогенезе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка» (<https://rscf.ru/project/22-25-20019/>) и средств Администрации Томской области.

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

Для цитирования: Гракова Е.В., Копьева К.В., Гусакова А.М., Сморгон А.В., Ахмедов Ш.Д., Калюжин В.В., Тепляков А.Т. Сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса левого желудочка при неокклюзирующем коронарном атеросклерозе: клиническая полезность оценки вариабельности сердечного ритма. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):28–38. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-28-38>.

Heart failure with preserved left ventricular ejection fraction in non-obstructive coronary artery disease: clinical utility of heart rate variability

Grakova E.V.¹, Kopeva K.V.¹, Gusakova A.M.¹, Smorgon A.V.¹, Akhmedov Sh.D.¹, Kalyuzhin V.V.², Teplyakov A.T.¹

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

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

ABSTRACT

Aim. To evaluate the role of heart rate variability in the pathogenesis of chronic heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) in patients with non-obstructive coronary artery disease (CAD).

Materials and methods. The cross-sectional study included 65 patients (55.4% were males) with non-obstructive CAD. Non-obstructive CAD (stenosis < 50%) was confirmed by coronary computed tomography angiography. Heart rate variability (HRV) was evaluated by 24-hour Holter monitoring; parameters of time series and spectral analysis were analyzed.

Results. Depending on the presence of HFpEF, the patients were divided into 2 groups: group 1 ($n = 48$) included patients with HFpEF, and group 2 ($n = 17$) encompassed patients without it. In patients with HFpEF, a statistically significant decrease in the total HRV and parasympathetic effects on the heart rate, mainly at night, as well as increased activity of cerebral ergotropic systems were revealed. In group 1, the values of the time series analysis of HRV and QT dispersion based on the study of RR interval duration (SDANN and SDNNidx) had a significant direct relationship with the level of myocardial stress in diastole, the value of vascular resistance, and the E / e' ratio. The cut-off values of SDNNidx and pNN50 were identified, that may be used as markers for early diagnosis of HFpEF.

Conclusion. In patients with non-obstructive CAD and HFpEF, it is advisable to perform 24-hour Holter monitoring and assess HRV parameters by the time series analysis, which, compared with the spectral analysis, has a closer relationship with the characteristics of left ventricular diastolic function and afterload.

Keywords: heart failure, preserved ejection fraction, non-obstructive coronary artery disease, heart rate variability, biomarkers

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-25-20019 “Studying the role of humoral markers and autonomic regulation of the cardiac system in the pathogenesis of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction” (<https://rscf.ru/project/22-25-20019/>) and the Administration of the Tomsk Region.

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 Cardiology Research Institute of Tomsk NRMC (Protocol No. 177 of 30.10.2018).

For citation: Grakova E.V., Kopeva K.V., Gusakova A.M., Smorgon A.V., Akhmedov Sh.D., Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T. Heart failure with preserved left ventricular ejection fraction in non-obstructive coronary artery disease: clinical utility of heart rate variability. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):28–38. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-28-38>.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие получено множество данных, указывающих на большое разнообразие этиологических факторов и описывающих особенности их влияния на патогенез синдрома сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ). У одного и того же пациента часто сосуществуют несколько механизмов, инициирующих симптоматическую хроническую сердечную недостаточность (ХСН), но степень активации каждого из них у пациентов с СНсФВ может сильно различаться [1, 2].

Известно, что дисбаланс вегетативной нервной системы является одним из возможных механизмов развития ХСН и ее декомпенсации [3–5]. В частности, результаты когортного исследования Women’s Health Initiative, в которое вошло 28 603 женщины в постменопаузе (средний возрасте 62,6 года) без ишемической болезни сердца (ИБС) и ХСН, продемонстрировали, что низкая общая вариабельность ритма сердца (ВРС) связана с повышенным риском госпитализации по причине СНсФВ (отношение шансов 1,22; 95%-й доверительный интервал 1,02–1,47) [5].

Ряд исследователей обнаружили взаимосвязь между ВРС и экспрессией маркеров воспалительного профиля и коагулянтного ответа у пациентов с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений, в том числе у больных с ХСН и с острым коронарным синдромом [6–9]. В частности, установлено, что активация холинергического противовоспалительного пути, при котором происходит эфферентное ингибирование высвобождения провоспалительных цитокинов блуждающим нервом, приводит к уменьшению содержания белков системного воспаления [10], а неинвазивная стимуляция блуждающего нерва через активацию никотинового ацетилхолинового рецеп-

тора $\alpha 7$ способна обеспечить противовоспалительные, антиоксидантные и антиапоптотические эффекты [11].

Имеются единичные исследования, в которых установлена взаимосвязь изменений ВРС с развитием ИБС и ХСН, а также с увеличением смертности от всех причин [3, 9, 12]. Анализ ВРС у пациентов с ИБС показал, что вегетативная дисрегуляция связана с многососудистым поражением коронарного русла, наличием окклюзий венечных артерий и поражением левой коронарной артерии, а также играет важную роль как инструмент скрининга групп высокого риска [13]. Установлено, что депрессия ВРС у больных ИБС связана с возрастом, поздним постинфарктным ремоделированием сердца, развитием систолической и диастолической дисфункции левого желудочка, а также клинической выраженностью сердечной недостаточности [14] и играет роль в развитии электрической нестабильности сердца [15]. Вместе с тем работ, посвященных оценке ВРС у больных СНсФВ на фоне неокклюзирующего коронарного атеросклероза, в доступной научной литературе нам обнаружить не удалось.

Цель работы – оценить роль вегетативной дисрегуляции ритма сердца в патогенезе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) у больных с неструктурным поражением коронарных артерий (КА).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с положением Хельсинкской декларации и одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 177 от 30.10.2018). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование включено 48 пациентов (60,4% мужчин) в возрасте 61,5 (55; 60) года с впервые диагностированной СНсФВ на фоне неструктур-

ного поражения коронарного русла (1-я группа). Контрольную группу составили больные без симптомов и признаков ХСН сопоставимого возраста (2-я группа).

Критерии включения: необструктивный (менее 50%) атеросклероз коронарных артерий; диастолическая дисфункция левого желудочка/повышенное давление наполнения левого желудочка (ЛЖ) и сохраненная фракция выброса (ФВ) ЛЖ; уровень N-терминального промозгового натрий-уретического пептида (NT-proBNP) $\geq \leq 125$ пг/мл; подписанное информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: перенесенный инфаркт миокарда в анамнезе; планируемая коронарная реваскуляризация или реваскуляризация в анамнезе; высокая систолическая или диастолическая артериальная гипертензия (более 180 или более 110 мм рт. ст. соответственно); систолическая артериальная гипотензия менее 80 мм рт. ст.; атриовентрикулярная блокада II–III степени, синдром слабости синусового узла; высокая эктопическая активность предсердий и (или) желудочков (более 10 экстрасистол/ч); гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатии; поражения клапанного аппарата сердца (недостаточность митрального, трикуспидального или аортального клапанов ≥ 2 -й степени); тромбоэмболия легочной артерии в анамнезе с высокой легочной гипертензией (систолическое давление в легочной артерии ≥ 45 мм рт. ст.); хроническая форма фибрилляции предсердий; тяжелое течение бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких; патология щитовидной железы, выраженная почечная (скорость клубочковой фильтрации по формуле CKD-EPI менее 30 мл/мин/м²) и печеночная недостаточность; воспалительные заболевания миокарда и перикарда; уровень гемоглобина менее 100 г/л.

На момент включения в исследование пациенты не получали оптимальную медикаментозную терапию, учитывая то факт, что диагноз ХСН был установлен впервые. Частота назначения β -блокаторов колебалась в пределах 17,6–19,4%, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) – 11,8–19,4%, блокаторов АТ₁ рецепторов к ангиотензину II – 17,6–29,4%, статинов – 35,3–41,2% и диуретиков – 5,9–29,4%. За сутки до проведения суточного мониторирования (СМ) электрокардиограммы (ЭКГ) у тех пациентов, которые получали β -блокаторы, их отменяли.

Определение содержания растворимой формы белка ST2 (sST2) и NT-proBNP в сыворотке крови в условиях *in vitro* проводили методом иммунофер-

ментного анализа (ELISA). Фотометрическую детекцию прохождения иммунохимической реакции выполняли на микропланшетном ридере Infinite F50 (Tecan, Австралия). Забор крови осуществляли утром натощак после 16-часового голодания в вакутайнеры из вены локтевого сгиба. Были использованы наборы фирм Critical Diagnostics Presage® ST2 Assay (США) и Biomedica (Канада).

Эхокардиографию (ЭхоКГ) выполняли всем пациентам по стандартному протоколу на аппарате EPIQ (Philips Ultrasound, Inc., США). Структуры сердца визуализировали при В- и М-сканировании по общепринятой методике. Обязательным критерием диагностики СНсФВ было значение ФВ ЛЖ $\geq 50\%$. Все исследования проводились одним высококвалифицированным специалистом. Оценка диастолической функции ЛЖ основывалась на четырех показателях: ранняя диастолическая скорость движения боковой части фиброзного кольца митрального клапана (lateral e'), среднее отношение ранней диастолической скорости трансмитрального потока к средней ранней диастолической скорости движения митрального кольца (E/e'), индексированный объем левого предсердия и пиковая скорость трикуспидальной регургитации. Диастолическая дисфункция ЛЖ диагностировалась, если значения по меньшей мере трех из четырех обсуждаемых показателей выходили за пределы референтного диапазона. Систолическая глобальная продольная деформация ЛЖ (GLS) оценивалась с помощью 2D-speckle tracking. Часть показателей рассчитывали по формулам:

– конечная систолическая эластичность ЛЖ (E_s) = КСД/КСО, где КСД – конечное систолическое давление в ЛЖ, КСО – конечный систолический объем ЛЖ;

– сердечно-сосудистое сопротивление (E_a) = КСД/УО, где УО – ударный объем;

– миокардиальный стресс (МС) ЛЖ в систолу = САД $\times$ КСР/ТЗС ЛЖ в систолу $\times$ (1 + (ТЗС ЛЖ в систолу/КСР)), где САД – систолическое артериальное давление, КСР – конечный систолический размер ЛЖ, ТЗС – толщина задней стенки;

– МС ЛЖ в диастолу = ДАД $\times$ КДР/ТЗС ЛЖ в диастолу $\times$ (1 + (ТЗС ЛЖ в диастолу/КДР)), где ДАД – диастолическое артериальное давление, КДР – конечный диастолический размер ЛЖ, ТЗС – толщина задней стенки.

МС ЛЖ является показателем, характеризующим силу натяжения волокон миокарда на единицу поперечного сечения стенки ЛЖ, и количественно отражает величины пред- и постнагрузки ЛЖ. В конце диастолы он выражает преднагрузку, в конце систолы – постнагрузку (дин/см²).

Вариабельность ритма сердца оценивалась посредством СМ ЭКГ. Не менее чем за 12 ч до и в ходе СМ ЭКГ испытуемым запрещалось пить кофе, чай, колу и курить. Во время записи ЭКГ разрешалась нормальная повседневная деятельность. Проанализированы параметры количественной оценки ВРС: SDNN – стандартное отклонение от среднего значения продолжительности всех интервалов R-R синусового ритма (NN-интервалы); SDANN – стандартное отклонение величин усредненных NN-интервалов, зарегистрированных за все 5-минутные фрагменты, на которые поделен период СМ; SDNNidx – среднее значение стандартных отклонений NN-интервалов, вычисленных по 5-минутным промежуткам за весь период записи; RMSSD – квадратный корень из средней суммы квадратов разностей между соседними NN-интервалами; NN50 (100, 200) – количество пар соседних NN-интервалов, различающихся более чем на 50 (100, 200) мс; pNN50 (100, 200)% – значение NN50 (100, 200), деленное на общее число NN интервалов анализируемого периода СМ.

При этом параметры временного анализа ВРС интерпретировали следующим образом: показатели, полученные при обработке прямых измерений R-R интервалов (в частности, SDNN, SDANN, SDNNidx), в целом отражают степень эфферентных симпатических влияний на сердце (при нарастании симпатической эфферентации наблюдается снижение значений показателей), тогда как вычисленные на основе разницы между R-R интервалами (например, RMSSD, NN50, pNN50) – напряжение парасимпатической нервной системы (при усилении эфферентной активности *nervus vagus* наблюдается повышение значений показателей). С помощью спектрального анализа оценивали мощность спектра в диапазоне очень низких ($\leq 0,04$ Гц) частот (VLF – индикатор, значение которого связывают с активностью церебральных эрготропных систем и ренин-ангиотензиновой системы), в диапазоне низких (0,04–0,15 Гц) частот (LF – маркер симпатической модуляции) и в диапазоне высоких (0,15–0,4 Гц) частот (HF – маркер активности парасимпатического отдела автономной нервной системы), а также определяли отношение LF/HF (так называемый индекс вагосимпатического взаимодействия).

Всем пациентам была выполнена коронарная компьютерная томографическая ангиография. Для сканирования с контрастным усилением 70–90 мл неионогенного контрастного вещества (йопамидол 370 мг, Bracco Diagnostics, Италия) вводили внутривенно через кубитальный катетер 18G со скоростью потока 5–5,5 мл/с.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Характер распределения признаков оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Однородность генеральных дисперсий оценивали с помощью теста Левена. Количественные данные представляли в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Для проверки статистических гипотез при сравнении двух независимых групп использовали U -критерий Манна – Уитни. Для поиска взаимосвязей между переменными применяли корреляционный анализ с расчетом коэффициентов корреляции Спирмена. При анализе качественных признаков проводили анализ таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера, когда математическое ожидание значений в любой из ячеек таблицы с заданными границами оказывалось ниже 10. Для оценки чувствительности и специфичности моделей, подбора порога отсека использовали ROC-анализ с построением характеристических кривых и расчетом площади под кривой – AUC (area under ROC curve). Значимым считали значение AUC, превышающее 0,70. Критический уровень значимости p для всех используемых процедур статистического анализа равен 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На момент включения в исследование по большинству клинико-демографических характеристик группы были сопоставимы (табл. 1). Пациенты 1-й группы чаще курили и имели нарушение обмена углеводов, при этом по уровню гликированного гемоглобина статистически значимые различия отсутствовали.

У пациентов с неокклюзирующим коронарным атеросклерозом и СНсФВ, по сравнению с пациентами группы контроля, отмечены ранние признаки депрессии сократимости ЛЖ, ассоциированные с изменением характеристик пред- и постнагрузки (табл. 2), в частности нарушение механики движения ЛЖ (снижение глобальной деформации ЛЖ в продольном направлении: $-14,4\%$ ($-13,1; -17,6$) vs $-18,9\%$ ($-14,4; -21,4$), $p = 0,003$), повышение миокардиального стресса в диастолу, отражающего истинную гемодинамическую нагрузку на сердечную мышцу ($157,48$ ($142,06; 164,70$) дин/см² vs $142,15$ ($133,31; 149,97$) дин/см², $p = 0,028$) и сердечно-сосудистого сопротивления ($0,60$ ($0,55; 0,92$) мм рт. ст./мл vs $0,56$ ($0,53; 0,61$) мм рт. ст./мл, $p = 0,021$) на фоне уменьшения показателя конечной систолической эластичности ($2,30$ ($1,64; 3,0$) мм рт. ст./мл vs $0,56$ ($2,75; 3,16$) мм рт. ст./мл, $p = 0,018$).

Таблица 1

Исходная клинико-демографическая характеристика			
Показатель	1-я группа, $n = 48$, (+) СНсФВ	2-я группа, $n = 17$, (–) СНсФВ	p
Возраст, годы, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	61,5 (55; 66)	62 (58; 63)	0,124
Мужчины, n (%)	29 (60,4)	7 (41,2)	0,059
ИМТ, кг/м ² , $Me (Q_{25}; Q_{75})$	29,7 (27,6; 32,0)	30,8 (28,35; 33,95)	0,254
Гипертоническая болезнь, n (%)	39 (81,2)	13 (76,5)	0,161
СД 2-го типа, n (%)	11 (22,9)	2 (11,8)	0,013
HbA1c, %, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	6,3 (5,8; 7,5)	6,1 (6,0; 7,6)	0,068
ХОБЛ, n (%)	5 (10,4)	1 (5,9)	0,718
Курение, n (%)	15 (31,25)	3 (17,6)	0,011
СКФ, мл/мин/1,73 м ² , $Me (Q_{25}; Q_{75})$	82,8 (67,3; 82,7)	85 (71; 89)	0,476
Общий холестерол, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	4,98 (3,67; 5,25)	5,09 (3,76; 6,5)	0,532
ХС-ЛПНП, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	3,13 (2,15; 3,51)	2,33 (1,24; 3,37)	0,856
ХС-ЛПВП, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	1,07 (0,85; 1,31)	1,52 (1,25; 1,79)	0,889
Триацилглицеролы, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	1,78 (1,23; 1,97)	1,26 (1,17; 1,36)	0,870
Гемоглобин, г/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	134 (121; 143)	145 (140; 157)	0,464
Калий, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	4,67 (4,12; 5,01)	4,47 (4,43; 5,01)	0,517
Фибриноген, г/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	3,27 (3,14; 3,14)	3,16 (2,86; 3,36)	0,767
NT-proBNP, пг/мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	404,2 (249,5; 1533,4)	58 (43,65; 74,35)	0,004
sST2, нг/мл, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	29,18 (23,17; 31,09)	19,42 (18,24; 22,29)	0,012

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; СД – сахарный диабет; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ХС-ЛПНП – холестерол липопротеинов низкой плотности; ХС-ЛПВП – холестерол липопротеинов высокой плотности; HbA1c – гликированный гемоглобин; NT-proBNP – N-терминальный промозговой натрийуретический пептид; sST2 – растворимая формы белка ST2.

Таблица 2

Результаты эхокардиографии у пациентов 1-й и 2-й групп, $Me (Q_{25}; Q_{75})$			
Показатель	1-я группа, $n = 48$, (+) СНсФВ	2-я группа, $n = 17$, (–) СНсФВ	p
ФВ ЛЖ, %	62 (58,5; 65)	65 (64; 66)	0,392
ЛП, мм	42 (39; 46)	40 (38; 43)	0,734
КДО ЛЖ, мл	111 (100; 125)	108 (97,5; 116)	0,306
КСО ЛЖ, мл	37,5 (32; 43)	34,5 (33,5; 39,5)	0,205
МЖП, мм	10,5 (10,5; 11,1)	9,75 (9,0; 10)	0,065
ЗС ЛЖ, мм	10 (9; 10)	9,5 (9,0; 10,0)	0,329
Пик Е, см/с	77 (69; 94)	63 (56; 72)	0,032
Пик А, см/с	65 (63; 88)	69 (66; 76,5)	0,053
Е/А, отн. ед.	1,29 (1; 1,36)	0,9 (0,74; 1,0)	0,024
Е/е', отн. ед.	13,5 (13; 13,6)	12 (11; 13)	0,019
LAVI, мл/м ²	2,8 (2,78; 2,87)	2,6 (2,3; 2,76)	0,021
ИММ ЛЖ, г/м ²	87 (80; 97)	82 (75,5; 86,5)	0,283
МС в диастолу, дин/см ²	157,48 (142,06; 164,70)	142,15 (133,31; 149,97)	0,028
Еа, мм рт. ст./мл	0,60 (0,55; 0,92)	0,56 (0,53; 0,61)	0,021
Еs, мм рт. ст./мл	2,30 (1,64; 3,0)	2,75 (2,55; 3,16)	0,018

Примечание. LAVI – индексированный объем левого предсердия; ЛЖ – левый желудочек; ЗС – задняя стенка, ИММ – индекс массы миокарда; КДО – конечный диастолический объем; КДО – конечный систолический объем; ЛП – левое предсердие; МЖП – межжелудочковая перегородка; Пик Е – максимальная скорость раннего диастолического потока; Пик А – максимальная скорость потока, обусловленная систолой предсердий; Е/А – отношение максимальной скорости раннего диастолического потока (Е) к потоку, обусловленному систолой предсердий (А); Е/е' – отношение ранней диастолической скорости трансмитрального кровотока и ранней диастолической скорости движения латеральной части митрального кольца; Еа – сердечно-сосудистое сопротивление; Еs – конечная систолическая эластичность ЛЖ.

При анализе результатов исследования ВРС выявлено, что у пациентов с СНсФВ, по сравнению с лицами без ХСН, имеет место нарушение состояния кардиоинотропной регуляции на протяжении всего периода СМ, проявившееся снижением ($p < 0,01$) значений временных параметров: SDNNidx (ночь) на

29,9% (47 (44; 65) и 67 (52; 208) мс соответственно) и SDNNidx (сут) на 14,3% (56 (52; 71) и 64 (55; 183) мс соответственно), а также снижение значений большинства показателей, характеризующих активность парасимпатического звена автономной нервной системы ($p < 0,01$) преимущественно в ночное

время – RMSSD на 73,9% (23 (12; 31) и 40 (32; 328) мс соответственно), NN50, NN100, NN200 – в 5–8 раз, pNN50 (100, 200)% – в 2,5–6 раз.

У пациентов с СНсФВ в сравнении с пациентами без ХСН выявлено значимое изменение частотных характеристик ВРС, свидетельствующее о росте влияния церебральных эрготропных структур при одновременном угнетении активности парасимпатического отдела автономной нервной системы: увеличение VLF ($p = 0,004$) и снижение HF ($p = 0,016$). В

таблице 3 представлены параметры ВРС, по которым выявлены статистически значимые различия, остальные показатели между группами не различались.

В итоге ROC-анализа уровни таких показателей дисперсии ритма сердца, как SDNNidx ≤ 49 мс (AUS = 0,768; $p = 0,012$) и pNN50 ≤ 5 мс (AUS = 0,777; $p = 0,007$), были определены как пороговые значения, которые у пациентов с необструктивным поражением КА связаны с наличием СНсФВ (рисунок).

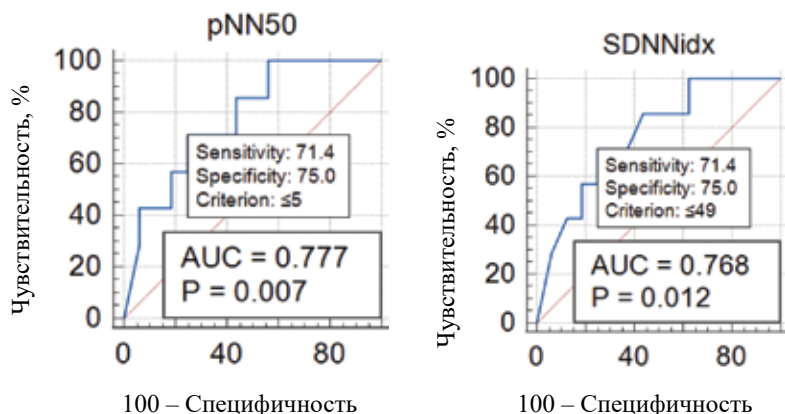


Рисунок. Пороговые значения SDNNidx (сут) и pNN50 (ночь) для оптимальной бинарной классификации пациентов с неокклюзирующим коронарным атеросклерозом в зависимости от наличия или отсутствия СНсФВ (ROC-анализ): ось ординат – чувствительность (%), ось абсцисс – 100 минус специфичность (%). В прямоугольниках представлены оценки чувствительности (Sensitivity) и специфичности (Specificity) для соответствующего порога решающего правила (Criterion), а также значения площади под кривой (AUC) вместе с оценками уровня значимости (p)

Таблица 3

Показатели ВРС у пациентов 1-й и 2-й групп, Me (Q_{25} ; Q_{75})			
Показатель	1-я группа, $n = 48$, (+) СНсФВ	2-я группа, $n = 17$, (–) СНсФВ	p
Сред NN день, мс	978 (897; 993)	835 (732; 959)	0,003
SDNNidx ночь, мс	47 (44; 65)	67 (52; 208)	0,003
SDNNidx сут, мс	56 (52; 71)	64 (55; 183)	0,039
RMSSD ночь, мс	23 (12; 31)	40 (32; 328)	0,001
NN50 ночь, n (%)	494 (352; 1671)	2681 (627; 18 518)	0,002
pNN50 ночь, %	2,8 (1,2; 9,50)	13,9 (5,1; 61,5)	0,002
NN100 ночь, n (%)	47 (24; 164)	368 (135; 8 485)	0,001
pNN100 ночь, %	0,2 (0; 0,9)	1,4 (0,5; 33,5)	0,001
NN200 ночь, n (%)	28 (9; 34,00)	191 (31; 2 037)	0,003
NN200 сут, n (%)	289 (43; 534)	400 (141; 12 571)	0,029
pNN200 день, %	0,4 (0; 0,9)	1 (0,2; 16,1)	0,010
pNN200 ночь, %	0,1 (0; 0,1)	0,6 (0,2; 31,4)	0,001
pNN200 сут, %	0,3 (0,1; 0,9)	0,9 (0,2; 21,3)	0,016
VLF, mc^2	2570 (1992; 3016)	2 341 (1 634; 2 731)	0,004
HF, mc^2	347 (214; 509)	514 (371; 627)	0,016

Примечание. Сред NN – среднее значение продолжительности всех интервалов R-R синусового ритма (NN-интервалов); SDNNidx – среднее значение стандартных отклонений NN-интервалов, вычисленных по 5-минутным промежуткам в указанный период записи; RMSSD – квадратный корень из средней суммы квадратов разностей между соседними NN-интервалами; NN50 (100, 200) – количество пар соседних NN-интервалов, различающихся более чем на 50 (100, 200) мс; pNN50 (100, 200)% – значение NN50 (100, 200), деленное на общее число NN-интервалов анализируемого периода мониторинга; VLF – мощность спектра в диапазоне очень низких ($\leq 0,04$ Гц) частот; HF – мощность спектра в диапазоне высоких (0,15–0,4 Гц) частот.

Результаты корреляционного анализа продемонстрировали взаимосвязь между дисперсией ритма сердца, изучаемой по показателям временного домена (в частности, SDANN), и уровнем в сыворотке крови sST2 ($r = 0,354$; $p = 0,018$), но не «классическо-

го биомаркера» ХСН – NT-proBNP. Также впервые установлено, что значение SDANN коррелировало с миокардиальным стрессом в диастолу ($r = 0,35$; $p = 0,006$), а SDNNidx – с сердечно-сосудистым сопротивлением ($r = 0,301$; $r = 0,045$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что вегетативная дисрегуляция является одним из механизмов развития ХСН со сниженной ФВ ЛЖ и характеризуется устойчивым усилением симпатического возбуждения и снижением парасимпатической активности [4, 16]. Результаты анализа показателей турбулентности и дисперсии (в частности, SDNN) ритма сердца позволяют идентифицировать среди пациентов с СНсФВ лиц, подверженных наибольшему риску неблагоприятных исходов [17]. Вариабельность ритма сердца также нарушается при симптоматической ИБС, особенно после инфаркта миокарда, и обратно связана с прогрессированием коронарного атеросклероза [12, 18, 19]. В частности, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями без признаков ишемии миокарда установлена обратная ассоциация ($p < 0,05$) между наличием неокклюзирующих (менее 50%) стенозов одной или нескольких КА, с одной стороны, и значением рNN50 (для передней межжелудочковой ветви и правой коронарной артерии – $r = -0,387$ и $r = -0,365$ соответственно, а для передней межжелудочковой ветви еще и с RMSSD – $r = -0,404$), а также мощностью в диапазоне высоких частот ($r = -0,393$; $p < 0,05$) – с другой.

Это позволило авторам сделать вывод о том, что тяжесть и степень коронарного атеросклероза связаны со сдвигом вегетативной регуляции сердца в сторону симпатического преобладания [18]. Опубликованы также данные, свидетельствующие о том, что показатели ВРС связаны с тяжестью окклюзии, многососудистым поражением и поражением левой КА [19]. В то же время, по данным других авторов [20], после внесения поправки на возраст, пол, индекс массы тела и частоту сердечных сокращений статистически значимые различия между пациентами с ИБС и с неизмененными КА по ряду логарифмированных показателей ВРС (рNN10%, рNN20%, LF и HF) исчезали.

В нашем исследовании обнаружено, что у пациентов с СНсФВ на фоне неокклюзирующего коронарного атеросклероза имеет место подавление активности большинства показателей парасимпатического звена вегетативной регуляции ($p < 0,01$) преимущественно в ночное время, а также значимое изменение частотных характеристик ВРС на протяжении всего 24-часового периода мониторинга, свидетельствующее о примате симпатических влияний на сердце над парасимпатическими. Это подтверждается данными и других исследователей [12, 16, 17]. О первичности подавления парасимпатической активности в механизме снижения ВРС при сердечно-сосудистых заболеваниях и последующем компенсаторным доминированием симпатического

отдела вегетативной нервной системы свидетельствуют и результаты метаанализа когортных исследований, проведенных S.C. Fang и соавт. [12].

Патофизиология симпатовагального дисбаланса при сердечно-сосудистых заболеваниях может быть связана с влиянием факторов риска, включая ожирение, сахарный диабет и ИБС [4, 12, 21, 22]. В нашем исследовании у пациентов 1-й группы чаще выявлялся сахарный диабет, что, по данным ряда исследователей [4, 12, 22], также могло вносить определенный вклад в развитие и прогрессирование вегетативной дисфункции. Однако учитывая непродолжительный стаж заболевания, отсутствие значимых различий в уровне гликемического контроля по данным оценки HbA1c и небольшой размер выборки, вклад данного фактора риска в механизм развития, а также прогноз СНсФВ станет предметом дальнейших исследований.

Лидирующий механизм того, как ИБС приводит к нарушению вегетативной регуляции сердца, до настоящего времени неизвестен. Большинство исследователей склоняются к мнению, что баланс между краткосрочными и долгосрочными компонентами ВРС даже у бессимптомных субъектов без признаков ишемии миокарда при прогрессировании коронарного атеросклероза изменяется в сторону парасимпатической абстиненции с приматом симпатической регуляции [4, 9, 12, 17, 18, 23]. Это подтверждает гипотезу о том, что коронарный атеросклероз является одной из детерминант ВРС [20]. Высказывается гипотеза о том, что причиной данных изменений у пациентов с типичным сердечно-болевым синдромом и отсутствием атеросклеротического поражения коронарного русла может быть и дисфункция микроциркуляции миокарда [20, 22], которая, в свою очередь, обладает триггерным потенциалом в отношении изменения метаболизма миокарда, активации нейрогуморальной системы и развития СНсФВ [24]. В свою очередь, не следует забывать, что регуляция контроля функции микроциркуляторного русла значительно различается в разных тканях в зависимости от их функции и потребностей в питании. В частности, доказано, что, например, микрососуды сетчатки не имеют симпатической иннервации, а вариабельность заполнения микроциркуляторного русла миокарда функционально напрямую связана с ВРС [25].

На фоне неокклюзирующего коронарного атеросклероза СНсФВ «запускается» фактически за счет прогрессирующего нарушения эндотелиальной функции, влияющей на снижение коронарного и миокардиального резервов, инициацию диастолической дисфункции, гиперпродукцию гуморальных факторов, приводящих к периваскулярному фиброзу и апоптозу кардиомиоцитов [26]. Однако нейрогор-

мональная активация, проявляющаяся гиперэкспрессией провоспалительных цитокинов (интерлейкин-6, фактор некроза опухоли α и С-реактивный белок) [1, 8, 27], нарушением регуляции тонуса сосудистой стенки на фоне снижения выработки оксида азота и избыточной активности биомаркеров (ренин, альдостерон, норадреналин), по данным D. Aronson и соавт. [6], приводит к депрессии ВРС. Авторы показали, что некоторые показатели ВРС во временной области были обратно взаимосвязаны с уровнем эндотелина-1 (SDNN, $r = -0,38$; $p = 0,002$; SDANN5, $r = -0,48$; $p < 0,0001$), при этом гиперэкспрессия эндотелина-1 ассоциировалась и с некоторыми частотными показателями ВРС – с полной мощностью ($r = -0,32$; $p = 0,01$) и мощностью сверхнизких частот ($r = -0,43$; $p = 0,0004$), но не с индексами парасимпатической (HF) или симпатовагальной (LF) модуляции. По результатам корреляционного анализа данных, полученных в нашем исследовании, выявлены ассоциации не только между показателями суммарной ВРС и уровнем sST2 ($r = 0,354$; $p = 0,018$), но и традиционного биомаркера ХСН – NT-proBNP. В исследовании CATSTAT-HF, независимо от уровня NT-proBNP, sST2 был точным предиктором внутрибольничной смерти и декомпенсации сердечной недостаточности у 90 пациентов с ХСН ишемической и неишемической (ФВ ЛЖ $43,4 \pm 16,4\%$) этиологии [9].

Ранее мы показали, что у больных СНсФВ, соответствующей I–II и III функциональным классам по NYHA, уровень sST2 превышал показатель группы контроля на 28,8 и 46,3% соответственно [26]. Учитывая тот факт, что явных различий по ангиографическим характеристикам не было получено, логично предположить, что экспрессия одного из изученных на данном этапе биомаркеров, приближающаяся к верхней границе «нормы», патогенетически связана с инициацией эндотелиальной дисфункции и, возможно, развитием периваскулярного фиброза, чему имеются единичные подтверждения в исследованиях других ученых.

По мнению В. Arshi и соавт. [4], роль симпатической нервной системы в развитии или прогрессировании диастолической дисфункции ЛЖ и впервые возникшей сердечной недостаточности широко не изучалась, что подчеркивает необходимость получения новых знаний о патофизиологии вегетативной регуляции у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, приводящими к развитию СНсФВ. У пациентов СНсФВ на фоне неокклюзирующего атеросклероза КА мы обнаружили увеличение ранней скорости трансмитрального потока (Е) и существенное повышение значения показателя, характеризующего давление наполнения ЛЖ (Е/е'), что связываем

с повышением активности симпатического отдела автономной нервной системы. При этом у пациентов 1-й группы значения показателей временного анализа дисперсии ритма сердца, основанных на исследовании продолжительности интервалов R-R ЭКГ (SDANN и SDNNidx), имели прямую статистически значимую связь с уровнем миокардиального стресса в диастолу, величиной сердечно-сосудистого сопротивления, а также соотношения скорости трансмитрального кровотока в раннюю фазу диастолы и скорости раннего диастолического смещения боковой части фиброзного кольца митрального клапана.

Сопоставление этих результатов с данными других авторов оказалось затруднительным, поскольку они в научной литературе представлены в единичных исследованиях. В частности, А.-М. Vintila и соавт. [28] ссылаются на результаты ретроспективного исследования А. Jian и соавт. (2019), в котором было установлено, что из всех проанализированных показателей ВРС только SDANNi связан с дилатацией левого предсердия. В исследовании А. Tanindi и соавт. (2012) показано, что у больных с СНсФВ, по сравнению со здоровыми добровольцами, выявлялись более низкие значения ВРС, а депрессия ВРС была напрямую связана с прогрессированием диастолической дисфункции ЛЖ. Наконец, анализ результатов обследования пациентов, ретроспективно включенных в популяционное Роттердамское исследование, позволил установить значительные ассоциации показателей ВРС (RMSSD и SDNN с поправкой на частоту сердечных сокращений) с параметрами трансмитрального потока и тканевой доплерографии в диастолу, а также диаметром левого предсердия [4].

Наличие таких ассоциаций между показателями вегетативной регуляции ритма сердца, диастолической дисфункции и содержанием гуморального биомаркера, не связанного напрямую с гемодинамической перегрузкой, но влияющего на развитие и прогрессирование гипертрофии сердца, миокардиального фиброза и дисфункции миокарда, как нам представляется, является отражением компенсаторно-негативной активации нейрогормональных путей, «запускающих» развитие и прогрессирование СНсФВ. Эти данные позволяют предполагать, что комплексная оценка параметров ВРС, содержания sST2, миокардиального стресса в диастолу и сердечно-сосудистого сопротивления может быть полезной для ранней диагностики СНсФВ.

Не вызывает сомнений, что интерпретация и корректное сравнение результатов исследования ВРС в определенных группах больных с учетом нередко разной продолжительности записи ЭКГ, гендерных и фенотипических (значение ФВ ЛЖ) различий мо-

гут быть непростыми, что делает востребованным продолжение исследований в данном направлении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с необструктивным поражением КА и СНсФВ при выполнении суточного мониторирования ЭКГ целесообразна оценка параметров дисперсии ритма сердца, анализируемых временными методами, которые по сравнению с показателями спектрального анализа имеют более тесную связь с характеристиками диастолической функции и постнагрузки ЛЖ. Определены пороговые значения SDNNidx (≤ 49 мс; $AUS = 0,768$; $p = 0,012$) и pNN50 (≤ 5 мс; $AUS = 0,777$; $p = 0,007$), которые у таких пациентов могут использоваться в качестве маркера для ранней диагностики СНсФВ.

Ограничением настоящего исследования явились: 1) небольшой объем выборки пациентов; в этой связи на данном этапе исследования мы не проводили анализ ВРС в подгруппах больных, сформированных в зависимости от тяжести СНсФВ и наличия/отсутствия сахарного диабета; 2) отсутствие оценки прогностического значения депрессии ВРС (оценка клинических исходов и прогностического значения показателей дисперсии ритма сердца будет получена в выполняемом в настоящее время 12-месячном когортном исследовании).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Adamczak D.M., Oduah M.T., Kiebalo T., Nartowicz S., Bęben M., Pochylski M. et al. Heart Failure with Preserved Ejection Fraction—a Concise Review. *Curr. Cardiol. Rep.* 2020July9;22(9):82. DOI: 10.1007/s11886-020-01349-3.
- Bosanac J., Straus L., Novaković M., Košuta D., Božić Mijovski M., Tasić J. et al. HFpEF and atrial fibrillation: the enigmatic interplay of dysmetabolism, biomarkers, and vascular endothelial dysfunction. *Dis. Markers.* 2022Oct.25;2022:9539676. DOI: 10.1155/2022/9539676.
- Patel V.N., Pierce B.R., Bodapati R.K., Brown D.L., Ives D.G., Stein P.K. Association of Holter-Derived Heart Rate Variability Parameters With the Development of Congestive Heart Failure in the Cardiovascular Health Study. *JACC Heart Fail.* 2017;5(6):423–431. DOI: 10.1016/j.jchf.2016.12.015.
- Arshi B., Geurts S., Tilly M.J., van den Berg M., Kors J.A., Rizopoulos D. et al. Heart rate variability is associated with left ventricular systolic, diastolic function and incident heart failure in the general population. *BMC Med.* 2022Feb.21;20(1):91. DOI: 10.1186/s12916-022-02273-9.
- Baig M., Moafi-Madani M., Qureshi R., Roberts M.B., Allison M., Manson J.E. et al. Heart rate variability and the risk of heart failure and its subtypes in post-menopausal women: The Women's Health Initiative study. *PLoS One.* 2022Oct.25;17(10):e0276585. DOI: 10.1371/journal.pone.0276585.
- Aronson D., Mittleman M.A., Burger A.J. Role of endothelin in modulation of heart rate variability in patients with decompensated heart failure. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 2001Nov.;24(11):1607–1615. DOI: 10.1046/j.1460-9592.2001.01607.x.
- Lanza G.A., Sgueglia G.A., Cianflone D., Rebuzzi A.G., Angeloni G., Sestito A. et al. SPAI (Stratificazione Prognostica dell'Angina Instabile) Investigators. Relation of heart rate variability to serum levels of C-reactive protein in patients with unstable angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* 2006;97(12):1702–1706. DOI: 10.1016/j.amjcard.2006.01.029.
- Carney R.M., Freedland K.E. Depression and heart rate variability in patients with coronary heart disease. *Cleve. Clin. J. Med.* 2009;76Suppl.2(Suppl.2):S13–17. DOI: 10.3949/ccjm.76.s2.03.
- Borovac J.A., Glavas D., Susilovic Grabovac Z., Supe Domic D., Stanisic L., D'Amario D. et al. Circulating sST2 and catestatin levels in patients with acute worsening of heart failure: a report from the CATSTAT-HF study. *ESC Heart Fail.* 2020;7(5):2818–2828. DOI: 10.1002/ehf2.12882.
- Pavlov V.A., Tracey K.J. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Behav. Immun.* 2005;19(6):493–499. DOI: 10.1016/j.bbi.2005.03.015.
- Carandina A., Lazzeri G., Villa D., Di Fonzo A., Bonato S., Montano N. et al. Targeting the autonomic nervous system for risk stratification, outcome prediction and neuromodulation in ischemic stroke. *Int. J. Mol. Sci.* 2021Feb.26;22(5):2357. DOI: 10.3390/ijms22052357.
- Fang S.C., Wu Y.L., Tsai P.S. Heart Rate Variability and Risk of All-Cause Death and Cardiovascular Events in Patients With Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *Biol. Res. Nurs.* 2020;22(1):45–56. DOI: 10.1177/1099800419877442.
- Goessl V.C., Curtiss J.E., Hofmann S.G. The effect of heart rate variability biofeedback training on stress and anxiety: a meta-analysis. *Psychol. Med.* 2017;47(15):2578–2586. DOI: 10.1017/S0033291717001003.
- Калюжин В.В., Бардак А.Л., Тепляков А.Т., Камаев Д.Ю. Комплекс факторов, влияющих на дисперсию ритма сердца у больных, перенесших инфаркт миокарда. *Кардиология.* 2002;42(8):8–10.
- Лысенкова Н.О., Румянцев М.И., Кратнов А.Е. Роль вегетативной нервной системы в развитии фатальных нарушений ритма сердца у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Доктор.Ру.* 2016;11(128):33–35.
- Shaffer F., Ginsberg J.P. An overview of heart rate variability metrics and norms. *Front. Public Health.* 2017;5:258. DOI: 10.3389/fpubh.2017.00258.
- Ksela J., Rupert L., Djordjevic A., Antonic M., Avbelj V., Jug B. Altered heart rate turbulence and variability parameters predict 1-year mortality in heart failure with preserved ejection fraction. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2022;9(7):213. DOI: 10.3390/jcdd9070213.
- Simula S., Vanninen E., Lehto S., Hedman A., Pajunen P., Syväne M. et al. Heart rate variability associates with asymptomatic coronary atherosclerosis. *Clin. Auton. Res.* 2014;24(1):31–37. DOI: 10.1007/s10286-013-0220-z.
- Feng J., Wang A., Gao C., Zhang J., Chen Z., Hou L. et al. Altered heart rate variability depend on the characteristics of coronary lesions in stable angina pectoris. *Anatol. J. Cardiol.* 2015;15(6):496–501. DOI: 10.5152/akd.2014.5642.

20. Elhakeem R.F., Lutfi M.F., Ali A.B.M., Sukkar M.Y. Can short-term heart rate variability predict coronary artery disease in patients undergoing elective coronary angiography due to typical chest pain? *J. Clin. Transl. Res.* 2020;6(2):66–70.
21. Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю., Арчаков Е.А., Ахмедов Ш.Д., Будникова О.В., Баталов Р.Е. и др. Полиморфные варианты генов Ca(2+)-транспортирующих белков саркоплазматического ретикула в прогрессировании хронической сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал.* 2019;(10):48–52. DOI: 10.15829/1560-4071-2019-10-48-52.
22. Shah S.J., Lam C.S.P., Svedlund S., Saraste A., Hage C., Tan R.S. et al. Prevalence and correlates of coronary microvascular dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction: PROMIS-HFpEF. *Eur. Heart J.* 2018;39(37):3439–3450. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy531.
23. Mizobuchi A., Osawa K., Tanaka M., Yumoto A., Saito H., Fuke S. Detrended fluctuation analysis can detect the impairment of heart rate regulation in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *J. Cardiol.* 2021;77(1):72–78. DOI: 10.1016/j.jcc.2020.07.027.
24. Копьева К.В., Мальцева А.Н., Мочула А.В., Гракова Е.В., Завадовский К.В. Роль микроваскулярной дисфункции в патогенезе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса. *Казанский медицинский журнал.* 2022;103(6):918–927. DOI: 10.17816/KMJ109034.
25. Киселев А.Р., Гриднев В.И. Колебательные процессы в вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы (обзор). *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2011;7(1):34–39.
26. Гракова Е.В., Копьева К.В., Гусакова А.М., Сморгон А.В., Мальцева А.Н., Мочула А.В. и др. Роль гуморальных маркеров в патогенезе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка у больных с неокклюзирующим коронарным атеросклерозом. *Российский кардиологический журнал.* 2022;27(10):51–62. DOI: 10.15829/1560-4071-2022-5162.
27. Straburzyńska-Migaj E., Ochotny R., Wachowiak-Baszyńska A., Straburzyńska-Lupa A., Leśniewska K., Wiktorowicz K. et al. Cytokines and heart rate variability in patients with chronic heart failure. *Kardiolog. Pol.* 2005;63(5):478–485.
28. Vintila A.-M., Horumba M., Vintila V.D. Arterial hypertension and heart failure with preserved ejection fraction – associations between echocardiography and heart rate variability. *J. Hypertens. Res.* 2019;5(3):119–125.

Вклад авторов

Гракова Е.В. – разработка концепции и дизайна исследования, координация выполнения исследования, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Копьева К.В. – получение и интерпретация клинических данных и показателей ВРС, составление базы данных, статистическая обработка данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Гусакова А.М. – определение уровней биомаркеров в сыворотке крови, получение и интерпретация данных, составление базы данных, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Сморгон А.В. – проведение эхокардиографических исследований, получение и интерпретация данных, составление базы данных, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Ахмедов Ш.Д., Калюжин В.В. – анализ литературы, интерпретация данных, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Тепляков А.Т. – координация выполнения исследования, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи.

Информация об авторах

Гракова Елена Викторовна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, gev@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4019-3735>

Копьева Кристина Васильевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, kristin-kop@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2285-6438>

Гусакова Анна Михайловна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, anna@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3147-3025>

Сморгон Андрей Викторович – мл. науч. сотрудник, отделение ультразвуковой и функциональной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, sav@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6531-7223>

Ахмедов Шамиль Джаманович – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, отделение сердечно-сосудистой хирургии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, shamil@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2758-7107>

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, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Vgelen1970@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0721-0038>

(✉) Копьева Кристина Васильевна, kristin-kop@inbox.ru

Поступила в редакцию 11.02.2023;
одобрена после рецензирования 17.02.2023;
принята к публикации 27.02.2022

УДК 616.36-008.52-056.7:577.213

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-39-45>

Исследование молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера

Иванова А.А.¹, Гуражева А.А.¹, Мельникова Е.С.¹, Максимов В.Н.^{1,2}, Немцова Е.Г.³

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

² Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)

Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

³ Северо-Западный государственный медицинский университет (СЗГМУ) им. И.И. Мечникова

Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – поиск новых молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера (СЖ).

Материалы и методы. Дизайн исследования – «случай – контроль». Группа СЖ включает 125 человек (средний возраст $38,5 \pm 11,9$ лет, 58,9% мужчин) с неконъюгированной гипербилирубинемией, у которых исключены известные ее причины. Группа контроля ($n = 323$, средний возраст $48,9 \pm 11,9$ лет, 53,2% мужчины) – случайная выборка лиц из банка ДНК участников проектов HAPIEE, MONICA. ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции из венозной крови. Генотипирование групп по вариантам нуклеотидной последовательности rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, rs4124874 гена *UGT1A1* выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом на полиакриламидном геле по авторским протоколам.

Результаты. По однонуклеотидным вариантам rs34993780, rs56059937 не найдено носителей редкого аллеля в группе СЖ и контрольной группе. В группе лиц с СЖ найдены два носителя мутации rs4148323 в гетерозиготной форме. По частотам однонуклеотидного варианта rs4124874 найдены статистически значимые различия между группами: гомозиготный генотип GG статистически значимо чаще встречается в группе СЖ по сравнению с контрольной группой (отношение шансов 11,8; 95%-й доверительный интервал 6,9–20,3; $p < 0,001$).

Заключение. Генотип GG однонуклеотидного варианта rs4124874 гена *UGT1A1* ассоциирован с повышенным риском СЖ. В группе лиц с СЖ найдены носители редкой мутации rs4148323 в гетерозиготной форме.

Ключевые слова: синдром Жильбера, rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, rs4124874, ген *UGT1A1*, неконъюгированная гипербилирубинемия

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Новосибирской области в рамках ГЗ № 122031700094-5.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (протокол № 24 от 26.04.2022).

Для цитирования: Иванова А.А., Гуражева А.А., Мельникова Е.С., Максимов В.Н., Немцова Е.Г. Исследование молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):39–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-39-45>.

Study of molecular genetic markers of Gilbert's syndrome

Ivanova A.A.¹, Gurazheva A.A.¹, Mel'nikova E.S.¹, Nemcova E.G.³, Maksimov V.N.^{1,2}

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

² Novosibirsk State Medical University (NSMU)

52, Krasnyj Prospekt Str., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

41, Kirochnaya Str., Saint-Petersburg, 191015, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study new molecular genetic markers of Gilbert's syndrome (GS).

Materials and methods. It was a case – control study. The GS group included 125 people (mean age 38.5 ± 11.9 years, 58.9% were men) with unconjugated hyperbilirubinemia; known causes of unconjugated hyperbilirubinemia were excluded. The control group ($n = 323$, mean age 48.9 ± 11.9 years, 53.2% were men) was a random sample of individuals from the DNA bank of participants of the HAPIEE and MONICA projects. DNA was isolated by phenol – chloroform extraction from venous blood. Genotyping of groups by rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, and rs4124874 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *UGT1A1* gene was performed by polymerase chain reaction followed by the polyacrylamide gel analysis according to the author's protocols.

Results. For rs34993780 and rs56059937, no carriers of a rare allele were found in the GS group and the control group. In the GS group, two carriers of a heterozygous mutation rs4148323 were found. Statistically significant differences between the groups were found in the frequencies of rs4124874: homozygous GG was statistically significantly more common in the GS group than in the control group (odds ratio (OR) = 11.8, 95% confidence interval (CI) 6.9–20.3, $p < 0.001$).

Conclusion. The GG genotype of rs4124874 in the *UGT1A1* gene is associated with an increased risk of GS. Carriers of the rare heterozygous mutation rs4148323 were found in the GS group.

Keywords: Gilbert's syndrome, rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, rs4124874, *UGT1A1* gene, unconjugated hyperbilirubinemia

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

Source of financing. The study was carried out with the financial support of the Government of the Novosibirsk region within the framework of the State Budget No. 122031700094-5 of Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

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 Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 24 of 26.04.2022).

For citation: Ivanova A.A., Gurazheva A.A., Mel'nikova E.S., Nemcova E.G., Maksimov V.N. Study of molecular genetic markers of Gilbert's syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):39–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-39-45>.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром Жильбера (СЖ) (желтуха, диспептические симптомы, астеновегетативный синдром, психоэмоциональные нарушения) – генетически обусловленная форма неконъюгированной гипербилирубинемии, встречается у 2–10% европейцев [1].

На данный момент доступной подтверждающей диагностикой СЖ является молекулярно-генетическое исследование мутации rs3064744 (количество ТА повторов в промоторе) гена *UGT1A1*. Известно, что не всегда носительство мутации в гомозиготной форме 7ТА/7ТА приводит к развитию клинических признаков СЖ, что связано с низкой экспрессивностью и

пенетрантностью варианта [1]. В ряде случаев неконъюгированная гипербилирубинемия может развиваться при генотипах 6ТА/7ТА, 6ТА/6ТА мутации rs3064744 [2, 3].

Таким образом, предполагается, что существуют другие мутации, которые приводят к развитию СЖ и влияют на степень проявления его клинических признаков. Поиск данных мутаций поможет в подтверждении диагноза у лиц с клинической картиной СЖ, но без носительства гомозиготного генотипа 7ТА/7ТА мутации rs3064744.

Таким образом, целью исследования является поиск новых молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования – «случай – контроль». Группа СЖ ($n = 125$, средний возраст $38,5 \pm 11,9$ лет, 58,9% мужчин) сформирована врачами-гастроэнтерологами, в нее включены лица с неконъюгированной гипербилирубинемией, прошедшие стандартное клиническое обследование. Из группы исключены лица с известными причинами неконъюгированной гипербилирубинемии. У лиц, включенных в группу случая, была забрана венозная кровь, из которой в дальнейшем выделяли ДНК методом фенолхлороформной экстракции.

Группа контроля ($n = 323$, средний возраст $48,9 \pm 11,9$ лет, 53,2% мужчины) – случайная выборка лиц из банка ДНК участников проектов HAPIEE, MONICA. ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции из венозной крови.

Для 104 человек из группы СЖ ранее была проведена молекулярно-генетическая диагностика по определению количества ТА повторов в промоторе гена *UGT1A1* (rs3064744) [3]. Группе контроля и 21 оставшемуся человеку из группы СЖ определено количество ТА повторов в промоторе гена *UGT1A1* методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом на полиакриламидном геле (рис. 1).

Для генотипирования по rs3064744 использовали праймеры: 5'-AACATTAACCTGGTGTATCGATTGG-3'(F) и 5'-CTTTGCTCCTGCCAGAGGTTC-3'(R). Смесь для полимеразной цепной реакции (ПЦР) объемом 25 мкл включала: Трис-HCl (pH 9,0) 75 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20мМ, Tween-20 0,01%, 3,0 мМ MgCl_2 , по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, одну единицу активности ДНК-полимеразы. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95 °C 30 с, отжиг праймеров 57 °C 30 с и элонгацию 72 °C 30 с. Размер продукта амплификации 82 п.н. при генотипе 6ТА/6ТА, 82 п.н.

и 84 п.н. для генотипа 6ТА/7ТА, 84 п.н. для генотипа 7ТА/7ТА.



Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации мутации rs3064744 на полиакриламидном геле: 1 – генотип 7ТА/7ТА, 2, 3 – генотип 6ТА/7ТА, 4 – контрольный образец с генотипом 6ТА/7ТА

Для исследования в качестве новых молекулярно-генетических маркеров СЖ, по данным литературы, отобраны четыре однонуклеотидных варианта гена *UGT1A1* – rs34993780 (*UGT1A1**7), rs56059937 (*UGT1A**62), rs4148323 (*UGT1A1**6), rs4124874 (*UGT1A1**60). Генотипирование групп по выбранным вариантам проведено методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по авторским протоколам.

Для генотипирования по rs34993780 использовали праймеры: 5'-AGTTTGTGATGAGGCACA-3'(F) и 5'-TTCTTAACTCGCCCTTTT-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 10 мкл 2,5-кратной смеси для ПЦР-PV №М-428 (ЗАО «Синтол», Россия), 1,2 мМ MgCl_2 , по 0,6 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95 °C 30 с, отжиг праймеров 56 °C 30 с и элонгацию 72 °C 20 с. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы *RsaI* («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 190 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировались продукты 121 п.н., 63 п.н., 6 п.н., при генотипе GG – продукты 127 п.н., 63 п.н., при гетерозиготном генотипе TG все перечисленные продукты: 127 п.н., 121 п.н., 63 п.н., 6 п.н.

Для генотипирования по rs56059937 использовали праймеры: 5'-ACSTTGAAGACGTACCCTGTGGTA-3'(F) и 5'-TGATCACACGCTGCAGGA-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 1,0 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 60 °С 30 с и элонгацию 72 °С 30 с. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы RsaI («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 109 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировались продукты 96 п.н., 13 п.н., при СС генотипе – продукты 85 п.н., 13 п.н., 11 п.н., при гетерозиготном генотипе ТС все перечисленные продукты: 96 п.н., 85 п.н., 13 п.н., 11 п.н.

Для генотипирования по rs4148323 использовали праймеры: 5'-GTCCCATGCTGGGAAGATACTGTT-3'(F) и 5'-ACGTCTTCAAGGTGTAAATGGGC-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 1,2 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 60 °С 30 с и элонгацию 72 °С 30 с. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы HaeIII («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 164 п.н. После проведения рестрикции при генотипе АА детектировались продукты 99 п.н., 65 п.н., при GG генотипе – продукты 75 п.н., 65 п.н., 24 п.н., при гетерозиготном генотипе GA все перечисленные продукты: 99 п.н., 75 п.н., 65 п.н., 24 п.н.

Для генотипирования по rs4124874 использовали праймеры: 5'-GATTAACCAAGAACA TTCTAACGG-3'(F) и 5'-TGATGTTCTCAAATTG CTTTGTTCG-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-HCl (pH 9,0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20 мМ, Tween-20 0,01%, 3,5 мМ MgCl₂, по 1,2 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, одну единицу активности ДНК-полимеразы. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 60 °С 30 с и элонгацию 72 °С 30 с. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы TaqI («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 209 п.н. После проведения рестрикции при генотипе GG детектировался продукт 209 п.н., при ТТ генотипе – продукты 186 п.н. и 23 п.н., при гетерозиготном ге-

нотипе TG все перечисленные продукты: 209 п.н., 186 п.н., 23 п.н.

Полученные результаты генотипирования статистически обработаны, с использованием критерия χ^2 оценено соответствие частот генотипов равновесию Харди – Вайнберга в контрольной группе. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей, относительный риск по конкретному аллелю или генотипу вычислены с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 по Пирсону, точного двустороннего критерия Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. В качестве уровня значимости использован $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Работа по поиску молекулярно-генетических маркеров СЖ была начата в 2012–2016 гг. Тогда в группе лиц с неконъюгированной гипербилирубинемией (104 человека) был проведен поиск мутации rs3064744 (количество ТА повторов в промоторе) гена *UGT1A1* [3]. На данный момент группа расширена до 125 человек. Частоты генотипов мутации rs3064744 в расширенной группе представлены на рис. 2. В группе контроля, сформированной из банка ДНК участников проектов HAPIEE, MONICA, также проведен поиск мутации rs3064744 гена *UGT1A1*. Так, 12% лиц из группы контроля оказались носителями гомозиготного варианта 7ТА/7ТА (см. рис. 2). По частотам генотипов мутации rs3064744 найдены статистически значимые различия между группами ($p < 0,001$). Генотип 7ТА/7ТА мутации rs3064744 чаще встречается в группе СЖ по сравнению с контрольной группой (отношение шансов (ОШ) 12,9; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 7,9–21,3; $p < 0,001$).

По однонуклеотидным вариантам rs34993780 (*UGT1A1**7), rs56059937 (*UGT1A**62) не найдено носителей редкого аллеля в группе СЖ и контрольной группе. В группе лиц с СЖ найдены два носителя мутации rs4148323 (*UGT1A1**6) в гетерозиготной форме. Оба пациента также являются гетерозиготными носителями мутации rs3064744 гена *UGT1A1* (6ТА/7ТА).

Частоты генотипов варианта rs4124874 (*UGT1A1**60) находятся в равновесии Харди – Вайнберга в контрольной группе ($\chi^2 = 3,81$). По частотам однонуклеотидного варианта rs4124874 (*UGT1A1**60) найдены статистически значимые различия между группами ($p < 0,001$) (рис. 3). Гомозиготный генотип GG варианта статистически значимо чаще встречается в группе СЖ по сравнению с контрольной группой (ОШ = 11,8; 95%-й ДИ 6,9–20,3; $p < 0,001$). Аллель G варианта rs4124874 является аллелем риска СЖ (ОШ = 7,4; 95%-й ДИ 4,9–11,1; $p < 0,001$).

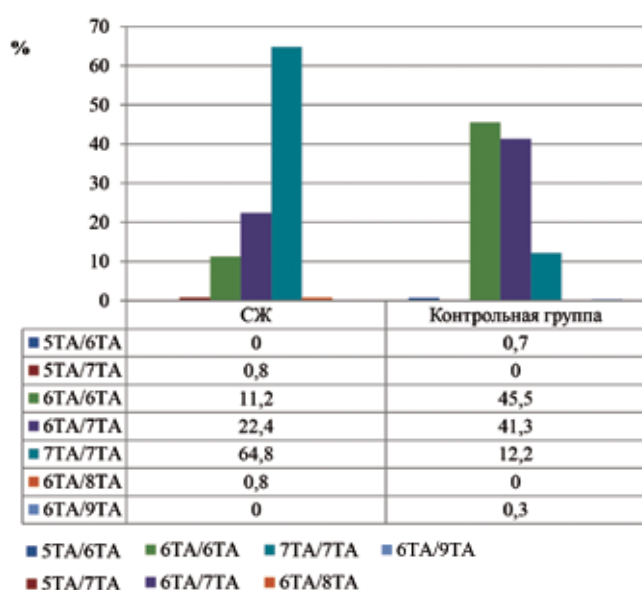


Рис. 2. Частоты генотипов мутации rs3064744 в группе СЖ и контрольной группе

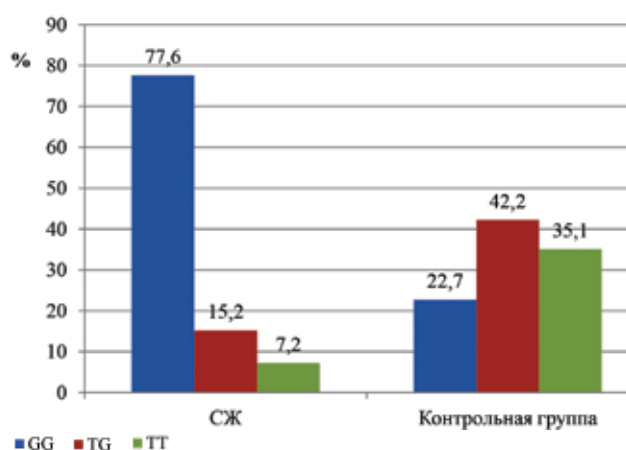


Рис. 3. Частоты генотипов однонуклеотидного варианта rs4124874 в группе СЖ и контрольной группе

Есть данные литературы, которые свидетельствуют о том, что вариант rs4124874 сцеплен с промоторным вариантом rs3064744 [4]. Сочетания генотипов вариантов rs4124874 и rs3064744 в группе СЖ представлены в таблице.

Таблица

Сочетания генотипов вариантов rs4124874 и rs3064744 в группе СЖ				
Показатель		rs4124874		
		GG	TG	TT
rs3064744	5TA/7TA	1	0	0
	6TA/6TA	3	2	9
	6TA/7TA	14	14	0
	6TA/8TA	1	0	0
	7TA/7TA	76	3	0

В группе СЖ по сравнению с контрольной группой достоверно чаще встречается сочетание генотипа 7TA/7TA мутации rs3064744 и GG варианта rs4124874 (ОШ = 14,9; 95%-й ДИ 8,1–27,4; $p < 0,001$), реже сочетания генотипов 6TA/6TA мутации rs3064744 и TG варианта rs4124874 (ОШ = 0,22; 95%-й ДИ 0,05–0,98; $p = 0,032$), генотипов 6TA/6TA мутации rs3064744 и TT варианта rs4124874 (ОШ = 0,16; 95%-й ДИ 0,07–0,33; $p < 0,001$), генотипов 6TA/7TA мутации rs3064744 и TG варианта rs4124874 (ОШ = 0,25; 95%-й ДИ 0,13–0,47; $p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам проведенного исследования, у 64,8% лиц из группы с СЖ количество ТА-повторов (rs3064744) в промоторе гена *UGT1A1* увеличено до семи в двух копиях гена. Это, согласно данным литературы, связано со снижением активности фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы 1A1 и может приводить к развитию клинических симптомов СЖ [5, 6]. Являются носителями генотипа 6TA/7TA мутации rs3064744 22,4% лиц с неконъюгированной гипербилирубинемией, 11,2% имеют нормальный генотип – 6TA/6TA. Также в группе есть носители редких генотипов – 5TA/7TA и 6TA/8TA. Преобладающее количество лиц из контрольной группы являются носителями генотипов 6TA/6TA, 6TA/7TA, при которых развития клинических симптомов СЖ чаще всего не происходит (86,8%), однако в контрольной группе есть носители генотипа 7TA/7TA (12,2%), а также носители редких генотипов 5TA/6TA, 6TA/9TA.

Контрольная группа представляет собой случайную выборку из банка ДНК участников проектов HAPIEE, MONICA. Для контрольной группы отсутствуют данные об эпизодах неконъюгированной гипербилирубинемии в анамнезе или о диагностированном СЖ. Таким образом, существует вероятность, что в контрольной группе присутствует небольшое число лиц с диагностированным или не диагностированным СЖ. Однако интерес для исследования представляют лица из группы СЖ с генотипами 6TA/6TA, 6TA/7TA и неконъюгированной гипербилирубинемией, у которых были исключены другие ее причины, кроме генетических.

Мутации rs34993780 (*UGT1A1**7), rs56059937 (*UGT1A**62), rs4148323 (*UGT1A1**6) связаны с развитием СЖ [5–9]. При этом варианты являются распространенными для СЖ у жителей Азии, исследований вариантов в отношении СЖ для европейцев нами найдено не было. Согласно проведенному исследованию, не обнаружено носителей редких аллелей

лей вариантов rs34993780 (*UGT1A1**7) и rs56059937 (*UGT1A**62) в группе СЖ и контрольной группе, что может говорить о действительно небольшом вкладе данных вариантов в развитие СЖ у лиц европеоидной расы. Но для подтверждения этого вывода необходимо провести исследование на большей выборке лиц с СЖ.

В группе СЖ идентифицировано два носителя варианта rs4148323 (*UGT1A1**6) в гетерозиготной форме, которые также являются носителями гетерозиготного генотипа 6ТА/7ТА мутации rs3064744. Известно, что вариант rs4148323 (*UGT1A1**6) в гомозиготной форме связан с развитием СЖ и снижением активности фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы 1А1 на 70% по сравнению с диким типом [5]. Таким образом, два человека из группы СЖ с неконъюгированной гипербилирубинемией с большой вероятностью являются компаунд-гетерозиготами по вариантам, которые в гомозиготной форме связаны с развитием СЖ.

Таким образом, можно предположить, что лица с клиническими симптомами СЖ, но генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА мутации rs3064744 являются носителями других мутаций гена *UGT1A1*. Это вызывает изменение активности фермента и, соответственно, клинические проявления синдрома. Поэтому для лиц с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА мутации rs3064744, неконъюгированной гипербилирубинемией и подозрением на СЖ более эффективным может стать проведение прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *UGT1A1* для поиска других патогенных вариантов нуклеотидной последовательности гена, которые являются причиной развития клинических проявлений СЖ.

Вариант rs4124874 (*UGT1A1**6, g.172270T>G) является распространенным вариантом в популяции, для европейцев частота редкого аллеля составляет около 0,43 (gnomAD). Частота аллеля G в контрольной группе, согласно нашим результатам, составляет 0,44. Вариант связан с транскрипционной активностью гена *UGT1A1* и играет роль в развитии клинических симптомов СЖ при наличии других вариантов гена *UGT1A1* [10]. Согласно ClinVar, вариант rs4124874 является вариантом с конфликтом интерпретаций (вероятно патогенный, патогенный, доброкачественный, фактор риска СЖ). По данным нашего исследования, генотип GG и аллель G варианта rs4124874 являются рисковыми для СЖ.

Комбинации генотипов 6ТА/6ТА мутации rs3064744 и TG или TT варианта rs4124874, генотипов 6ТА/7ТА мутации rs3064744 и TG варианта rs4124874 статистически значимо чаще встречаются в группе контроля. Это свидетельствует о том, что

скорее всего данное сочетание генотипов не приводит к развитию СЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Однонуклеотидный вариант rs4124874 гена *UGT1A1* ассоциирован с СЖ: генотип GG и аллель G варианта являются рисковыми для СЖ. В группе лиц с СЖ найдены носители редкой мутации rs4148323 (*UGT1A1**6) в гетерозиготной форме, которые также являются носителями генотипа 6ТА/7ТА мутации rs3064744. Таким образом, согласно результатам проведенного исследования, можно сделать вывод, что не только мутация rs3064744 является важным фактором в развитии клинических симптомов СЖ.

Таким образом, проведение молекулярно-генетического исследования на определение количества ТА повторов в промоторе гена *UGT1A1* (rs3064744) является необходимым и первым этапом молекулярно-генетической диагностики СЖ, так как в почти 65% случаях является достаточным, поскольку позволяет выявить генотип 7ТА/7ТА, который связан с развитием СЖ.

Для лиц с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА мутации rs3064744, с неконъюгированной гипербилирубинемией и подозрением на СЖ следующим эффективным этапом молекулярно-генетической диагностики должно стать проведение прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *UGT1A1* для поиска других мутаций и вариантов гена, которые могут быть причиной развития клинических проявлений СЖ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- King D., Armstrong M.J. Overview of Gilbert's syndrome. *Drug Ther. Bull.* 2019;57(2):27–31. DOI: 10.1136/dtb.2018.000028. PMID: 30709860.
- Kringen M.K., Piehler A.P., Grimholt R.M., Opdal M.S., Haug K.B., Urdal P. Serum bilirubin concentration in healthy adult North-Europeans is strictly controlled by the UGT1A1 TA-repeat variants. *PLoS One.* 2014;9(2):e90248. DOI: 10.1371/journal.pone.0090248.
- Maruo Y., D'Addario C., Mori A., Iwai M., Takahashi H., Sato H. et al. Two linked polymorphic mutations (A(TA)7TAA and T-3279G) of UGT1A1 as the principal cause of Gilbert syndrome. *Hum. Genet.* 2004;115(6):525–526. DOI: 10.1007/s00439-004-1183-x.
- Steventon G. Uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1. *Xenobiotica.* 2020;50(1):64–76. DOI: 10.1080/00498254.2019.1617910.
- Gazzin S., Masutti F., Vitek L., Tiribelli C. The molecular basis of jaundice: An old symptom revisited. *Liver Int.* 2017;37(8):1094–1102. DOI: 10.1111/liv.13351.
- Udomuksorn W., Elliot D.J., Lewis B.C., Mackenzie P.I., Yoovathaworn K., Miners J.O. Influence of mutations associated with Gilbert and Crigler-Najjar type II syndromes

- on the glucuronidation kinetics of bilirubin and other UDP-glucuronosyltransferase 1A substrates. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17(12):1017–1029. DOI: 10.1097/FPC.0b013e328256b1b6.
7. Zhou J., Yang C., Zhu W., Chen S., Zeng Y., Wang J. et al. Identification of Genetic Risk Factors for Neonatal Hyperbilirubinemia in Fujian Province, Southeastern China: A Case-Control Study. *Biomed. Res. Int.* 2018;2018:7803175. DOI: 10.1155/2018/7803175.
 8. Bale G., Avanthi U.S., Padaki N.R., Sharma M., Duvvur N.R., Vishnubhotla V.R.K. Incidence and risk of gallstone disease in Gilbert's syndrome patients in indian population. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2018;8(4):362–366. DOI: 10.1016/j.jceh.2017.12.006.
 9. Sugatani J., Yamakawa K., Yoshinari K., Machida T., Takagi H., Mori M. et al. Identification of a defect in the UGT1A1 gene promoter and its association with hyperbilirubinemia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002;292(2):492–497. DOI: 10.1006/bbrc.2002.6683.

Вклад авторов

Иванова А.А. – разработка концепции и дизайна исследования, статистическая обработка и анализ данных, написание текста статьи. Гуражева А.А., Мельникова Е.С. – выполнение молекулярно-генетического исследования. Максимов В.Н. – разработка концепции и дизайна исследования, окончательное утверждение для публикации рукописи. Немцова Е.Г. – формирование групп исследования.

Информация об авторах

Иванова Анастасия Андреевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, ivanova_a_a@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9460-6294>

Гуражева Анна Александровна – науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, annapalna1@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1547-624X>

Мельникова Елизавета Сергеевна – аспирант, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, jarinaleksi@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9033-1588>

Максимов Владимир Николаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН; профессор, кафедра медицинской генетики и биологии, НГМУ, г. Новосибирск, medik11@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7165-4496>

Немцова Елена Геннадьевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и диетологии им. С.М. Рысса, СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, neg-85@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1501-6796>

(✉) **Иванова Анастасия Андреевна**, ivanova_a_a@mail.ru

Поступила в редакцию 02.11.2022;
одобрена после рецензирования 16.11.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 576.3.08:57.086.1

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-46-52>

Жизнеспособность ядросодержащих клеток в лейкоконcentратах на этапах их получения, замораживания и декриоконсервирования

Исаева Н.В., Минаева Н.В., Утемов С.В., Шерстнев Ф.С., Зорина Н.А., Змеева Ю.С., Бутолина М.А.

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

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить жизнеспособность ядросодержащих клеток (ЯСК) в лейкоконcentратах (ЛК) на этапах их получения, замораживания и декриоконсервирования.

Материалы и методы. Материал исследования – 44 ЛК доноров аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и 189 аутологичных ЛК онкогематологических больных. Лейкоконcentраты доноров и больных получали методом автоматического лейкоцитафереза после мобилизации ГСК. Лейкоконcentраты больных замораживали под защитой диметилсульфоксида (ДМСО) с конечной концентрацией 5% и хранили в жидком азоте. Лейкоконcentраты декриоконсервировали перед трансплантацией, 161 ЛК после декриоконсервирования сразу переливали реципиенту, 28 ЛК перед переливанием отмывали от ДМСО. Процент не пропускающих 7-аминоактиномицин D (aminopterinomycin D, 7-AAD) популяций ЯСК определяли методом проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Жизнеспособность ЯСК периферической крови доноров и больных приближалась к 100%. Показано отсутствие влияния аппаратного лейкоцитафереза и процедуры смешивания с ДМСО на жизнеспособность ЯСК. Замораживание ЛК под защитой ДМСО, хранение в жидком азоте и их декриоконсервирование приводили к значимому снижению содержания жизнеспособных ЯСК ($p = 0,0025$), при этом влияние длительности хранения ЛК на жизнеспособность ЯСК не выявлено. В результате отмывания от ДМСО в жизнеспособном состоянии сохраняется существенно больше ГСК, чем без отмывания (94,4 [94,5; 95,2]% против 86,7 [67,6; 92,9]%; $p = 0,0051$); для других популяций ЯСК, кроме моноцитов, различия показателя жизнеспособности также статистически значимы.

Заключение. Жизнеспособность ЯСК в ЛК рекомендуется использовать как самостоятельную характеристику качества трансплантата. В процессе получения ЛК и их смешивания с криоконсервантом ДМСО жизнеспособность ЯСК не снижается, а в декриоконсервированных ЛК значительно падает. Декриоконсервирование ЛК с отмыванием от ДМСО позволяет достигать лучшей жизнеспособности ГСК и большинства популяций ЯСК.

Ключевые слова: лейкоконcentрат, жизнеспособность, 7-аминоактиномицин D, ядросодержащие клетки, гемопоэтические стволовые клетки, диметилсульфоксид.

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

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

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом КНИИГиПК (протокол № 27 от 23.09.2021).

Для цитирования: Исаева Н.В., Минаева Н.В., Утемов С.В., Шерстнев Ф.С., Зорина Н.А., Змеева Ю.С., Бутолина М.А. Жизнеспособность ядросодержащих клеток в лейкоконcentратах на этапах их получения, замораживания и декриоконсервирования. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):46–52. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-46-52>.

Viability of mononuclear cells in leukocyte concentrates at the stages of their preparation, freezing, and thawing

Isaeva N.V., Minaeva N.V., Utemov S.V., Sherstnev F.S., Zorina N.A., Zmeeva Yu.S., Butolina M.A.

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

ABSTRACT

Aim. To evaluate the viability of mononuclear cells (MNCs) in leukocyte concentrates (LCs) at the stages of their preparation, freezing, and thawing.

Materials and methods. The study material included 44 LCs from donors of allogeneic hematopoietic stem cells (HSCs) and 189 autologous LCs from patients with oncohematological disorders. LCs were obtained from donors and patients by leukocytapheresis after mobilization of HSCs. LCs from patients were frozen with dimethyl sulfoxide (DMSO) used as a cryoprotectant at a final concentration of 5% and stored in liquid nitrogen. LCs were thawed before transplantation. A total of 161 LCs were immediately transfused to the recipient after thawing, and 28 LCs were washed from DMSO before transfusion. Flow cytometry was used to determine the percentage of MNC populations that excluded 7-aminoactinomycin D (7-AAD).

Results. The viability of peripheral blood MNCs in donors and patients was close to 100%. It was found that leukocytapheresis and cryopreservation with DMSO did not affect the viability of MNCs. The freezing of LCs with DMSO, storage in liquid nitrogen, and thawing resulted in a significant decrease in the content of viable MNCs ($p = 0.0025$), while no effect of LC storage duration on the viability of MNCs was revealed. Following DMSO removal from LCs, significantly more HSCs remained in a viable state than without washing (94.4 [94.5; 95.2] % vs. 86.7 [67.6; 92.9] %, ($p = 0.0051$); for other MNC populations, except monocytes, the differences in the viability index were also statistically significant.

Conclusion. The viability of MNCs in LCs is recommended to be used as an independent characteristic of the transplant quality. In obtaining LCs and mixing them with the cryoprotectant DMSO, the viability of MNCs does not decrease, while in thawed LCs, it decreases significantly. Thawing of LCs with removal of DMSO allows to achieve the best viability of HSCs and most MNC populations.

Keywords: leukocyte concentrate, viability, 7-aminoactinomycin D, mononuclear cells, hematopoietic stem cells, dimethyl sulfoxide

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. The protocol of the study was approved by the local Ethics Committee at Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion (Protocol No. 27 of 23.09.2021).

For citation: Isaeva N.V., Minaeva N.V., Utemov S.V., Sherstnev F.S., Zorina N.A., Zmeeva Yu.S., Butolina M.A. Viability of mononuclear cells in leukocyte concentrates at the stages of their preparation, freezing, and thawing. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):46–52. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-46-52>.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является эффективным методом терапии гемобластозов и депрессий кроветворения [1, 2]. В современных условиях трансплантационный материал – лейкоконцентраты (ЛК) с достаточным содержанием гемопоэтических стволовых клеток ГСК, может быть получен методом аппаратного лейкоци-

тафереза. При необходимости длительного (более 72 ч) сохранения трансплантационного материала применяются технологии его замораживания под защитой криопротекторов [3]. В Кировском научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови накоплен многолетний опыт проведения трансплантаций аутологичных и аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и заготов-

ки аллогенных ГСК для других трансплантационных центров [4].

Получение трансплантационного материала – это цепь технологических процедур, обеспечивающих стабильную функцию трансплантата и гарантирующих успех ТГСК. Способность восстанавливать гемопоэз у реципиента напрямую связана с переливаемой дозой ГСК. В соответствии с требованием Европейской исследовательской группы по трансплантации крови и костного мозга, обязательной является организация контроля качества клеточного продукта, требуется подсчет ГСК, кроме этого, необходима оценка клеточных элементов, которые потенциально способны нанести вред организму больного. В тех случаях, когда продукт подвергается любым манипуляциям, воздействующим на его состав, особую актуальность приобретает подтверждение жизнеспособности клеток продукта (<https://www.ebmt.org/8th-edition-fact-jacie-standards>, дата обращения: 13.10.2021).

В настоящее время оценку ГСК проводят в соответствии с рекомендациями Международного общества гемотерапии и трансплантационной инженерии (ISHAGE) [5]. ГСК-содержащий ЛК представляет собой достаточно гетерогенный по составу клеточный продукт [6]. Протокол ISHAGE, регламентирующий расчет ГСК, широко применяется для паспортизации клеточного продукта, однако такая оценка не несет информации о жизнеспособности клеток. Жизнеспособными принято считать ЯСК, поверхностная мембрана которых остается непроницаемой для нуклеотропных красителей. Тестирование жизнеспособности может основываться на суправитальном окрашивании клеточных образцов различными красителями. В настоящее время стало возможным применение ДНК-тропных красителей, обладающих флуоресценцией, таких как пропидиума йодида, 7-аминоактиномицина D, красителей семейства Syto [7].

Снижение числа жизнеспособных лейкоцитов в процессе хранения ЛК способно негативно отразиться на расчетном значении целевой трансплантационной дозы ГСК и на параметрах приживления трансплантата [8], при этом нарастание доли нежизнеспособных клеток в ЛК может привести к появлению в нем различных продуктов деградации клеток [9].

Цель исследования – оценить жизнеспособность ЯСК в ЛК на этапах их получения, замораживания и декриоконсервирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили образцы крови и ЛК доноров аллогенных ГСК, а также онкогематологических больных. Образцы крови были взяты для исследования непосредственно перед началом лейкоцитафереза. Лейкоконцентраты доноров и больных заготавливали с применением антикоагулянта для автоматического лейкоцитафереза. Лейкоконцентраты больных криоконсервировали, смешивая с раствором ДМСО в конечной концентрации 5% и декстраном. Лейкоконцентраты замораживали в парах жидкого азота на высоте 30–35 см над уровнем жидкой фазы (–145...–160 °C) с последующим переносом в среду жидкого азота.

Непосредственно перед трансплантацией 161 ЛК декриоконсервировали в водной среде при температуре 39–41 °C, затем приступали к переливанию ЛК пациенту. Другую часть ГСК-содержащих ЛК ($n = 28$) после размораживания отмывали от ДМСО, добавляя к клеточной суспензии смесь альбумина и полиглюкина (в соотношении 1 : 4); после центрифугирования при 2 000 g в течение 5 мин супернатант удаляли, а клеточный осадок ресуспендировали в смеси альбумина и полиглюкина. Этапы подготовки трансплантационного материала представлены на рис. 1.

Этапы изучения жизнеспособности ЯСК	Трансплантационный материал	
	аллогенный (n=44)	аутологичный (n=189)
1. Мобилизация ГСК	периферическая кровь	периферическая кровь
2. Получение ЛК методом лейкоцитафереза	нативный ЛК	нативный ЛК
3. Смешивание ЛК с ДМСО	Нет	ЛК, смешанный с ДМСО
4. Замораживание ЛК, хранение ЛК в парах жидкого азота, декриоконсервирование ЛК	Нет	ЛК без отмывания от ДМСО (n=161) ЛК с отмыванием от ДМСО (n=28)

Рис. 1. Оценка жизнеспособности ядросодержащих клеток (этапы, материал)

Образцы крови и ЛК разводили раствором фосфатно-солевого буфера, содержащего 0,5% бычьего сывороточного альбумина, для достижения концентрации лейкоцитов $5 \times 10^9/\text{л}$. Образцы инкубировали в темноте в течение 15 мин при температуре 20–24 °С с конъюгатами моноклональных антител к CD45 и CD34 с флуорохромами флуоресцеинизотиоционатом и фикоэритрином соответственно и с раствором 7-AAD. Образцы тестировали на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США). Учитывали процент 7-AAD-негативных событий в каждой популяции ЯСК.

Для статистического анализа полученных результатов использовали программы STADIA (Россия) и Microsoft Excel. Данные представлены в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Для выполнения сравнительного анализа несвязанных совокупностей использовали критерий Ван дер Вардена, связанных – критерий Вилкоксона; при множественных сравнениях значения критериев определяли с применением поправки Бонферрони. Корреляционную связь устанавливали путем расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Значение $p < 0,05$ указывало на достоверность результатов сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Количество 7-AAD-негативных ЯСК в крови, взятой до начала лейкоцитафереза у доноров и больных, оказалось сопоставимым (99,8 (97,5; 99,9)% и 99,7 (98,1; 99,9)% соответственно; $p = 0,1109$). Содержание жизнеспособных ЯСК в нативных ЛК у доноров составило 99,6 (98,5; 99,8)%, у больных – 98,4 (97,5; 99,8)%; полученные значения не отличались от таковых в образцах крови, из которых были заготовлены ЛК ($p = 0,1241$ – для группы доноров; $p = 0,0893$ – для группы больных).

Различие процента 7-AAD-негативных ЯСК в нативных ЛК больных и в ЛК, смешанных с ДМСО, статистически не значимо (табл. 1).

Таблица 1

Содержание жизнеспособных ядродержащих клеток в лейкоконcentратах, $Me (Q_{25}; Q_{75})$		
Этапы контроля жизнеспособности ЯСК в ЛК		Содержание 7-AAD-негативных клеток, %
Нативные ЛК, $n = 189$	I	98,4 (97,5; 99,8)
ЛК, смешанные с ДМСО, $n = 189$	II	96,1 (94,0; 98,8)
ЛК без отмывания от ДМСО, $n = 161$	III	80,6 (76,0; 89,4)
ЛК после отмывания от ДМСО, $n = 28$	IV	92,2 (85,2; 96,4)
p		I–II = 0,1124; II–III = 0,0025; II–IV = 0,0087; III–IV = 0,0054

Наблюдалось существенное снижение жизнеспособности ЯСК в ЛК после размораживания. Увеличение проницаемости мембран ЯСК для витального красителя 7-AAD зафиксировано в образцах ЛК, которые были декриооконсервированы как без дополнительной манипуляции – отмывания от ДМСО, так и с отмыванием. Относительное число 7-AAD-негативных ЯСК в ЛК, которые не были отмыты от ДМСО, оказалось статистически значимо более низким, чем в ЛК после отмывания от ДМСО.

Изучили зависимость процента жизнеспособных клеток от времени хранения ЛК больных в замороженном состоянии до декриооконсервирования и трансплантации, корреляционная связь между этими двумя параметрами не выявлена ($r = 0,11$). На рис. 2 представлено распределение декриооконсервированных ЛК больных по содержанию в них жизнеспособных ЯСК. Учитывали три диапазона жизнеспособности: 80% и менее, 90–80,1% и 95,5–90,1%. В ЛК, отмытых от ДМСО, критические уровни (от 80 до 62,2%) жизнеспособности ЯСК регистрировали в 7,1% (два из 28) случаев, в неотмытых ЛК – в 44,1% (71 из 161).

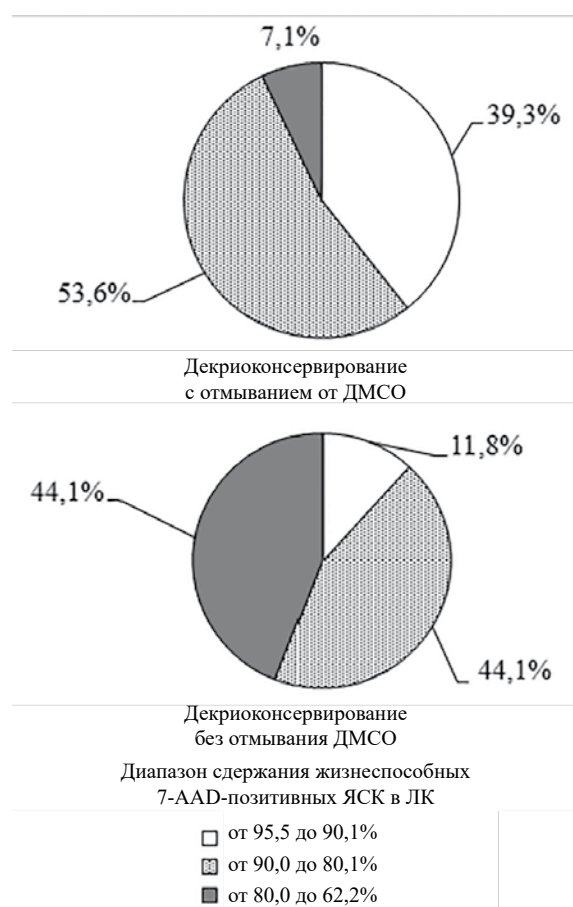


Рис. 2. Распределение декриооконсервированных лейкоконцентратов по содержанию в них жизнеспособных ядродержащих клеток

Среди всех ЯСК содержание ГСК составило 0,6%; лимфоцитов – 44,6%, моноцитов – 31,5%, гранулоцитов – 21,9%, эритрокариоцитов – 1,4%. Наименее жизнеспособной после декриоконсервирования без отмывания от ДМСО оказалась популяция гранулоцитов (табл. 2). В лейкоконcentратах, декриоконсервированных с последующим отмыванием от ДМСО, выявляли более высокие значения жизнеспособности большинства клеточных популяций по сравнению с таковыми в ЛК, которые не отмывали. Исключение составляла только популяция моноцитов.

Таблица 2

Содержание жизнеспособных ядросодержащих клеток в декриоконсервированных лейкоконcentратах, $Me (Q_{25}; Q_{75})$			
Тип ЯСК	Содержание 7-AAD-негативных клеток		<i>p</i>
	в ЛК без отмывания от ДМСО, %	в ЛК, отмываемых от ДМСО, %	
Лейкоциты	81,8 (75,1; 90,4)	89,3 (86,3; 93,7)	0,0338
– ГСК	86,7 (67,6; 92,9)	94,4 (94,5; 95,2)	0,0051
– лимфоциты	93,4 (87,9; 96,9)	95,5 (93,5; 97,7)	0,0455
– моноциты	94,9 (93,5; 96,0)	97,4 (98,1; 92,6)	0,0718
– гранулоциты	36,7 (22,8; 53,5)	58,8 (52,1; 65,6)	0,0006
Эритрокариоциты	69,0 (56,6; 82,9)	90,8 (84,9; 95,5)	0,0008

ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки жизнеспособности ЯСК в ЛК использовали суправитальное окрашивание клеток с анализом результатов автоматическим методом в лазерной проточной цитофлуориметрии. Краситель 7-AAD легко встраивается между цитозинными и гуаниновыми основаниями, определяется в красной области спектра (635–675 нм). При необходимости одновременного окрашивания клеток с флуорохром-конъюгированными моноклональными антителами к клеточным детерминантам, 7-AAD считается предпочтительным среди флуоресцирующих ДНК-красителей [10]. Процентное содержание 7-AAD-негативных ЯСК следует рекомендовать в качестве информативного параметра контроля ЛК на технологических этапах получения и хранения.

В результате проведенного исследования показано, что значение параметра жизнеспособности ЯСК крови и нативных ЛК приближается к 100%, варьирование показателя является крайне незначительным. Полученные сведения согласуются с результатами изучения жизнеспособности стволовых клеток, в котором было применено несколько ДНК-тропных красителей [7]. Число 7-AAD-негативных ЯСК в ГСК-содержащих ЛК и крови, из которой они были получены, совпадало. Следовательно, отсутствует негативное влияние аппаратного лейкоцитафереза

и смешивания с антикоагулянтом на проницаемость мембран ЯСК.

С 2003 г. при криоконсервировании трансплантационного материала применяется высокоочищенный ДМСО в концентрации 10%. Молекулярные основы действия ДМСО на клеточные мембраны продолжают активно исследоваться [11]. Известно, что разные концентрации ДМСО имеют принципиально различные механизмы воздействия на ГСК [12]. Приводимые в литературе сведения о жизнеспособности криоконсервированных ГСК, их репопулирующей способности и сроках восстановления гемопоэза [3, 13, 14] не позволяют сделать окончательные выводы об оптимальной концентрации ДМСО.

Изучили возможное воздействие концентрированного ДМСО на этапе его введения в ЛК. Число 7-AAD-негативных ЯСК в ЛК, смешанных с ДМСО в конечной концентрации 5%, и в нативных ЛК значимо не различалось. Был сделан вывод о приемлемости используемого метода введения концентрированного раствора ДМСО в клеточный продукт. Выявлено значимое снижение жизнеспособности ЯСК в размороженных ЛК как при отмывании, так и без удаления ДМСО, по сравнению с таковой в нативных ЛК, смешанных с криоконсервантом. Полученные результаты согласуются с данными литературы [15]. Взаимосвязь между временем хранения (от 7 до 120 сут) и числом 7-AAD-негативных ЯСК, вышедших из холодового анабиоза, не была подтверждена, для проницаемости плазматических мембран ЯСК, вероятно, наиболее критичны процедуры замораживания и декриоконсервирования.

Известно, что ДМСО может оказывать токсическое действие на организм человека при его использовании в качестве криопротектора [16]. Для уменьшения токсического влияния ДМСО на организм реципиента изучают такие подходы, как снижение гематокрита клеточного продукта [17], отмывание ГСК-содержащих клеточных продуктов [18], использование ингибиторов рекристаллизации льда [8]. Нежизнеспособные ЯСК могут иметь фрагментированную мембрану или представлять собой «голые ядра» [9]. Установлено, что в ЛК, отмываемых от ДМСО, присутствует больше жизнеспособных ЯСК, чем в неотмываемых. В результате отмывания в ЛК происходит частичная замена ресуспендирующего ДМСО-содержащего раствора на смесь альбумина и полиглобулина, сокращается время контакта ЯСК с внеклеточным ДМСО [18].

Лейкоконцентрат является продуктом, который лишь несколько обогащен стволовыми клетками по сравнению с периферической кровью [7]. Процентное содержание ГСК в ЛК составило в среднем 0,6%, наибольшая доля среди всех ЯСК была пред-

ставлена клеточными элементами, которые не обладают репопулирующими свойствами. Вместе с тем число CD45-позитивных клеток напрямую влияет на расчетную трансплантационную дозу ГСК [19]. При декриоконсервировании ЛК без отмывания наибольшему разрушению подвергаются гранулоциты, что согласуется с сообщениями зарубежных ученых [20]. Учитывая высокую чувствительность мембран гранулоцитарных компонентов, их существенную долю в ЛК, популяция гранулоцитов вносит наибольший вклад в понижение жизнеспособности всех ЯСК после размораживания. При отмывании от ДМСО наблюдали более высокую жизнеспособность большинства выделенных видов ЯСК, только для моноцитов не показано значимого улучшения сохранности мембран. Предположительно, отмывание блокирует увеличение проницаемости плазматических мембран ЯСК. Кроме этого, нельзя исключать, что в ходе отмывания ЛК происходит селективное удаление нежизнеспособных ЯСК.

Возможность нагрузки трансплантационного материала продуктами деградации клеток представляет собой еще один аспект негативного влияния разрушения клеточных мембран ЯСК на организм реципиента. Известно об опасности обогащения такими веществами компонентов крови при хранении [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Жизнеспособность ЯСК в ЛК рекомендуется использовать как самостоятельную характеристику качества трансплантата. В процессе получения ЛК и их смешивания с криоконсервантом ДМСО жизнеспособность ЯСК не снижается, а в декриоконсервированных ЛК значительно падает. Декриоконсервирование ЛК с отмыванием от ДМСО позволяет достигать лучшей жизнеспособности ГСК и большинства популяций ЯСК.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Donnenberg V.S., Ulrich H., Tárnok A. Cytometry in Stem Cell Research and Therapy. *Cytometry A*. 2013; 83(1): 1–4. DOI: 10.1002/cyto.a.22243.
- Passweg J.R., Baldomero H., Bader P., Bonini C., Cesaro S., Dreger P., Duarte R.F., Dufour C., Kuball J., Farge-Bancel D., Gennery A., Kröger N., Lanza F., Nagler A., Sureda A. and Mohty M. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40000 transplants annually. *Bone Marrow Transplantation*. 2016; 51: 786–792. DOI:10.1038/bmt.2016.2.
- Galmes A., Gutierrez A., Sampol A., Canaro M., Morey M., Iglesias J., Matamoros N., Duran M. A., Novo A., Bea M. D., Galan P., Balansat J., Martínez J., Bargay J., Besalduch J. Long-term hematological reconstitution and clinical evaluation of autologous peripheral blood stem cell transplantation after cryopreservation of cells with 5% and 10% dimethyl sulfoxide at – 80 degrees C in a mechanical freezer. *Haematologica*. 2007; 92: 986 – 989. DOI: 10.3324/haematol.11060.
- Логонова М.А., Малышева Н.А., Минаева Н.В., Парамонов И.В. Оценка эффективности деятельности регистра потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология*. 2020; 3 (65): 291–298. [Loginova M. A., Malysheva N. A., Minaeva N. V., Paramonov I. V. Evaluation of the efficiency of the activity of the register of potential donors of hematopoietic stem cells. *Gematologiya i transfusiologiya – Russian journal of hematology and transfusiology*. 2020; 3 (65): 291–298. (in Russ.)]. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-3-291-298.
- Barnett D., Granger V., Kraan J., Whitby L., Reilly J.T., Papa S., Gratama J.W. Reduction of intra- and interlaboratory variation in CD34+ stem cell enumeration using stable test material, standard protocols and targeted training. *Br J Haematol*. 2000; 108 (3):784 – 792. DOI: 10.1046/j.1365-214.
- Saraceni F., Shem-Tov N., Olivieri A., Nagler A. Mobilized peripheral blood grafts include more than hematopoietic stem cells: the immunological perspective. *Bone Marrow Transplantation*. 2015; 50(7): 886–891. DOI: 10.1038/bmt.2014.330.
- López M.C., Lawrence D. A. Proficiency testing experience for viable CD34+ stem cell analysis. *Transfusion*. 2008; 48(6): 1115–1121. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.01652.x.
- Briard J.G., Jahan S., Chandran P., Allan D., Pineault N., Ben R.N. Small-Molecule Ice Recrystallization Inhibitors Improve the Post-Thaw Function of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *ACS Omega*. 2016; 1(5): 1010–1018. DOI: 10.1021/acsomega.6b00178.
- Wagner T., Guber S.E., Stubenrauch M.-L., Lanzer G. Low propidium iodide intensity in flow cytometric white blood cell counting as a marker of cell destruction? *Transfusion*. 2005; 45 (2): 228–233. DOI: 10.1111/j.1537-2995.
- Трусов Г.А., Чапленко А.А., Семенова И.С., Мельникова Е.В., Олефир Ю.В. Применение проточной цитометрии для оценки качества биомедицинских клеточных продуктов. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018; 18(1): 16–24. [Trusov G.A., Chaplenko A.A., Semenova I.S., Melnikova E.V., Olefir Yu.V. Use of Flow Cytometry for Quality Evaluation of Biomedical Cell Products. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment - BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie*. 2018; 18(1): 16–24. (in Russ.)]. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-1-16-24.
- Fernández M. L., Reigada R. Effects of Dimethyl Sulfoxide on Lipid Membrane Electroporation. *The Journal of Physical Chemistry B* 2014, 118 (31), 9306–9312. DOI: 10.1021/jp503502s.
- Smagur A., Mitrus I., Giebel S., Sadus-Wojciechowska M., Najda J., Kruzel T., Czerw T., Gliwinski J., Prokop M., Glowala-Kosinska M., Chwieduk A., Holowiecki J. Smugar, I. Impact of different dimethyl sulphoxide concentrations on cell recovery, viability and clonogenic potential of cryopreserved peripheral blood hematopoietic stem and progenitor cells. *Vox Sang*. 2013; 104 (3): 240–247. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2012.01657.x.
- Curcoy A.I., Alcorta I., Estella J., Rives S., Toll T., Tuset E. Cryopreservation of HPCs with high cell concentration in

- 5-percent DMSO for transplantation to children. *Transfusion*. 2002; 42: 962. DOI: 10.1046/j.1525-1438.2002.00198.x.
14. Abrahamsen J.F., Rusten L., Bakken A. M., Bruserud O. Better preservation of early hematopoietic progenitor cells when human peripheral blood progenitor cells are cryopreserved with 5 percent dimethylsulfoxide instead of 10 percent dimethylsulfoxide. *Transfusion*. 2004; 44: 785 – 789. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2004.03336.x.
15. Akkok CA, Liseth K, Hervig T, Rynningen A, Bruserud O., Ersvaer E. Use of different DMSO concentrations for cryopreservation of autologous peripheral blood stem cell grafts does not have any major impact on levels of leukocyte- and platelet-derived soluble mediators. *Cytotherapy*. 2009; 11: 749 – 760. DOI: 10.1080/14653240902980443.
16. Kollerup M.B, Hilscher M., Zetner D., Rosenberg J. Adverse reactions of dimethyl sulfoxide in humans: a systematic review. *F1000Research*. 2018; 7: 1-18. DOI: 10.12688/f1000research.16642.2.
17. Tonev I., Simeonov S., Mitkov I., Ilieva M., Petrov Y., Ganeva P., Arnaudov G., Spassov B., Mincheff M. Viability of hematopoietic stem cells following storage at – 80 °C with 5 % dimethylsulfoxide and hematologic recovery in transplanted myeloma patients. *HemaSphere*. 2019; 3: 343-344. DOI: 10.1097/01.hs9.0000561400.99877.49.4.
18. Shu Z, Heimfeld S, Gao D. Hematopoietic SCT with cryopreserved grafts: adverse reactions after transplantation and cryoprotectant removal before infusion. *Bone Marrow Transplant*. 2014; 49(4): 469–476. DOI: 10.1038/bmt.2013.152.
19. Gutensohn K1, Jessen M, Ketels A, Gramatzki M, Humpe A. Flow cytometric analyses of CD34+ cells with inclusion of internal positive controls. *Transfusion*. 2012; 2 (52): 284-290. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03259.x.
20. Bai L, Xia W, Wong K, Reid C, Ward C, Greenwood M. Infused neutrophil dose and haematopoietic recovery in patients undergoing autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2014; 49(5): 725. DOI: 10.1038/bmt.2014.14.

Вклад авторов

Исаева Н.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Минаева Н.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Шерстнев Ф.С., Утемов С.В., Змеева Ю.С., Бутолина М.А. – сбор, обработка и анализ данных. Зорина Н.А. – отбор и ведение доноров и больных.

Информация об авторах

Исаева Наталья Васильевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клеточной и молекулярной иммунологии, КНИИГиПК, г. Киров, isaevanatalia@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9766-5137>

Минаева Наталья Викторовна – канд. мед. наук, зам. директора по лечебной работе, КНИИГиПК, г. Киров, mnvgem@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-8479-3217>

Утемов Сергей Вячеславович – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клеточных технологий, КНИИГиПК, г. Киров, utemov@niigpk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2045-2034>

Шерстнев Филипп Сергеевич – канд. мед. наук, зав. отделением трансфузиологии и процессинга гемопоэтических стволовых клеток, КНИИГиПК, г. Киров, sherstnyov_phil@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1751-8522>

Зорина Наталья Александровна – канд. мед. наук, зав. отделением химиотерапии и трансплантации костного мозга, КНИИГиПК, г. Киров, zorina@niigpk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1948-209X>

Змеева Юлия Сергеевна – мл. науч. сотрудник, лаборатория клеточной и молекулярной иммунологии, КНИИГиПК, г. Киров, zmeevajs@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2034-425X>

Бутолина Мария Александровна – лаборант-исследователь, лаборатория клеточных технологий, КНИИГиПК, г. Киров, butolina.maria@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5408-6028>

(✉) **Исаева Наталья Васильевна**, isaevanatalia@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.10.2021;
одобрена после рецензирования 16.05.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.12-008.46-036.12-037:616.146.2-073.432
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-53-60>

Почечная венозная доплерография – новый параметр для прогнозирования исходов у пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности

Кобалава Ж.Д.¹, Сафарова А.Ф.^{1, 2}, Асланова Р.Ш.^{1, 2}, Вацик-Городецкая М.В.²

¹ Российский университет дружбы народов (РУДН)
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8

² Городская клиническая больница им. В.В. Виноградова ДЗМ
117292, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, 61

РЕЗЮМЕ

Цель: оценить частоту, динамику и прогностическое значение почечного венозного застоя, оцененного с помощью доплерографии, у пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ДХСН).

Материалы и методы. В проспективное одноцентровое исследование были включены 124 пациента с ДХСН, в том числе 51,6% мужчин, средний возраст 70 ± 12 лет. Пациенты имели следующие показатели: фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) 44 [34;55]%, N-терминальный мозговой натрийуретический пептид (NT-proBNP1609) [591;2 700] пг/мл. Всем пациентам проводили стандартное физическое, лабораторно-инструментальные исследования, включая уровень NT-proBNP. Оценку почечного венозного кровотока проводили с помощью импульсно-волновой доплерографии. Наличие непрерывного почечного кровотока расценивали как отсутствие венозного застоя, в то время как прерывистый (двухфазный и однофазный кровотоки) указывал на венозный застой. В качестве конечных точек были выбраны повторная госпитализация по поводу ДХСН и достижение комбинированной точки (регоспитализация по поводу ДХСН и сердечно-сосудистая смертность) в течение 12 мес после выписки.

Результаты. При поступлении непрерывный почечный венозный кровоток отмечался у 34 (27,4%), прерывистый почечный венозный кровоток – у 90 (72,6%): двухфазный – у 62 (50%) и однофазный – у 28 (22,6%) пациентов с ДХСН. При выписке у 66 (53,2%) пациентов сохранялся прерывистый почечный венозный кровоток: двухфазный – у 50 (40,3%) и однофазный – у 16 (12,9%). Выявлены корреляции почечного венозного застоя с уровнем NT-proBNP, сывороточного железа, мочевины, креатинина, ФВ ЛЖ, систолического давления в легочной артерии и развитием острого почечного повреждения. Сохраняющийся почечный венозный застой при выписке достоверно ассоциировался с более высокой вероятностью повторной госпитализации по поводу ДХСН (отношение рисков (ОР) 1,93 95%-й доверительный интервал (ДИ) (1,017–3,67); $p = 0,044$) и комбинированной конечной точки (ОР 2,66 95%-й ДИ (1,43–4,96); $p = 0,002$).

Заключение. У пациентов с ДХСН целесообразно оценивать почечный венозный кровоток с помощью импульсно-волновой доплерографии для стратификации пациентов с развитием сердечно-сосудистых осложнений в течение 12 мес.

Ключевые слова: ДХСН, почечный венозный кровоток, почечный венозный застой, NT-proBNP

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. Исследования одобрено локальным этическим комитетом РУДН (протокол № 7 от 16.11.2021).

✉ Асланова Рэна Шохлат-кызы, rena.aslan@yandex.ru

Для цитирования: Кобалава Ж.Д., Сафарова А.Ф., Асланова Р.Ш., Вацик-Городецкая М.В. Почечная венозная доплерография – новый параметр для прогнозирования исходов у пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):53–60. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-53-60>.

Renal venous Doppler ultrasound – a new parameter for predicting outcomes in patients with decompensated heart failure

Kobalava Zh.D.¹, Safarova A.F.^{1,2}, Aslanova R.Sh.^{1,2}, Vatsik-Gorodetskaya M.V.²

¹ Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University)
8, Miklukho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

² Vinogradov City Clinical Hospital
61, Vavilova Str., 117292, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the frequency, dynamics, and prognostic value of renal venous congestion using Doppler ultrasound in patients with decompensated heart failure (DHF).

Materials and methods. A prospective, single-center study included 124 patients with DHF (mean age 70 ± 12 years, 51.6% were males), left ventricular ejection fraction (LVEF) 44 [34; 55] %, N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) 1,609 [591; 2,700] pg / ml. All patients underwent a standard physical examination and laboratory and instrumental tests, including the assessment of the NT-proBNP level. Renal venous blood flow was assessed using pulsed-wave Doppler ultrasound. The presence of continuous renal blood flow was considered as the absence of venous congestion, while intermittent blood flow (two-phase and single-phase flow) indicated venous congestion. Rehospitalization for DHF and reaching a composite endpoint (rehospitalization for DHF and cardiovascular mortality) within 12 months after discharge were selected as endpoints.

Results. At admission, continuous renal venous blood flow was observed in 34 (27.4%) patients, intermittent renal venous blood flow was found in 90 (72.6%) patients: two-phase flow in 62 (50%) and single-phase flow in 28 (22.6%) patients with DHF. At discharge, 66 (53.2%) patients had intermittent renal venous blood flow: two-phase flow in 50 (40.3%) and single-phase flow in 16 (12.9%) patients. Correlations of renal venous congestion with the levels of NT-proBNP, serum iron, uric acid, creatinine, LVEF, systolic pressure in the pulmonary artery (SPPA), and the development of acute kidney injury (AKI) were revealed. Persistent renal venous congestion at discharge was significantly associated with a higher probability of rehospitalization for DHF (hazard ratio (HR) 1.93 95% confidence interval (CI) (1.017–3.67); $p = 0.044$) and a composite endpoint (HR 2.66, 95% CI (1.43–4.96); $p = 0.002$).

Conclusion. In patients with DHF, it is necessary to evaluate renal venous blood flow using pulsed-wave Doppler ultrasound to stratify patients with development of cardiovascular complications within 12 months.

Keywords: DHF, renal venous blood flow, renal venous congestion, NT-proBNP

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 RUDN University (Protocol No. 7 of 16.11.2021).

For citation: Kobalava Zh.D., Safarova A.F., Aslanova R.Sh., Vatsik-Gorodetskaya M.V. Renal venous Doppler ultrasound – a new parameter for predicting outcomes in patients with decompensated heart failure. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):53–6. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-53-60>.

ВВЕДЕНИЕ

Кардиоренальные взаимодействия в последние годы привлекают все больше внимания у пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недоста-

точностью (ДХСН) в связи со значительным ростом распространенности сочетания нарушений функции сердца и почек. Частота ухудшения функционального состояния почек у пациентов с ХСН составляет 45–63,6% и является неблагоприятным прогностиче-

ским фактором, приводящим к повторным госпитализациям и увеличению частоты сердечно-сосудистой смертности [1].

В настоящее время обсуждается роль венозного застоя и повышение центрального венозного давления в ухудшении функции почек при ХСН [2]. До недавнего времени диагностика почечного венозного застоя представляла определенные сложности в связи с инвазивностью и трудоемкостью исследования.

N. Iida и соавт. впервые была предложена методика оценки почечного венозного кровотока с помощью ультразвукового доплеровского исследования. P. Nijst. и соавт. выявили взаимосвязь изменения характера почечного венозного кровотока с помощью этой методики с ухудшением функции почек у пациентов с ХСН и рекомендовали ее для контроля диуретической терапии у пациентов с ДХСН [3, 4].

В настоящее время отсутствуют универсальные критерии выявления почечного венозного застоя, что подчеркивает актуальность исследований по сопоставлению клинической и прогностической ценности предложенного метода у пациентов с ДХСН.

Цель исследования – изучение частоты, динамики и прогностического значения почечного венозного застоя, оцененного с помощью доплерографии, у пациентов с ДХСН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное одноцентровое исследование были включены 124 пациента, госпитализированные в Центр сердечной недостаточности на базе ГКБ им.

В.В. Виноградова с декабря 2020 по декабрь 2021 г. (табл. 1). Критериями невключения являлись злокачественные новообразования в активной фазе, тяжелые клапанные пороки и соматические заболевания.

Всем пациентам были проведены стандартные клинико-лабораторные исследования, в том числе определение уровня N-терминального мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Для оценки клинического застоя использовали шкалу оценки клинического состояния (ШОКС) [5]. Ультразвуковое обследование сердца, почечного кровотока проводили на аппарате экспертного класса VIVID E90 (GE, Healthcare).

Характер почечного кровотока оценивали в режиме импульсно-волновой доплерографии в положении пациента лежа на левом боку с использованием конвексного или секторного датчика с одновременной регистрацией ЭКГ на мониторе аппарата. В норме кривая доплеровского почечного кровотока является непрерывной. За венозный застой принимали прерывистый почечный кровоток с систолической и диастолической фазами (как незначительное отклонение) и прерывистую форму с диастолической фазой (как выраженное отклонение) (см. рис. 1) [6].

Все пациенты во время и после госпитализации получали стандартную терапию СН. Длительность наблюдения после выписки составила 12 мес. Оценку краткосрочных и долгосрочных исходов проводили с помощью обработки базы ЕМИАС. В качестве конечных точек были выбраны повторная госпитализация по поводу ДХСН и смерть от сердечно-сосудистых осложнений за период наблюдения.

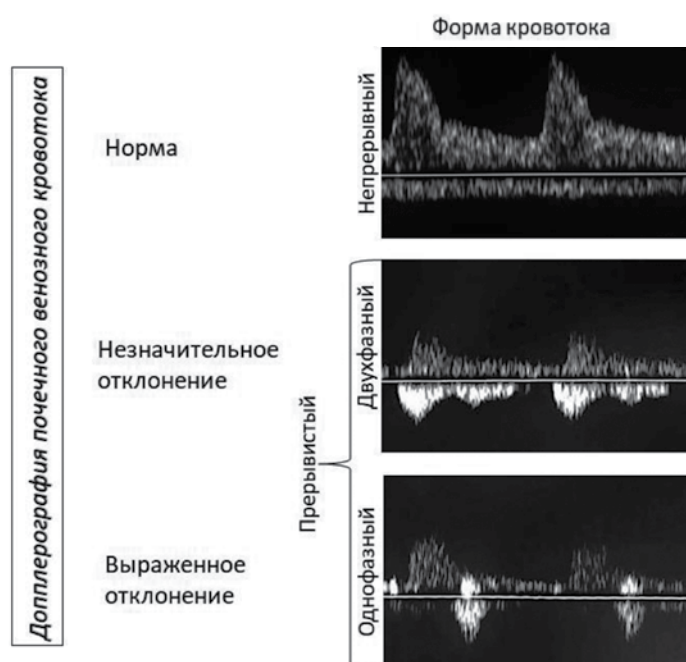


Рис. 1. Алгоритм ультразвуковой оценки почечного венозного кровотока

Таблица 1

Характеристика пациентов с ДХСН, <i>n</i> = 124	
Параметр	Значение
Пол, муж, <i>n</i> (%)	64 (52)
Возраст, годы, <i>M</i> ± <i>SD</i>	70 ± 12
ИМТ, кг/м ² , <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	32,4 [27,7; 38,35]
Курение, <i>n</i> (%)	23 (19)
Артериальная гипертензия, <i>n</i> (%)	110 (89)
Ишемическая болезнь сердца, <i>n</i> (%)	65 (52)
Фибрилляция предсердий, <i>n</i> (%)	73 (59)
Сахарный диабет 2-го типа, <i>n</i> (%)	43 (35)
ХБП, <i>n</i> (%)	91 (73,4)
ОПП, <i>n</i> (%)	29 (23,4)
ФК СН (NYHA), <i>n</i> (%):	
– II;	28 (22)
– III;	54 (44)
– IV	42 (34)
ШОКС, баллы, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	9 [6; 12,5]
ФВ ЛЖ, %, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	44 [34; 55]
ФВ ЛЖ, <i>n</i> (%):	
– <40;	48 (38,7)
– 41–49;	23 (18,5)
– ≥50	53 (42,8)
СДЛА, мм рт. ст., <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	48 [34; 60]
Почечный венозный кровоток <i>n</i> (%):	
– непрерывный;	34 (27,4)
– прерывающийся;	90 (72,6)
– двухфазный;	62 (50)
– однофазный	28 (22,6)
NT-proBNP, пг/мл, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	1609 [591; 2700]
Креатинин, мкмоль/л, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	103,5 [84; 125]
СКФ, мл/мин/1,73 м ² , <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	54,3 [43; 67,4]
Калий крови, ммоль/л, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	4,35 [3,9; 4,6]
Мочевина, ммоль/л, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	7,4 [5,3; 9,7]
Мочевая кислота, ммоль/л, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	438 [327; 570]
Железо, ммоль/л, <i>Me</i> [<i>IQR</i>]	6,9 [4,4; 12,1]

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ОПП – острое почечного повреждение, СДЛА – систолическое давление в легочной артерии, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, ФК СН – функциональный класс сердечной недостаточности, ХБП – хроническая болезнь почек, ШОКС – шкала оценки клинического состояния, NT-proBNP – N-терминальный мозговой натрийуретический пептид (здесь и в табл. 2–4).

Статистический анализ выполнен с помощью Statistica (версия 10.0; StatSoft), MedCalc Software's VAT Version 19.0 и SPSS (версия 26.0). Количественные данные представлены как среднее арифметическое значение и стандартное отклонение среднего значения $M \pm SD$ (при нормальном распределении) или как медиана и интерквартильный размах Me [*IQR*] (при асимметричном распределении). Достоверность различий между двумя группами по количественным переменным оценивали при помощи *U*-критерия Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса. Качественные переменные представляли абсолютными и относительными значениями *n* (%). Для сравнения групп по частоте качественных переменных использовали критерий хи-квадрат Пирсона (χ^2). Вероятность выживания оценивали методом построения кривых выживаемости Каплана – Мейера, сравнение производили с помощью лог-рангового критерия. Для оценки прогностической значимости разных методов на риск наступления смерти или повторной госпитализации по поводу ДХСН использовали одно- и многофакторные модели регрессионного анализа Кокса. Значимым считали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При поступлении у пациентов с ДХСН частота почечного венозного застоя составила 72,6%, при выписке почечный венозный застой сохранялся у 53,2% пациентов. Динамика почечного венозного кровотока за период госпитализации представлена на рис. 2.

При поступлении у пациентов с почечным венозным застоем были значимо выше частота ХБП в анамнезе, развития ОПП за период госпитализации, выше уровень СДЛА, NT-proBNP, мочевой кислоты, ниже уровень сывороточного железа по сравнению с пациентами без почечного венозного застоя (табл. 2).

В табл. 3 представлена сравнительная характеристика пациентов с динамикой почечного венозного кровотока при выписке.

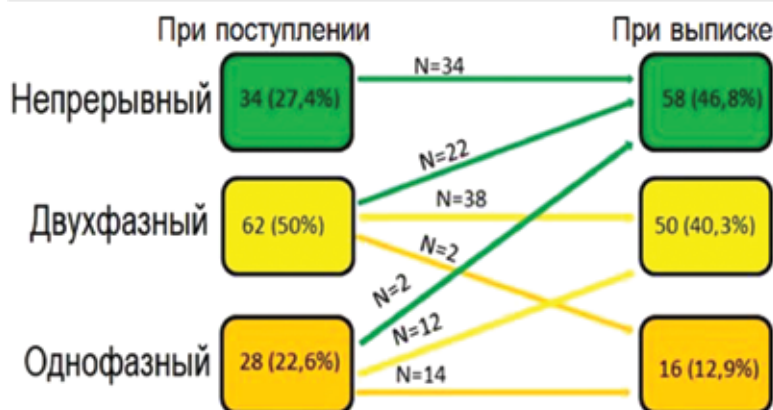


Рис. 2. Динамика почечного венозного кровотока

Таблица 2

Сравнительная характеристика пациентов с ДХСН с отсутствием и наличием почечного венозного застоя при поступлении			
Параметр	Пациенты с отсутствием почечного венозного застоя, $n = 34$	Пациенты с наличием почечного венозного застоя, $n = 90$	p
ФВ ЛЖ, n (%):			0,045
– <40;	11 (32,4)	37 (42,2)	
– 41–49;	3 (8,8)	20 (22,2)	
– ≥ 50	20 (58,8)	32 (35,6)	
ШОКС, баллы, Me [IQR]	6 [4; 8]	11 [7; 13]	0,000
СДЛА, мм рт. ст., Me [IQR]	34 [27; 40]	56 [40; 62]	<0,000
ХБП в анамнезе, n (%)	18 (52,9)	73 (81,1)	0,001
ОПП, n (%)	2 (5,9)	27 (30)	0,004
Nt-proBNP, пг/мл, Me [IQR]	482,5 [339; 2109]	1699 [1065; 3131]	0,000
Креатинин, мкмоль/л, Me [IQR]	88 [74,7; 105]	109 [89; 134,6]	0,000
СКФ, мл/мин/1,73 м ² , Me [IQR]	57,35 [50,8; 75]	53 [38; 61,9]	0,018
Мочевина, ммоль/л, Me [IQR]	6,35 [4,72; 8,6]	7,66 [6,32; 10,5]	0,020
Мочевая кислота, ммоль/л, Me [IQR]	382,3 [285,1; 514,2]	501,63 [365,8; 587]	0,040
Калий, ммоль/л, Me [IQR]	4,2 [3,75; 4,55]	4,4 [4,05; 4,76]	0,027
Железо, ммоль/л, Me [IQR]	10,86 [7,25; 15,17]	6,99 [5,32; 11,1]	0,023

Таблица 3

Характеристика пациентов с ДХСН с динамикой почечного венозного кровотока при выписке				
Параметр	Сохранение непрерывного кровотока, $n = 34$	Из прерывистого в непрерывный кровоток, $n = 24$	Сохранение прерывистого кровотока, $n = 66$	p
Пол, муж, n (%)	14 (41,2)	15 (62,5)	35 (53)	0,26
Возраст, годы, Me [IQR]	75,5 [68; 81]	67 [62,5; 72,5]	71,5 [64; 81]	0,125
Артериальная гипертония, n (%)	31 (91,2)	23 (95,8)	56 (84,8)	0,300
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	19 (55,9)	14 (58,3)	32 (48,5)	0,634
ХБП, n (%)	18 (53)	21 (87,5)	52 (78,8)	0,004
ОПП, n (%)	3 (8,8)	5 (20,8)	17 (25,8)	0,018
Фибрилляция предсердий, n (%)	18 (53)	13 (54,2)	42 (63,6)	0,513
Сахарный диабет 2-го типа, n (%)	9 (26,5)	10 (41,7)	24 (36,6)	0,447
ФК СН (NYHA), n (%):				0,148
– II;	9 (26,5)	7 (29,2)	12 (18,2)	
– III;	18 (52,9)	11 (45,8)	25 (37,8)	
– IV	7 (20,6)	6 (25)	29 (44)	
ФВ ЛЖ, %, Me [IQR]	52 [38; 58]	42 [33; 49]	44 [34; 55]	0,613
ФВ ЛЖ, n (%):				0,017
– <40;	11 (32,4)	9 (37,5)	28 (42,4)	
– 41–49;	3 (8,8)	9 (37,5)	11 (16,7)	
– ≥ 50	20 (58,8)	6 (25)	27 (40,9)	
NT-proBNP, пг/мл, Me [IQR]	482,5 [339; 2109]	1670,5 [905; 2429]	1700,5 [1140; 3412]	0,002
Креатинин, мкмоль/л, Me [IQR]	88 [74,7; 105]	108,5 [95,27; 130]	109 [87; 137]	0,001
СКФ, мл/мин/1,73 м ² , Me [IQR]	57,35 [50,8; 75]	53,7 [45,57; 59,7]	53 [35,9; 66,7]	0,061
Калий крови, ммоль/л, Me [IQR]	4,2 [3,72; 4,55]	4,35 [4,05; 4,6]	4,41 [4,08; 4,77]	0,075
Мочевина, ммоль/л, Me [IQR]	6,35 [4,72; 8,6]	7,45 [6,06; 9,9]	8,32 [6,56; 11,2]	0,053
Мочевая кислота, ммоль/л, Me [IQR]	382,3 [285,1; 514,2]	438,8 [399,3; 560]	505,4 [357,15; 623,34]	0,107
Железо, ммоль/л, Me [IQR]	10,86 [7,25; 11,78]	7,62 [5,8; 11]	6,77 [5,12; 11,2]	0,067

Ассоциации почечного венозного застоя при поступлении и выписке с изучаемыми параметрами представлены в табл. 4.

Регрессионный анализ Кокса продемонстрировал независимую прогностическую ценность почечного венозного застоя в отношении развития повторной

госпитализации по поводу ДХСН и достижения комбинированной конечной точки (табл. 5).

На рис. 3 и 4 представлены кривые Каплана – Мейера кумулятивной вероятности выживания (повторные госпитализации и комбинирование точки) в зависимости от наличия почечного венозного застоя.

Таблица 4

Корреляции почечного венозного кровотока с лабораторно-инструментальными данными у пациентов с ДХСН при поступлении и выписке		
Параметр	При поступлении	При выписке
Фибрилляция предсердий в анамнезе	$p = 0,007, R = 0,24$	–
ХБП в анамнезе	$p = 0,000, R = 0,32$	–
ОПП, n (%)	$p = 0,041, R = 0,25$	–
ШОКС, баллы	$p = 0,000, R = 0,48$	–
ФВ ЛЖ, n (%)	$p = 0,021, R = -0,20$	–
ФВ ЛЖ <40% 41–49 > 50%	$p = 0,017, R = -0,21$	–
СДЛА, мм рт. ст.	$p = 0,000, R = 0,50$	–
Nt-proBNP, пг/мл	$p = 0,000, R = 0,25$	$p = 0,000, R = 0,30$
Креатинин, мкмоль/л	$p = 0,000, R = 0,34$	$p = 0,003, R = 0,25$
СКФ, мл/мин, $1,73 \text{ м}^2$	$p = 0,020, R = -0,21$	$p = 0,018, R = -0,21$
Железо, ммоль/л	$p = 0,012, R = -0,26$	–
Мочевая кислота, мкмоль/л	$p = 0,024, R = 0,25$	–
Калий, ммоль/л	$p = 0,014, R = 0,22$	–

Таблица 5

Регрессионный анализ для почечного венозного застоя в отношении риска развития конечных точек

Параметр	Однофакторный регрессионный анализ		Многофакторный регрессионный анализ	
	ОР, 95%-й ДИ	p	ОР, 95%-й ДИ	p
Повторная госпитализация по поводу ДХСН	1,97 (1,03–3,75)	0,038	1,93 (1,017–3,67)	0,044
Комбинированная конечная точка	2,72 (1,46–5,06)	0,002	2,66 (1,43–4,96);	0,002

Примечание. ДИ – доверительный интервал, ОР – отношение рисков. Многофакторный регрессионный анализ включал возраст, пол, ФВ ЛЖ < 40%, анамнез ИБС, ГБ, СД 2-го типа, ХБП, увеличение массы тела за неделю до госпитализации.

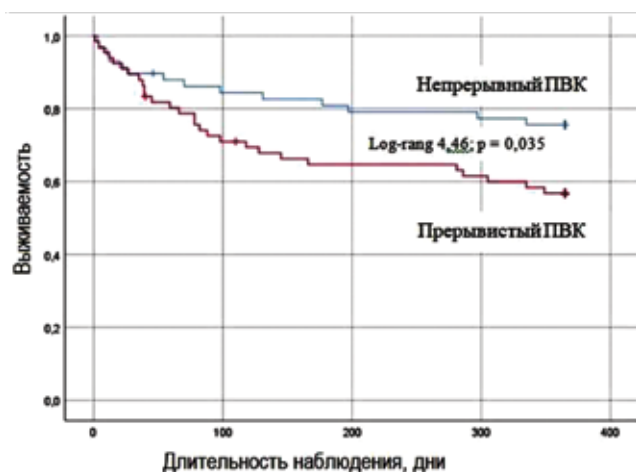


Рис. 3. Кривые Каплана – Мейера кумулятивной вероятности выживания (повторные госпитализации) в зависимости от наличия почечного венозного застоя

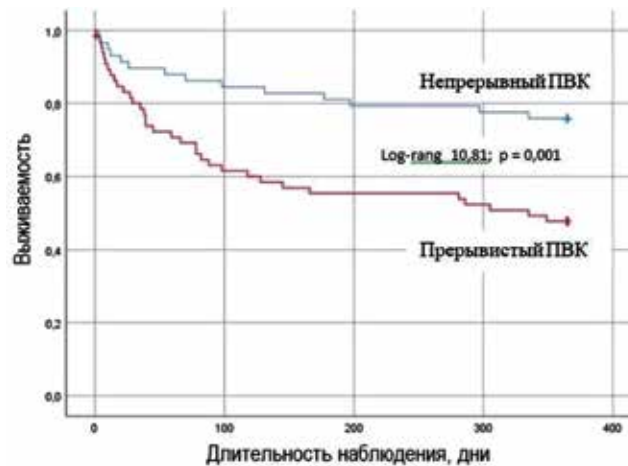


Рис. 4. Кривые Каплана – Мейера кумулятивной вероятности выживания (комбинированные конечные точки) в зависимости от наличия почечного венозного застоя

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании у пациентов с ДХСН при поступлении выявлена высокая частота венозного почечного застоя (в 72,6% случаев), оцененного с

помощью ультразвуковой доплерографии почек. Сохраняющийся почечный венозный застой при выписке (в 53,2% случаев) ассоциировался с риском развития неблагоприятных исходов в течение года. Наши данные согласовываются с данными недав-

него исследования А. Puzzovivo и соавт., где также была выявлена взаимосвязь венозного почечного застоя при ультразвуковом исследовании с развитием ДХСН и смерти в течение 36 мес наблюдения [7].

В течение многих лет почечная венозная доплерография использовалась для оценки внесердечных состояний, связанных с повышенным интерстициальным почечным давлением, таких как обструктивная уропатия или диабетическая нефропатия [8, 9]. Однако последние данные свидетельствуют о применении этого метода визуализации для оценки внутрисердечной гемодинамики при СН [3, 4, 10].

В исследовании N. Iida и соавт., в котором изучалась взаимосвязь почечных доплеровских кривых с развитием неблагоприятных исходов среди 224 пациентов с ХСН, было показано, что прерывистый почечный кровоток, в том числе однофазный кровоток, имел самый неблагоприятный прогноз (выживаемость <40% в течение 12 мес) [3].

По полученным нами результатам почечный венозный застой ассоциировался с уровнем креатинина, СКФ, мочевой кислоты и калия, развитием ОПП в период госпитализации и ХБП в анамнезе. В работе F. Husain-Syed и соавт. также была выявлена взаимосвязь почечного венозного застоя с ухудшением почечной функции у пациентов с СН [11].

Полученные взаимосвязи можно объяснить механизмом развития кардиоренального синдрома при СН, при котором имеет место снижение сердечного выброса, повышение внутрибрюшного давления, а также повышение венозного давления в почках, приводящее к возникновению венозного застоя, в том числе и в почках [12]. Известно, что даже незначительное почечное повреждение у пациентов с СН ассоциируется с высокой общей и сердечно-сосудистой смертностью [13, 14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с ДХСН оценка почечного венозного кровотока выявила высокую частоту венозного почечного застоя и его прогностическую роль в развитии неблагоприятных исходов, что делает целесообразным применение данной методики в этой группе пациентов.

Ограничения и перспективы исследования

Ограничения нашего исследования связаны с небольшой выборкой пациентов и относительно коротким сроком наблюдения (12 мес).

Очевидна необходимость многоцентрового клинического исследования для изучения характера почечного венозного кровотока и его влияние в отношении развития сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ДХСН.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кобалава Ж.Д., Виллевалде С.В., Ефремовцева М.А. Кардиоренальные взаимодействия при декомпенсации хронической сердечной недостаточности. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2016;12(2):138–146. DOI: 10.20996/1819ю6446-2016-12-2-138-146.
2. Damman K., Valente M.A., Voors A.A., O'Connor C.M., van Veldhuisen D.J., Hillege H.L. Renal impairment, worsening renal function, and outcome in patients with heart failure: an updated meta-analysis. *Eur. Heart J.* 2014;35(7):455469. DOI: 10.1093/eurheartj/eh386.
3. Iida N., Seo Y., Sai S., Machino-Ohtsuka T., Yamamoto M., Ishizu T. et al. Clinical implications of intrarenal hemodynamic evaluation by Doppler ultrasonography in heart failure. *JACC Heart Fail.* 2016;4(8):674–882. DOI: 10.1016/j.jchf.2016.03.016.
4. Nijst P., Martens P., Dupont M., Tang W.H.W., Mullens W. Intrarenal flow alterations during transition from euvolemia to intravascular volume expansion in heart failure patients. *JACC Heart Fail.* 2017;5(9):672–681. DOI: 10.1016/j.jchf.2017.05.006.
5. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности. М.: Медиа Медика, 2000:266.
6. Yamamoto M., Seo Y., Iida N., Ishizu T., Yamada Y., Nakatsukasa T. et al. Prognostic impact of changes in intrarenal venous flow pattern in patients with heart failure. *J. Card. Fail.* 2021;27(1):20–28. DOI: 10.1016/j.cardfail.2020.06.016.
7. Puzzovivo A., Monitillo F., Guida P., Leone M., Rizzo C., Grande D. et al. Renal venous pattern: a new parameter for predicting prognosis in heart failure outpatients. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2018;5(4):52. DOI: 10.3390/jcdd5040052.
8. Vadana B.M., Pasumarthy A., Penumalli N., Bellapa N.C. Renal venous Doppler study in obstructive uropathy. *J. Clin. Diagn. Res.* 2015;9(11):TC13–15. DOI: 10.7860/JCDDR/2015/15546.6794.
9. Jeong S.H., Jung D.C., Kim S.H. Renal venous Doppler ultrasonography in normal subjects and patients with diabetic nephropathy: value of venous impedance index measurements. *J. Clin. Ultrasound.* 2011;39(9):512–518. DOI: 10.1002/jcu.20835.
10. Caraba A., Iurciuc S., Munteanu A., Iurciuc M. Hyponatremia and renal venous congestion in heart failure patients. *Dis. Markers.* 2021;2021:6499346. DOI: 10.1155/2021/6499346.
11. Husain-Syed F., Birk H.W., Ronco C., Schörmann T. et al. Doppler-derived renal venous stasis index in the prognosis of right heart failure. *J. Am. Heart Assoc.* 2019;8(21):e013584. DOI: 10.1161/JAHA.119.013584.
12. Ronco C., Haapio M., House A.A., Anavekar N., Bellomo R. Cardioresenal syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008;52(19):1527–1539. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.07.051.
13. McCullough P.A., Li S., Jurkovic T., Stevens L.A., Wang C., Collins A.J. et al. CKD and cardiovascular disease in screened high-risk volunteer and general populations: the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2004.

Am. J. Kidney Dis. 2008;51(4–2):S38–45. DOI: 10.1053/j.ajkd.2007.12.017.

14. Foley R.N., Murray A.M., Li S., Herzog C.A., McBean A.M., Eggers P.W. et al. Chronic kidney disease and the risk for

cardiovascular disease, renal replacement, and death in the United States Medicare population, 1998 to 1999. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005;16(2):489–495. DOI: 10.1681/ASN.2004030203.

Информация об авторах

Кобалава Жанна Давидовна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, zkobalava@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1126-4282>

Сафарова Айтен Фуад кызы – д-р мед. наук, профессор кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН; врач, отделение функциональной диагностики, ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ, г. Москва, aytensaf@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2412-5986>

Асланова Рэна Шохлат-кызы – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН; врач-кардиолог, кардиологическое отделение ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ, г. Москва, rena.aslan@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0244-2112>

Вацик-Городецкая Мария Васильевна – канд. мед. наук, зам. гл. врача по анестезиологии и реанимации, ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ, г. Москва, m.vatsyk@gmail.com

(✉) **Асланова Рэна Шохлат-кызы**, rena.aslan@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.10.2022;
одобрена после рецензирования 20.10.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616-056.257:577.121]-072.5:579.22:579.61
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-61-67>

Особенности таксономической принадлежности бактериальной ДНК крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения

Колесникова И.М.¹, Карбышев М.С.¹, Гапонов А.М.^{2,3}, Хуснутдинова Д.Р.⁴,
Григорьева Т.В.⁴, Камальдинова Д.Р.⁴, Борисенко О.В.¹, Макаров В.В.⁵, Юдин С.М.⁵,
Румянцев С.А.^{1,2}, Шестопапов А.В.^{1,2,6}

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

² Общество с ограниченной ответственностью «Центр молекулярного здоровья» (ООО «ЦМЗ»)
Россия, 117218, г. Москва, пр. Нахимовский, 32

³ Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР) им. В.А. Неговского
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, 25/2

⁴ Казанский (Приволжский) федеральный университет (КФУ)
Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18

⁵ Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью
Россия, 119121, г. Москва, Погодинская, 10/1

⁶ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
(НМИЦ ДГОИ) им. Дмитрия Рогачева
Россия, 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, 1, ГСП-7

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить таксономический состав микробиома крови у пациентов со следующими фенотипами: метаболически здоровым ожирением (МЗО) и метаболически нездоровым ожирением (МНЗО).

Материалы и методы. В исследование включены здоровые доноры без ожирения ($n = 116$) и пациенты с ожирением, которые были разделены на подгруппы с МЗО ($n = 36$) и МНЗО ($n = 53$). Из образцов венозной крови выделяли бактериальную ДНК и проводили метагеномное секвенирование варибельного участка $v3-v4$ гена 16S рРНК. Сравнивалась как частота выделения отдельных таксонов из образцов, так и доля, приходящаяся на эти таксоны в общем пуле бактериальной ДНК крови.

Результаты. Для пациентов с МНЗО было характерно увеличение доли *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Prevotellaceae*, которые являются основными представителями кишечной микробиоты, что может являться следствием большей кишечной проницаемости, характерной для таких пациентов. Вне зависимости от метаболического фенотипа у пациентов с ожирением из образцов крови чаще выделялась ДНК *Rhodobacteraceae*, *Streptomyces*, *Leuconostocaceae* и *Burkholderiaceae*. При МЗО также чаще обнаруживалась в крови ДНК *Nocardioidaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Hyphomicrobiaceae* и *Gaiellaceae*, а у пациентов с МНЗО – *S24-7*, *Nocardiaceae* и *Helicobacteraceae*. Многие представители этих семейств являются обитателями почв и вод, что может свидетельствовать об усилении проницаемости кожного барьера у пациентов с ожирением. Также большая представленность *Helicobacteraceae* у пациентов с МНЗО может указывать на усиление транслокации из желудка.

Заключение. Ожирение приводит к выраженным изменениям в таксономическом составе микробиома крови, при этом характер изменений зависит от метаболического фенотипа ожирения и проницаемости внешних барьеров.

✉ Колесникова Ирина Максимовна, ir.max.kolesnikova@gmail.com

Ключевые слова: микробиом крови, бактериальная ДНК крови, ожирение, метаболически здоровое ожирение, метаболически нездоровое ожирение

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках договора № 0373100122119000041 по проекту «Создание банка биообразцов сыворотки крови и фекалий от здоровых доноров и пациентов с ожирением, метаболическим синдромом, сахарным диабетом II типа, нарушением мукозального барьера желудочно-кишечного тракта с целью выявления кандидатных видонеспецифических медиаторов систем quorum sensing микробиоты человека, модулирующих эндокринную и метаболическую функцию жировой ткани».

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 186 от 26.06.2019) и РостГМУ (протокол № 20/19 от 12.12.2019).

Для цитирования: Колесникова И.М., Карбышев М.С., Гапонов А.М., Хуснутдинова Д.Р., Григорьева Т.В., Камальдинова Д.Р., Борисенко О.В., Макаров В.В., Юдин С.М., Румянцев С.А., Шестопалов А.В. Особенности таксономической принадлежности бактериальной ДНК крови у пациентов с различными метаболическими фенотипами ожирения *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):61–67. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-61-67>.

Features of bacterial DNA taxonomy in blood of patients with various metabolic phenotypes of obesity

Kolesnikova I.M.¹, Karbyshev M.S.¹, Gaponov A.M.^{2,3}, Khusnutdinova D.R.⁴, Grigoryeva T.V.⁴, Kamaldinova D.R.⁴, Borisenko O.V.¹, Makarov V.V.⁵, Yudin S.M.⁵, Roumiantsev S.A.^{1,2}, Shestopalov A.V.^{1,2,6}

¹ Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation

² Center for Molecular Health
32, Nakhimovsky Av., Moscow, 117218, Russian Federation

³ V.A. Negovsky Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology
25/2, Petrovka Str., Moscow, 107031, Russian Federation

⁴ Kazan (Volga Region) Federal University
18, Kremlyovskaya Str., Kazan, 420008, Russian Federation

⁵ Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks
10/1, Pogodinskaya Str., Moscow, 119121, Russian Federation

⁷ Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology
1, Samory Mashela Str., Moscow, 117997, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the blood microbiome taxonomy in patients with metabolically healthy obesity (MHO) and metabolically unhealthy obesity (MUHO).

Materials and methods. The study included healthy donors without obesity ($n = 116$) and obese patients who were divided into subgroups with MHO ($n = 36$) and MUHO ($n = 53$). Bacterial DNA isolated from blood samples was subject to metagenomic sequencing of the v3–v4 variable region in the 16S rRNA gene. We compared the

frequency of isolating certain taxa from the samples and the proportion of these taxa in the total pool of bacterial DNA in the blood.

Results. MUHO patients showed an increase in *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, and *Prevotellaceae*, which are the main taxa in gut microbiota. This may indicate greater intestinal permeability in such patients. Obese patients, regardless of the metabolic phenotype of obesity, more often had *Rhodobacteraceae*, *Streptomyetaceae*, *Leuconostocaceae*, and *Burkholderiaceae* DNA in their blood. *Nocardioideae*, *Flavobacteriaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, and *Gaiellaceae* DNA were more frequently present in the blood microbiome of patients with MHO, whereas MUHO patients more often had *S24-7*, *Nocardiaceae*, and *Helicobacteraceae* DNA in their blood. Many members of these families inhabit soil and water, which may indicate increased skin barrier permeability in obese patients. Additionally, a higher number of *Helicobacteraceae*-positive blood samples in the MUHO patient group may indicate increased translocation from the stomach.

Conclusion. Obesity is accompanied by changes in the taxonomic composition of the blood microbiome. Moreover, the nature of the changes depends on the metabolic phenotype of obesity and the permeability of external barriers.

Keywords: blood microbiome, bacterial DNA in blood, obesity, metabolically healthy obesity, metabolically unhealthy 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 carried out under the contract No. 0373100122119000041 within the project “Creating a biobank of blood serum and stool samples obtained from healthy donors and patients with obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes, and intestinal mucosal barrier dysfunction to reveal candidate species-non-specific mediators of quorum sensing systems in human gut microbiota, modulating endocrine and metabolic function of the adipose tissue”.

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 Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol No.186 of 26.06.2019) and Rostov State Medical University (Protocol No. 20/19 of 12.12.2019).

For citation: Kolesnikova I.M., Karbyshev M.S., Gaponov A.M., Khusnutdinova D.R., Grigoryeva T.V., Kamaldinova D.R., Borisenko O.V., Makarov V.V., Yudin S.M., Roumiantsev S.A., Shestopalov A.V. Features of bacterial DNA taxonomy in blood of patients with various metabolic phenotypes of obesity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):61–67. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-61-67>.

ВВЕДЕНИЕ

С начала XX в. и развития технологий секвенирования ДНК появились работы, демонстрирующие наличие бактериальной ДНК, кодирующей 16S рРНК, в образцах крови как здоровых людей, так и при различных патологиях [1–3]. На сегодняшний день наличие у человека микробиома крови не вызывает сомнений, однако его роль патологии остается неясной. Основным источником микробной ДНК в крови является бактериальная транслокация из кишечника и, в меньшей степени, из внекишечных микробиомов [3].

При ожирении наблюдается снижение разнообразия кишечной микробиоты по сравнению со здоровыми донорами, а индекс массы тела (ИМТ) отрицательно коррелирует с общим количеством микробной ДНК в кишечнике [4, 5]. При этом у лиц с ожирением наблюдается увеличение разнообразия микробиома крови [6]. Метаболические на-

рушения ассоциированы с увеличением кишечной проницаемости вследствие как «внутренних» (например, гипергликемия), так и «внешних» (изменение микробиома кишечника, присутствие в диете избыточного количества углеводов и(или) жиров) причин [7]. Ожирение, однако, не всегда приводит к развитию метаболических нарушений, в связи с чем выделяют метаболически здоровое ожирение (МЗО) и метаболически нездоровое ожирение (МНЗО) [8]. На сегодняшний день отсутствуют работы, демонстрирующие различия в таксономическом составе микробиома крови в зависимости от метаболического фенотипа ожирения, что стало целью нашей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было проведено когортное одномоментное исследование в период 2018–2020 гг. на базе Центра цифровой и трансляционной биомедицины ООО «Центр молекулярного здоровья», кафедры внутрен-

них болезней № 3, ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России и ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». В исследование включены две группы: контрольная группа и пациенты с ожирением. В контрольную группу были включены 116 здоровых доноров (ИМТ 18,5–24,9 кг/м²) при отсутствии метаболических нарушений и артериальной гипертензии. Критериями отбора в группу пациентов с ожирением являлись: ИМТ ≥ 30 кг/м² и окружность талии более 102 см у мужчин или 88 см у женщин. В соответствии с критериями NCEP-АТР III пациентов с ожирением разделили по метаболическому фенотипу на группу с МЗО ($n = 36$) и с МНЗО ($n = 53$). Ожирение считалось метаболически нездоровым, если для пациента были характерны три и более критерия: 1) объем талии (>102 см у мужчин; >88 см у женщин); 2) триглицериды сыворотки ($\geq 1,7$ ммоль/л); 3) холестерол ЛПВП ($<1,03$ ммоль/л у мужчин; $<1,29$ ммоль/л у женщин); 4) артериальное давление (130 на 85 мм рт. ст.); 5) глюкоза натощак ($\geq 6,1$ ммоль/л) [9].

У всех исследуемых лиц проводился отбор венозной крови с последующим выделением микробной ДНК из образцов в соответствии с протоколом производителя (QIAamp BiOstic Bacterimia DNA Kit, Qiagen, Германия). Секвенирование вариабельного участка v3–v4 гена 16S рРНК проводили на платформе Illumina MiSeq (США) согласно рекомендациям производителя. Полученные последовательности генов 16S рРНК («риды») были проанализированы с помощью программного обеспечения QIIME (версия 1.9.1) с использованием референсной базы данных Greengenes (v. 13.8) с 97%-м порогом сходства между последовательностями. Данные представленности таксонов в общем пуле ридов указаны в долях (0–1), которые были рассчитаны на основе количества картированных ридов для каждого таксона. Кроме того, анализировалась частота выявления ДНК из образцов крови в каждой из исследуемых групп (%).

Статистический анализ проводился на платформе MedCalc® Statistical Software (MedCalc Software Ltd., Belgium). Учитывая отсутствие нормального распределения в долях отдельных таксонов в общем пуле бактериальной ДНК крови, данные представлены как медиана и интерквартильный размах $Me [Q_{25}–Q_{75}]$. Сравнительный анализ массивов данных проводили с использованием критерия Краскела – Уоллиса. Для установления различий в частоте встречаемости таксонов у пациентов разных групп использовался критерий согласия Пирсона (χ^2). Все различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Был проанализирован таксономический состав микробиома крови на уровне семейств, которые выделялись более чем у 25% пациентов хотя бы одной из исследуемых групп. Выбор семейств в качестве исследуемого таксономического уровня был обусловлен тем, что, с одной стороны, обеспечивал достаточно подробное описание микробиома крови, а с другой стороны, включал относительно небольшое число неидентифицированных таксонов. Полученные данные сравнивали по частоте выделения семейств из образцов крови (%) и по доле каждого таксона в общем пуле бактериальной ДНК крови.

Основными семействами микробиома крови были выявлены *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Prevotellaceae*, *Bacteroidaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Staphylococcaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Micrococcaceae*, *Propionibacteriaceae*. ДНК представителей каждого из этих семейств выделялась более чем у 75% пациентов и занимала более 0,02 от общего пула бактериальной ДНК крови. Суммарно на долю этих семейств приходилось 0,548 [0,417–0,619] от микробной ДНК крови.

Для пациентов с МЗО и МНЗО были характерны специфические изменения микробиома крови, проявляющиеся как в изменение доли отдельных семейств в общем пуле бактериальной ДНК, так и в частоте выделения отдельных таксонов (таблица).

Большинство изменений в микробиоме крови у пациентов с МЗО и МНЗО отмечены с увеличением частоты выделения ДНК отдельных семейств из образцов крови, что в ряде случаев повлекло за собой повышение доли этих таксонов в общем пуле бактериальной ДНК крови. Вне зависимости от метаболического фенотипа у пациентов с ожирением чаще выделялась ДНК семейств *Rhodobacteraceae*, *Streptomyetaceae*, *Leuconostocaceae* и *Burkholderiaceae*. У лиц с МЗО также в крови обнаруживалась ДНК *Nocardiodaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Hyphomicrobiaceae* и *Gaiellaceae*, а у пациентов с МНЗО – *S24-7*, *Nocardiaceae* и *Helicobacteraceae*. При этом для пациентов с МНЗО было характерно большее содержание *Lachnospiraceae* и *Prevotellaceae* по сравнению с группой 1 и *Ruminococcaceae* по сравнению с пациентами с МЗО, несмотря на схожую частоту выделения этих семейств из образцов крови каждой исследуемой группы. На долю этих таксонов у здоровых доноров и пациентов с МЗО приходилось около $\frac{1}{3}$ общего пула бактериальной ДНК крови, тогда как при МНЗО эти семейства занимали практически $\frac{1}{3}$.

Т а б л и ц а

Выявленные различия в содержании ДНК отдельных семейств в крови при МЗО и МНЗО, %, Me [Q_{25} – Q_{75}]			
Семейство	Контрольная группа	Пациенты с МЗО	Пациенты с МНЗО
<i>Lachnospiraceae</i>	97,41% 0,103 [0,044–0,160]	97,22% 0,092 [0,033–0,211]	98,11% 0,152 [0,092–0,207]*
<i>Ruminococcaceae</i>	96,55% 0,083 [0,033–0,152]	100,00% 0,070 [0,038–0,114]	98,11% 0,117 [0,059–0,139]†
<i>Prevotellaceae</i>	86,21% 0,029 [0,012–0,065]	94,44% 0,036 [0,011–0,103]	94,34% 0,049 [0,025–0,115]*
<i>Staphylococcaceae</i>	93,97% 0,023 [0,009–0,053]	97,22% 0,018 [0,007–0,047]	88,68% 0,009 [0,004–0,027]*†
<i>Caulobacteraceae</i>	70,69% 0,010 [0,000–0,029]	58,33% 0,004 [0,000–0,024]	62,26% 0,003 [0,000–0,012]*
<i>Rhodobacteraceae</i>	39,66% 0,000 [0,000–0,008]	55,56%* 0,002 [0,000–0,012]	64,15%* 0,005 [0,000–0,011]*
<i>Sphingomonadaceae</i>	75,86% 0,022 [0,002–0,052]	75,00% 0,009 [0,000–0,060]	75,47% 0,005 [0,001–0,015]*†
<i>S24-7</i>	31,90% 0,000 [0,000–0,002]	47,22% 0,000 [0,000–0,007]*	69,81%* 0,005 [0,000–0,018]*†
<i>Nocardiaceae</i>	35,34% 0,000 [0,000–0,006]	50,00% 0,001 [0,000–0,010]	52,83%* 0,001 [0,000–0,010]
<i>Nocardioidaceae</i>	31,03% 0,000 [0,000–0,003]	50,00%* 0,000 [0,000–0,007]	41,55% 0,000 [0,000–0,007]
<i>Streptomycetaceae</i>	15,52% 0,000 [0,000–0,000]	33,33%* 0,000 [0,000–0,005]*	33,96%* 0,000 [0,000–0,003]*
<i>Flavobacteriaceae</i>	25,00% 0,000 [0,000–0,000]	52,78%* 0,001 [0,000–0,014]*	26,42%† 0,000 [0,000–0,001]†
<i>Helicobacteraceae</i>	12,93% 0,000 [0,000–0,000]	16,67% 0,000 [0,000–0,000]	26,42%* 0,000 [0,000–0,001]
<i>Burkholderiaceae</i>	35,34% 0,000 [0,000–0,004]	55,56%* 0,001 [0,000–0,006]	54,72%* 0,001 [0,000–0,007]
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	16,38% 0,000 [0,000–0,000]	41,67%* 0,000 [0,000–0,005]*	24,53% 0,000 [0,000–0,000]†
<i>Bradyrhizobiaceae</i>	44,83% 0,000 [0,000–0,008]	33,33% 0,000 [0,000–0,005]	22,64%* 0,000 [0,000–0,000]*
[<i>Barnesiellaceae</i>]	38,79% 0,000 [0,000–0,011]	11,11%* 0,000 [0,000–0,000]*	35,81%† 0,000 [0,000–0,009]†
<i>Leuconostocaceae</i>	9,48% 0,000 [0,000–0,000]	27,78%* 0,000 [0,000–0,001]*	32,08%* 0,000 [0,000–0,002]*
<i>Gaiellaceae</i>	15,52% 0,000 [0,000–0,000]	30,56%* 0,000 [0,000–0,002]	20,75% 0,000 [0,000–0,000]

* различия достоверны по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$), † различия достоверны по сравнению с пациентами с МЗО ($p \leq 0,05$).

Кроме того, и при МЗО и при МНЗО наблюдалось снижение доли ряда семейств в микробиоме крови. У пациентов с МЗО из крови реже выделялась ДНК [*Barnesiellaceae*] и *Verrucomicrobiaceae*. При МНЗО было снижено содержание *Staphylococcaceae*, *Caulobacteraceae* и *Sphingomonadaceae* по сравнению с группой 1, несмотря на схожую частоту выделения ДНК этих таксонов из образцов крови, а также у таких пациентов реже обнаруживалась ДНК *Bradyrhizobiaceae*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные указывают, что ожирение приводит к значительным изменениям в микробиоме крови на уровне семейств, причем особенности микробиома крови зависят от метаболического фенотипа ожирения. При этом на уровне филумов таксономический состав микробиома крови схож у здоровых доноров и пациентов с ожирением [6].

И для пациентов с МЗО, и для пациентов с МНЗО был характерен спектр таксонов, ДНК которых выделялась из образцов крови этих пациентов чаще, чем у контрольной группы. Интересно, что представители *Rhodobacteraceae*, *Streptomycetaceae*, *Burkholderiaceae*, *Nocardioidaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Gaiellaceae* и *Nocardiaceae*, для которых было отмечено увеличение частоты выявления в образцах крови пациентов с МЗО и МНЗО,

в основном являются обитателями почв и вод. Подобная среда обитания предполагает, что транслокация ДНК этих таксонов в кровь может происходить с поверхности кожи или дыхательных путей. Для пациентов с ожирением характерна большая площадь поверхности тела, что может вызывать усиление чрескожной транслокации микробной ДНК. Кроме того, ожирение вызывает изменения физиологии кожи и приводит к повышенной проницаемости кожного барьера [10]. По-видимому, ожирение вне зависимости от его метаболического фенотипа сопровождается усилением транслокации бактериальной ДНК с поверхности кожи.

У пациентов с МНЗО было отмечено увеличение доли семейств *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Prevotellaceae* в общем пуле бактериальной ДНК крови. Представители данных семейств являются анаэробами и основными представителями кишечной флоры. МНЗО связано с наличием вялотекущего системного воспаления и большей проницаемостью кишечной стенки [7, 8]. Таким образом, можно предполагать, что увеличение доли *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* и *Prevotellaceae* при МНЗО является следствием большей транслокации микробной ДНК из кишечника, характерной для таких пациентов.

Для пациентов с МНЗО также было характерно увеличение частоты выявления ДНК семейства *Helicobacteraceae*. Так как основным представителем

этого семейства является *Helicobacter pylori*, можно предполагать, что МНЗО также связано с увеличением проницаемости стенки желудка для бактериальной ДНК. Таким образом, для МНЗО, по-видимому, характерно усиление микробной транслокации как из кишечных, так и некишечных источников, что может обуславливаться нарушением барьеров на фоне хронического воспаления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ожирение вне зависимости от его метаболического фенотипа сопровождается изменениями в таксономическом составе бактериальной ДНК крови. И для МЗО, и для МНЗО характерно увеличение частоты выделения ДНК семейств – обитателей почв и вод, что может указывать на большую транслокацию микробной ДНК с поверхности кожи. При этом у пациентов с МНЗО также отмечается увеличение содержания ДНК представителей желудочной и кишечной флоры в крови, что может свидетельствовать о большей проницаемости этих барьеров для бактериальной ДНК. Таким образом, изменения в таксономическом составе микробиома крови могут указывать на проницаемость внешних барьеров организма.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Nikkari S., McLaughlin I.J., Bi W., Dodge D.E., Relman D.A. Does blood of healthy subjects contain bacterial ribosomal DNA? *J. Clin. Microbiol.* 2001;39(5):1956–1959. DOI: 10.1128/JCM.39.5.1956-1959.2001.
2. Федоров Н.А., Елов А.А., Жибурт Е.Б., Суханов Ю.С., Круглов А.Н., Стоногин А.В. и др. Частота обнаружения бактериальной ДНК в цельной крови доноров. *Доклады Академии наук.* 2005;402(6):841–843. DOI: 10.1007/s10630-005-0085-у.
3. Castillo D.J., Rifkin R.F., Cowan D.A., Potgieter M. The healthy human blood microbiome: Fact or fiction? *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019;9:1–12. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00148.
4. Гапонов А.М., Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Набока Ю.Л., Маркелова М.И., Синягина М.Н. и др. Особенности микробиома толстой кишки у пациентов с ожирением при его различных фенотипах (оригинальная статья). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2021;98(2):144–155. DOI: 10.36233/0372-9311-66.
5. Котрова А.Д., Шишкин А.Н., Воропаева Л.С., Лавренова Н.С., Слепых Л.А., Лукашенко М.В. и др. Гендерная оценка микробиома кишечника у больных с ожирением. *Клиническая гастроэнтерология.* 2021;(10):91–99. DOI: 10.31146/1682-8658-esg-194-10-91-99.
6. Шестопалов А.В., Колесникова И.М., Гапонов А.М., Григорьева Т.В., Хуснутдинова Д.Р., Камальдинова Д.Р. и др. Влияние метаболического типа ожирения на микробиом крови. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2022;25(2):35–41. DOI: 10.29296/25877313-2022-02-06.
7. Massier L., Blüher M., Kovacs P., Chakaroun R.M. Impaired intestinal barrier and tissue bacteria: pathomechanisms for metabolic diseases. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2021;12(March):1–18. DOI: 10.3389/fendo.2021.616506.
8. Iacobini C., Pugliese G., Blasetti Fantauzzi C., Federici M., Menini S. Metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity. *Metabolism. Elsevier Inc.* 2019;92:51–60. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.11.009.
9. Phillips C.M. Metabolically healthy obesity: Definitions, determinants and clinical implications. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2013;14(3):219–227. DOI: 10.1007/s11154-013-9252-x.
10. Hirt P.A., Castillo D.E., Yosipovitch G., Keri J.E. Skin changes in the obese patient. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2019;81(5):1037–1057. DOI: 10.1016/j.jaad.2018.12.070.

Вклад авторов

Колесникова И.М., Карбышев М.С., Хуснутдинова Д.Р., Камальдинова Д.Р., Борисенко О.В. – анализ и интерпретация данных. Гапонов А.М., Григорьева Т.В., Макаров В.В. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Юдин С.М. – разработка концепции и дизайна, окончательное утверждение для публикации рукописи. Румянцев С.А., Шестопалов А.В. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Колесникова Ирина Максимовна – ст. преподаватель, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, ir.max.kolesnikova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0269-0343>

Карбышев Михаил Сергеевич – канд. биол. наук, доцент, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, karbyshevms@biocad.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5969-3874>

Гапонов Андрей Михайлович – канд. мед. наук, зав. отделом, ООО «ЦМЗ», вед. науч. сотрудник, ФНКЦ РР, г. Москва, zorba@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3429-1294>

Хуснутдинова Диляра Рашидовна – мл. науч. сотрудник, КФУ, г. Казань, tatabio@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9982-9059>

Григорьева Татьяна Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, КФУ, г. Казань, tatabio@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5314-7012>

Камальдинова Диляра Равильевна – науч. сотрудник, КФУ, г. Казань, tatabio@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9663-4408>

Борисенко Ольга Владимировна – канд. мед. наук, доцент, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, borisenko_olga07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8007-6045>

Макаров Валентин Владимирович – канд. биол. наук, зав. отделом, ЦСП, г. Москва, makarov@cspmz.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9495-0266>

Юдин Сергей Михайлович – д-р мед. наук, профессор, генеральный директор ЦСП, г. Москва, yudin2005@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>

Румянцев Сергей Александрович – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, директор ООО «ЦМЗ»; зав. кафедрой онкологии, гематологии и лучевой терапии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, s_roumiantsev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7418-0222>

Шестопалов Александр Вячеславович – д-р мед. наук, профессор, зам. директора, ООО «ЦМЗ»; директор управления последипломного образования, ординатуры, аспирантуры, НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева; зав. кафедрой биохимии и молекулярной биологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, al-shest@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5969-3874>

(✉) **Колесникова Ирина Максимовна**, ir.max.kolesnikova@gmail.com

Поступила в редакцию 27.07.2022;
одобрена после рецензирования 29.10.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.71-006-074:615.38
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-68-77>

Галектин-3 в сыворотке крови больных опухолями костей

Кушлинский Н.Е.^{1,4}, Ковалева О.В.¹, Прищеп П.Л.¹, Зыбина Н.Н.², Юришич В.³,
Алферов А.А.^{1,4}, Кузьмин Ю.Б.^{1,4}, Горячева И.О.¹, Кузнецов И.Н.^{1,4}, Булычева И.В.¹,
Варфоломеева С.Р.¹, Сушенцов Е.А.¹, Герштейн Е.С.^{1,4}, Рогожин Д.В.¹, Янушевич О.О.⁴,
Стилиди И.С.¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии им. Н.Н. Блохина
Россия, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 24

² Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины (ВЦЭРМ) им. А.М. Никифорова МЧС России
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 4/2

³ Университет Крагуеваца
Сербия, 34000, г. Крагуевац, ул. Светозара Марковича, 69

⁴ Московский государственный медико-стоматологический университет (МГМСУ) им. А.И. Евдокимова
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

РЕЗЮМЕ

Введение. Ввиду многогранности онкологических заболеваний функциональная роль галектина-3 достаточно противоречива, однако для многих типов новообразований маркер играет роль промотора опухолевого роста.

Цель исследования – сравнительный анализ уровней галектина-3 в сыворотке крови здоровых доноров, больных доброкачественными, пограничными и злокачественными новообразованиями костей в двух возрастных группах до и старше 18 лет с учетом основных клинко-морфологических характеристик заболевания и прогноза.

Материалы и методы. В исследование включен 201 пациент с доброкачественными, пограничными (гигантоклеточные опухоли, «локально агрессивные» опухоли), злокачественными новообразованиями костей и 31 здоровый донор. Концентрацию галектина-3 определяли в сыворотке крови до лечения наборами реактивов для прямого иммуноферментного анализа Human Galectin-3 (R&D, США).

Результаты. Показано, что содержание галектина-3 в сыворотке крови больных доброкачественными и злокачественными опухолями костей статистически значимо выше, чем в контрольной группе, как в возрасте до, так и старше 18 лет. У пациентов с пограничными опухолями костей отмечена тенденция к увеличению концентрации галектина-3 по сравнению с контролем. ROC-анализ для галектина-3 у больных саркомами костей показал, что площадь под ROC-кривой составила 0,795 ($p < 0,0001$) в группе пациентов в возрасте старше 18 лет и 0,868 ($p = 0,0008$) в группе пациентов в возрасте до 18 лет. Для злокачественных новообразований костей у больных в возрасте старше 18 лет чувствительность данного метода составила 71,3%, специфичность 71,43% (пороговый уровень 8,09 нг/мл; $p < 0,0001$), а у пациентов в возрасте младше 18 лет чувствительность этого метода составила 80%, специфичность 90% при пороговом уровне 5,49 нг/мл ($p < 0,001$). В обеих возрастных группах не найдено значимых ассоциаций содержания сывороточного галектина-3 с клинко-морфологическими характеристиками новообразований костей, однако следует отметить, что наибольшая концентрация маркера обнаружена при хордомиомах и на более ранних стадиях заболевания. У больных хондросаркомой и остеосаркомой старше 18 лет не выявлено связи маркера с прогнозом заболевания.

Заключение. Повышение содержания галектина-3 в сыворотке крови наблюдалось во всех возрастных группах пациентов как с доброкачественными, так и злокачественными новообразованиями костей, однако

чувствительность и специфичность теста по данным ROC-анализа недостаточны для использования данного маркера для диагностики опухолей костей.

Ключевые слова: опухоли костей, галектин-3, сыворотка крови, прогноз

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (протокол № 5 от 02.10.2022).

Для цитирования: Кушлинский Н.Е., Ковалева О.В., Прищеп П.Л., Зыбина Н.Н., Юришич В., Алферов А.А., Кузьмин Ю.Б., Горячева И.О., Кузнецов И.Н., Булычева И.В., Варфоломеева С.Р., Сушенцов Е.А., Герштейн Е.С., Рогожин Д.В., Янушевич О.О., Стилиди И.С. Галектин-3 в сыворотке крови больных опухолями костей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):68–77. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-68-77>.

Galectin-3 in the blood serum of patients with bone tumors

Kushlinskii N.E.^{1,4}, Kovaleva O.V.¹, Prishchep P.L.¹, Zyбина N.N.², Jurisic V.³, Alferov A.A.^{1,4}, Kuzmin Yu.B.^{1,4}, Goryacheva I.O.¹, Kuznetsov I.N.^{1,4}, Bulytcheva I.V.¹, Varfolomeeva S.R.¹, Sushentsov E.A.¹, Gershtein E.S.^{1,4}, Rogozhin D.V.¹, Yanushevich O.O.⁴, Stilidi I.S.¹

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
24, Kashirskoe Shosse Str., Moscow, 115522, Russian Federation

² A.M. Nikiforov All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine EMERCOM of Russia
4 / 2, Lebedeva Str., St. Petersburg, 194044, Russian Federation

³ University of Kragujevac
69, Svetozara Markovicha Str., Kragujevac, 34000, Serbia

⁴ A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
20/1, Delegatskaya Str., Moscow, 127473, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Due to diversity of cancer, the functional role of galectin-3 is rather controversial; however, for many types of neoplasms, the marker acts as a tumor growth promoter.

Aim. To perform a comparative analysis of galectin-3 levels in the blood serum of healthy individuals and patients with benign, borderline, and malignant bone tumors divided into two age groups (under and over 18 years of age) based on the main clinical and morphological characteristics of the disease and prognosis.

Materials and methods. The study included 201 patients with benign, borderline (giant cell tumors, locally aggressive tumors), and malignant bone tumors and 31 healthy donors. The galectin-3 level was determined in the blood serum before treatment with Human Galectin-3 ELISA kit (R&D, USA).

Results. The level of galectin-3 in the blood serum of patients with benign and malignant bone tumors was statistically significantly higher than that in the control group of patients both under and over 18 years. In patients with borderline bone tumors, a trend toward an increase in the galectin-3 concentration compared with the controls was revealed. The ROC analysis for galectin-3 in patients with bone sarcomas showed that the area under the curve (AUC) comprised 0.795 ($p < 0.0001$) in the group of patients over 18 years and 0.868 ($p = 0.0008$) in the individuals under 18 years. For malignant bone tumors in patients over 18 years, the sensitivity of this method was 71.3%, and specificity was 71.43% (optimal cut-off level was 8.09 ng / ml; $p < 0.0001$), while in patients under 18 years, the sensitivity of the method was 80%, and specificity was 90% (optimal cut-off level was 5.49 ng / ml; $p < 0.001$). No significant associations between the serum galectin-3 level and the clinical and morphological characteristics of bone neoplasms were found both in patients under and over 18 years of age. However, it could be noted that the

highest concentration of the marker was found in chordomas and at earlier stages of the disease. In patients over 18 years with chondrosarcoma and osteosarcoma, no correlation between the marker and the disease prognosis was found.

Conclusion. An increase in the galectin-3 level in the blood serum was observed in all age groups of patients with both benign and malignant bone tumors. However, the sensitivity and specificity of the method assessed by the ROC analysis do not allow to apply this marker for the diagnosis of bone tumors.

Keywords: bone tumors, galectin-3, blood serum, 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 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 N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Protocol No. 5 of 02.10.2022).

For citation: Kushlinskii N.E., Kovaleva O.V., Prishchep P.L., Zybina N.N., Jurisic V., Alferov A.A., Kuzmin Yu.B., Goryacheva I.O., Kuznetsov I.N., Bulytcheva I.V., Varfolomeeva S.R., Sushentsov E.A., Gershtein E.S., Rogozhin D.V., Yanushevich O.O., Stilidi I.S. Galectin-3 in the blood serum of patients with bone tumors. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):68–77. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-68-77>.

ВВЕДЕНИЕ

Галектины относятся к группе галактозид-связывающих лектинов, осуществляющих свою специфическую функцию как внутри- так и внеклеточно, выступая в качестве триггера активации секреции цитокинов, клеточной миграции, пролиферации и апоптоза. Внеклеточно галектины обеспечивают межклеточное взаимодействие и связь клеток с межклеточным матриксом. Связывание галектинов с гликанами (олигосахаридами) на внутриклеточной поверхности мембраны обеспечивает их участие в сшивании макромолекул и формировании сигнальных путей. Многообразные функции галектинов обуславливают интерес исследователей к выявлению их роли в патогенезе различных заболеваний и патологических состояний.

Из 15 известных в настоящее время галектинов пристальный интерес исследователей привлекает галектин-3 [1], что обусловлено его участием в процессе фиброобразования тканей и возможностью его использования в качестве маркера прогрессирования сердечной недостаточности. Также галектин-3 достаточно широко изучен при различных патологических процессах, таких как воспаление [2], фиброз, заболевания сердца [3, 4], почек [5], сахарный диабет [6], вирусная инфекция [7], аутоиммунные заболевания [8], нейродегенеративные [9] и онкологические заболевания [10].

В контексте онкологических заболеваний ввиду их многогранности функциональная роль галектина-3 достаточно противоречива. С одной стороны,

галектин-3 для многих типов новообразований играет роль промотора опухолевого роста. Повышение уровня экспрессии данного белка ассоциировано с пролиферацией и инвазией клеток рака поджелудочной железы [11]. Экспрессия галектина-3 как на уровне мРНК, так и на уровне белка повышена в злокачественных опухолях печени по сравнению с нормальной тканью [12]. Гиперэкспрессия галектина-3 также наблюдается при диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме и ассоциирована с поздней стадией и худшим прогнозом при данном типе заболевания [13]. Повышенная экспрессия галектина-3 коррелирует с неблагоприятным прогнозом у пациентов с назофарингеальной карциномой [14] и колоректальным раком [15]. В опухолях желудка также обнаружена повышенная экспрессия галектина-3 [16], а его гиперэкспрессия и ядерная локализация коррелируют с перитонеальным метастазированием при данном типе опухолей [17]. Гиперэкспрессия галектина-3 приводила к усилению подвижности и инвазии опухолевых клеток при раке легкого [18].

С другой стороны, галектин-3 при некоторых типах опухолей может функционировать в качестве опухолевого супрессора. Так, снижение его экспрессии ассоциировано с более злокачественным фенотипом клеток рака молочной железы и эндометрия [19]. Для рака простаты наблюдали градиентное снижение экспрессии галектина-3 от нормальной и условно нормальной ткани к опухолевой [20]. Подавление экспрессии данного белка с помощью siRNA снижало миграционную и инвазивную способность

клеток рака простаты, а также их пролиферацию и способность к колониеобразованию [21].

Несмотря на то, что экспрессия галектина-3 изучена при большинстве типов солидных опухолей, до сих пор остается неизвестной его функциональная роль при опухолях костей. Сообщают о более высоком уровне галектина-3 в сыворотке крови у больных остеосаркомой, при этом экспрессия галектина-3 в опухоли была выше по сравнению с окружающей нормальной тканью и коррелировала со стадией заболевания и метастазированием. Авторы полагают, что галектин-3 в перспективе может служить прогностическим маркером при остеосаркоме [22]. Показано, что подавление экспрессии галектина-3 в клетках остеосаркомы *in vitro* приводит к снижению их злокачественного потенциала [23]. Некоторые авторы полагают, что галектин-3 может служить маркером для дифференциальной диагностики хондром и миксоидных хондросарком. Для других типов опухолей костей данных по ассоциации содержания тканевой и растворимой формы галектина-3 практически не представлено.

Цель данного исследования – сравнительный анализ уровней галектина-3 в сыворотке крови здоровых доноров, больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями костей с учетом основных клинико-морфологических характеристик заболевания и прогноза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включен 201 пациент с доброкачественными, пограничными и злокачественными новообразованиями костей, 36 из которых в возрасте до 18 лет. Группу контроля составил 31 здоровый донор, 10 из которых были в возрасте до 18 лет. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием пациентов и здоровых доноров, соответствуют этическим стандартам этического комитета организации и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из участников, включенных в исследование, получено информированное добровольное согласие. Все пациенты проходили обследование и лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, и клинико-рентгенологический диагноз новообразования был подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей костей (ВОЗ, 2020). Данные о выборке здоровых доноров и больных новообразованиями костей представлены в табл. 1–3.

Таблица 1

Число наблюдений в обследованных группах, n (%)		
Показатель	Возраст до 18 лет	Возраст старше 18 лет
Контроль	10 (32,3%)	21 (67,7%)
Доброкачественные опухоли костей (ДОК)	11 (26,2%)	31 (73,8%)
Пограничные опухоли костей (ПОК)	–	19 (100%)
Злокачественные опухоли костей (ЗОК)	25 (17,9%)	115 (82,1%)

Таблица 2

Характеристика больных злокачественными опухолями костей в возрасте старше 18 лет, n (%)	
Показатель	Значение
Возраст, годы, Me (Q_{25} – Q_{75})	48 (34–57)
Пол:	
– мужской;	61 (53,1%)
– женский	54 (46,9%)
Гистология:	
– остеосаркома;	35 (30,5%)
– хондросаркома;	69 (60,0%)
– хордома;	6 (5,3%)
– саркома Юинга	5 (4,2%)
Стадия:	
– I;	37 (32,2%)
– II;	66 (57,4%)
– III–IV	12 (10,4%)
Степень дифференцировки опухоли (G):	
G1–G2;	64 (61,6%)
G3	40 (38,4%)
Размер опухоли (T):	
– T1;	24 (20,9%)
– T2;	84 (73,1%)
– T3–T4	7 (6,0%)
Наличие регионарных метастазов (N):	
– N0;	111 (96,6%)
– N1	4 (3,4)
Наличие отдаленных метастазов (M):	
– M0;	110 (95,7%)
– M1	5 (4,3%)
Тип кости:	
– губчатая/плоская;	54 (47,0%)
– трубчатая	61 (53,0%)
Локализация:	
– верхняя конечность;	21 (18,3%)
– грудная клетка/позвоночник;	9 (7,7%)
– таз;	42 (36,6%)
– нижняя конечность	43 (37,4%)

Таблица 3

Характеристика больных злокачественными опухолями костей в возрасте до 18 лет, n (%)	
Показатель	Значение
Возраст, годы, Me (Q_{25} – Q_{75})	12 (9–15)
Пол:	
– мужской;	12 (48%)
– женский	13 (52%)
Гистология:	
– остеосаркома;	17 (68%)
– хондросаркома;	1 (28%)
– саркома Юинга	7 (4%)

Окончание табл. 3

Показатель	Значение
Стадия:	
– I;	–
– II;	21 (84%)
– III–IV	4 (16%)
Степень дифференцировки опухоли (G):	
G1–G2;	1 (32%)
G3	17 (68%)
Размер опухоли (T):	
– T1;	–
– T2;	24 (96%)
– T3–T4	1 (4%)
Наличие регионарных метастазов (N):	
– N0;	25 (100%)
– N1	–
Наличие отдаленных метастазов (M):	
– M0;	21 (84%)
– M1	4 (16%)
Тип кости:	
– губчатая/плоская;	2 (8%)
– трубчатая	23 (92%)
Локализация:	
– верхняя конечность;	–
– грудная клетка/позвоночник;	2 (8%)
– таз;	1 (4%)
– нижняя конечность	22 (88%)

Концентрации галектина-3 определяли в сыворотке крови с помощью набора реактивов для прямого иммуноферментного анализа Human Galectin-3

(R&D, США) в соответствии с инструкциями производителя и выражали в нанограммах (нг) на 1 мл сыворотки крови.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prizm 9.4. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни и Краскала – Уоллиса. Данные представлены в виде абсолютных и относительных значений n (%), а также медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_{25}–Q_{75})$. Анализ общей выживаемости выполняли по методу Каплана – Мейера. Сравнение статистической значимости различий между показателями выживаемости проводили при помощи логарифмического рангового критерия. Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Провели анализ уровней галектина-3 в контрольной группе и у больных различными типами опухолей костей. Медиана содержания галектина-3 в сыворотке крови здоровых доноров в возрасте старше 18 лет составила 6,48 нг/мл и была статистически значимо ниже, чем у больных злокачественными опухолями костей соответствующей возрастной группы – 10,18 нг/мл, $p < 0,0001$ (табл. 4).

Таблица 4

Содержание галектина-3 у больных с новообразованиями костей с учетом возраста, нг/мл, $Me (Q_{25}–Q_{75})$				
Показатель	Возраст пациентов ≥ 18 лет	p	Возраст пациентов < 18 лет	p
Контроль (1)	6,48 (3,32–8,49)	–	4,15 (3,93–5,23)	–
Доброкачественные опухоли костей (2)	8,72 (6,53–11,45)	0,035 (1vs2)	7,85 (6,69–12,75)	0,001 (1vs2)
Пограничные опухоли костей (3)	8,88 (6,19–10,88)	0,077 (1vs3)	–	–
Злокачественные опухоли костей (4)	10,18 (7,52–12,55)	$< 0,0001$ (1vs4)	7,22 (5,92–11,35)	0,002 (1vs4)

Содержание галектина-3 в сыворотке крови больных доброкачественными и злокачественными опухолями статистически значимо выше, чем в контрольной группе, как у взрослых пациентов (старше 18 лет), так и у больных младшей возрастной группы (в возрасте до 18 лет) (см. табл. 4). В случае пограничных опухолей, диагностированных только у взрослых пациентов, также наблюдали тенденцию к увеличению содержания галектина-3 по сравнению с контролем.

Анализ информативности уровня галектина-3 как диагностического метода провели с помощью оценки его чувствительности и специфичности путем построения ROC-кривых и вычисления площади под ними (AUC). Результаты представлены на рис. 1.

Для злокачественных опухолей костей у больных ≥ 18 лет чувствительность данной методики составляет 71,3%, специфичность 71,4% (оптимальный пороговый уровень 8,09 нг/мл; $p < 0,0001$). У пациентов

< 18 лет чувствительность данной методики составляет 80%, специфичность 90% (оптимальный пороговый уровень 5,49 нг/мл; $p < 0,001$).

Далее провели анализ уровня галектина-3 в сыворотке крови в зависимости от основных клинико-морфологических характеристик заболевания для пациентов в возрасте ≥ 18 лет (табл. 5).

В возрастной группе ≥ 18 лет не выявлено значимых ассоциаций содержания галектина-3 в сыворотке крови с клинико-морфологическими характеристиками новообразований костей. Однако можно отметить, что наибольшее содержание галектина-3 выявили при хордомиомах и на более ранних стадиях заболевания. На следующем этапе исследования провели анализ уровня галектина-3 в сыворотке крови в зависимости от основных клинико-морфологических характеристик заболевания у пациентов в возрасте < 18 лет (табл. 6).

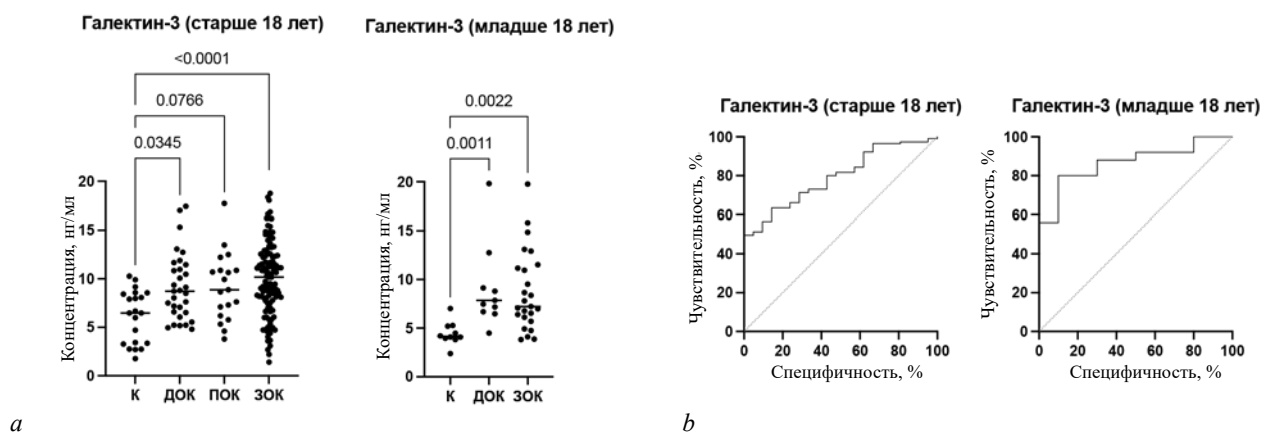


Рис. 1. Содержание галектина-3 в сыворотке крови больных доброкачественными, пограничными, злокачественными опухолями костей и здоровых доноров с учетом возраста: *a* – сравнительный анализ, *b* – ROC-анализ диагностической значимости (AUC 0,795 ($p < 0,0001$) в группе пациентов в возрасте ≥ 18 лет и AUC 0,868 ($p = 0,0008$) в группе < 18 лет)

Таблица 5

Содержание галектина-3 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей в возрасте ≥ 18 лет в зависимости от клинико-морфологических характеристик заболевания			
Показатель	Галектин-3 в сыворотке крови, нг/мл		
	Me	$Q_{25}-Q_{75}$	p
Возраст:			
– < 48 ;	9,15	6,66–11,6	0,084
– ≥ 48	10,66	8,2–13,65	
Пол:			
– мужской;	9,21	7,12–11,68	0,106
– женский	10,93	7,95–13,73	
Гистология:			
– остеосаркома (1);	10,18	7,00–11,81	0,06 (2vs3)
– хондросаркома (2);	9,5	7,49–12,34	
– хордома (3);	14,7	11,64–14,62	
– саркома Юинга (4)	9,09	5,88–14,32	
Стадия:			
– I;	10,76	7,99–13,34	>0,99
– II;	9,84	6,99–11,75	
– III–IV	8,99	6,51–12,36	
Степень дифференцировки опухоли (G):			
G1–G2;	10,25	8,13–12,52	0,43
G3	9,43	6,04–11,57	
Размер опухоли (T):			
– T1;	10,16	6,67–14,34	>0,99
– T2;	10,25	8,03–12,19	
– T3–T4	8,05	4,74–12,41	
Наличие регионарных метастазов (N):			
– N0;	10,31	7,74–12,55	0,51
– N1	7,64	4,52–14,5	
Наличие отдаленных метастазов (M):			
– M0;	10,25	7,51–12,55	0,96
– M1	9,28	7,36–13,69	
Тип кости:			
– губчатая/плоская;	10,67	8,18–12,75	0,28
– трубчатая	9,46	6,69–12,31	

Окончание табл. 5

Показатель	Галектин-3 в сыворотке крови, нг/мл		
	Me	$Q_{25}-Q_{75}$	p
Локализация:			
– верхняя конечность;	8,69	4,87–12,57	>0,99
– грудная клетка/позвоночник;	10,17	8,85–15,12	
– таз;	10,68	7,35–12,59	
– нижняя конечность	10,31	8,05–12,36	

Таблица 6

Содержание галектина-3 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей в возрасте младше 18 лет в зависимости от клинико-морфологических характеристик заболевания			
Показатель	Галектин-3 в сыворотке крови, нг/мл		
	Me	$Q_{25}-Q_{75}$	p
Возраст:			
– < 12 ;	7,07	6,13–9,53	0,42
– ≥ 12	9,67	4,89–15,1	
Пол:			
– мужской;	9,81	6,85–12,57	0,12
– женский	6,54	4,85–8,67	
Гистология:			
– остеосаркома (1);	8,38	6,06–12,32	>0,99 (1vs2) 0,65 (1vs3) >0,99 (2vs3)
– хондросаркома (2);	8,66	–	
– саркома Юинга (3)	6,99	4,76–7,81	
Стадия:			
– I (1);	–	–	>0,15 (2vs3)
– II (2);	6,99	5,32–11,24	
– III–IV (3)	9,92	8,02–13,94	
Степень дифференцировки опухоли (G):			
G1–G2;	4,11	–	–
G3	7,52	6,2–11,44	
Размер опухоли (T):			
– T1;	–	–	–
– T2;	7,15	8,81–11,44	
– T3–T4	7,81	–	

Окончание табл. 6

Показатель	Галектин-3 в сыворотке крови, нг/мл		
	Me	$Q_{25}-Q_{75}$	P
Наличие регионарных метастазов (N):			
– N0;	7,22	5,92–11,35	–
– N1	–	–	–
Наличие отдаленных метастазов (M):			
– M0;	6,99	5,32–11,24	0,15
– M1	9,92	8,02–13,94	
Тип кости:			
– губчатая/плоская;	6,76	5,7–7,81	0,60
– трубчатая	7,22	6,13–11,52	
Локализация:			
– верхняя конечность (1);			>0,99 (2vs3) >0,58 (2vs4) >0,99 (3vs4)
– грудная клетка/позвоночник (2);	–	–	
– таз (3);	5,92	5,7–6,13	
– нижняя конечность (4)	7,81	–	
	7,80	6,04–11,87	

В группе пациентов в возрасте младше 18 лет и в группе больных старше 18 лет не выявлено значимых ассоциаций с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания (см. табл. 5, 6).

На заключительном этапе исследования оценили прогностическую значимость галектина-3 в группах пациентов в возрасте старше 18 лет с наиболее часто встречающимися злокачественными новообразованиями костей – остеосаркомой и хондросаркомой (рис. 2).

Как видно из представленных данных, содержание галектина-3 в сыворотке крови не является прогностически значимым фактором при саркомах костей в общей группе больных злокачественными новообразованиями костей, а также, соответственно, в двух основных группах пациентов с костеобразующими (остеосаркома) и хрящеобразующими (хондросаркома) опухолями.

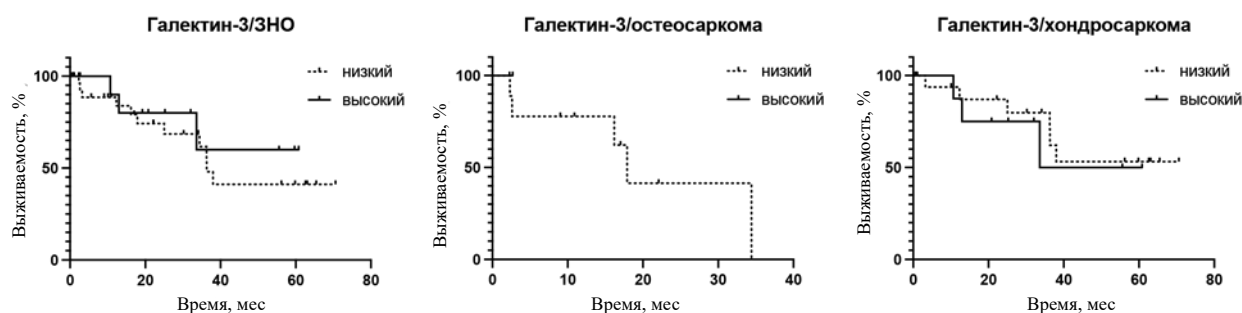


Рис. 2. Прогностическая значимость галектина-3 в трех группах: в общей группе больных злокачественными опухолями костей, больных остеосаркомой и больных хондросаркомой в возрасте старше 18 лет относительно медианы содержания исследованного маркера

ОБСУЖДЕНИЕ

В работе проведено сравнительное исследование содержания галектина-3 в сыворотке крови больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями костей разных гистологических типов и здоровых доноров группы контроля. Анализ полученных данных показал статистически значимое повышение содержания галектина-3 в сыворотке крови большинства больных с наличием опухолевой патологии в кости, при этом повышение маркера отмечено в обеих обследованных возрастных группах (до 18 лет и старше 18 лет) как при доброкачественных, так и при злокачественных опухолях костей.

Тем не менее ROC-анализ выявил, что чувствительность и специфичность теста не достаточны для использования данного маркера в диагностике опухолей костей. Аналогичные данные опубликованы в

литературе, но для других типов солидных опухолей [24], что свидетельствует о высокой чувствительности, но низкой специфичности данного биохимического метода диагностики.

При изучении содержания галектина-3 при различных гистологических типах опухолей костей обнаружили тенденцию к увеличению уровня маркера при хордومه у пациентов старше 18 лет, при других гистологических типах опухолей костей уровни галектина-3 не различались. В группе больных в возрасте до 18 лет наименьшее содержание галектина-3 выявлено при саркоме Юинга, что не согласуется с данными о тканевой экспрессии этого белка. Последние свидетельствовали о том, что у детей экспрессия галектина-3 при саркоме Юинга значительно выше, чем при остеосаркомах [25].

При анализе ассоциации содержания галектина-3 с другими клинико-морфологическими характери-

стиками заболевания значимых закономерностей в возрастной группе старше 18 лет не выявлено. В группе пациентов до 18 лет наблюдали тенденцию к повышению концентрации галектина-3 при таких неблагоприятных клинических характеристиках заболевания, как распространенная стадия, наличие метастазов и низкая степень дифференцировки опухоли.

Не выявили прогностической значимости сывороточного галектина-3 как в целом для общей группы злокачественных опухолей костей, так и отдельно при основных гистологических типах сарком костей (остеосаркома, хондросаркома). Из литературы известно, что прогностическая значимость галектина-3 при многих типах опухолей неоднозначна. Так, при колоректальном раке показано, что высокое содержание данного белка является неблагоприятным прогностическим фактором [26], в то время как для рака молочной железы и рака желудка представлены противоположные результаты [27]. Для опухолей костей значение галектина-3 на данном этапе исследований не определено и требует дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время из всех 15 известных галектинов пристальный интерес исследователей привлекает галектин-3, что обусловлено его участием во многих патологических процессах, в том числе и онкологических заболеваниях. Однако при злокачественных опухолях функциональная роль его многогранна и достаточно противоречива. С одной стороны, маркер для многих типов новообразований играет роль промотора опухолевого роста, а с другой стороны, может функционировать как опухолевый супрессор. Полученные нами данные убедительно доказали статистически значимое увеличение содержания галектина-3 в сыворотке крови больных доброкачественными и злокачественными опухолями костей, по сравнению с контрольной группой как у взрослых пациентов (старше 18 лет), так и у больных младшей возрастной группы (до 18 лет). Несмотря на то, что по данным ROC-анализа диагностическая значимость маркера в этих двух группах статистически значимо отличалась от контроля, чувствительность и специфичность галектина-3 только у пациентов с саркомами костей в возрасте <18 лет составили, соответственно, 80 и 90% (при оптимальном пороговом уровне маркера в контроле 5,49 нг/мл; $p = 0,001$). Это, вероятно, в будущем можно использовать в качестве маркера в диагностике сарком костей при исследовании большего числа пациентов.

Однако сывороточные уровни галектина-3 не различались между больными доброкачественными,

пограничными и злокачественными опухолями костей. Кроме того, наибольшее содержание галектина-3 выявили в сыворотке крови больных хордомой и на более ранних стадиях заболевания. При этом не отметили значимых ассоциаций галектина-3 с основными клинико-морфологическими характеристиками злокачественных опухолей как в группе пациентов в возрасте младше 18 лет, так и в группе больных старше 18 лет.

По данным литературы, прогностическая значимость галектина-3 при многих типах опухолей также не однозначна. По данным настоящего исследования, содержание галектина-3 в сыворотке крови не оказалась прогностически значимым фактором в общей группе больных злокачественными новообразованиями костей, а также, соответственно, в двух наиболее часто выявляемых костеобразующих (остеосаркома) и хрящеобразующих (хондросаркома) опухолях костей. Следует отметить, что на данном этапе исследований сывороточного галектина-3 в качестве маркера диагностики опухолей костей окончательно не определено и требует дальнейших исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Dumic J., Dabelic S., Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim. Biophys. Acta*. 2006;1760(4):616–635. DOI: 10.1016/j.bbagen.2005.12.020.
2. Liu F.T., Hsu D.K. The role of galectin-3 in promotion of the inflammatory response. *Drug News Perspect*. 2007;20(7):455–460. DOI: 10.1358/dnp.2007.20.7.1149628.
3. Clementy N., Garcia B., André C., Bisson A., Benhenda N., Pierre B. et al. Galectin-3 level predicts response to ablation and outcomes in patients with persistent atrial fibrillation and systolic heart failure. *PLoS One*. 2018;13(8):e0201517. DOI: 10.1371/journal.pone.0201517.
4. Asleh R., Enriquez-Sarano M., Jaffe A.S., Manemann S.M., Weston S.A., Jiang R. et al. Galectin-3 Levels and Outcomes After Myocardial Infarction: A Population-Based Study. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2019;73(18):2286–2295. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.02.046.
5. Chen S.C., Kuo P.L. The role of galectin-3 in the kidneys. *Int. J. Mol. Sci*. 2016;17(4):565. DOI: 10.3390/ijms17040565.
6. Li Y., Li T., Zhou Z., Xiao Y. Emerging roles of galectin-3 in diabetes and diabetes complications: A snapshot. *Rev. Endocr. Metab. Disord*. 2022;23(3):569–577. DOI: 10.1007/s11154-021-09704-7.
7. Wang W.H., Lin C.Y., Chang M.R., Urbina A.N., Assavalapsakul W., Thithanyanont A. et al. The role of galectins in virus infection - A systemic literature review. *J. Microbiol. Immunol. Infect*. 2020;53(6):925–935. DOI: 10.1016/j.jmii.2019.09.005.
8. De Oliveira F.L., Gatto M., Bassi N., Luisetto R., Ghirardello A., Punzi L. et al. Galectin-3 in autoimmunity and autoimmune diseases. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2015;240(8):1019–1028. DOI: 10.1177/1535370215593826.

9. Ashraf G.M., Baesa S.S. Investigation of gal-3 expression pattern in serum and cerebrospinal fluid of patients suffering from neurodegenerative disorders. *Front. Neurosci.* 2018;12:430. DOI: 10.3389/fnins.2018.00430.
10. Song L., Tang J.W., Owusu L., Sun M.Z., Wu J., Zhang J. Galectin-3 in cancer. *Clin. Chim. Acta.* 2014;431:185–191. DOI: 10.1016/j.cca.2014.01.019.
11. Xie L., Ni W.K., Chen X.D., Xiao M.B., Chen B.Y., He S. et al. The expressions and clinical significances of tissue and serum galectin-3 in pancreatic carcinoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2012;138(6):1035–1043. DOI: 10.1007/s00432-012-1178-2.
12. Matsuda Y., Yamagiwa Y., Fukushima K., Ueno Y., Shimosegawa T. Expression of galectin-3 involved in prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol. Res.* 2008;38(11):1098–1111. DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00387.x.
13. Kim S.J., Lee S.J., Sung H.J., Choi I.K., Choi C.W., Kim B.S. et al. Increased serum 90K and Galectin-3 expression are associated with advanced stage and a worse prognosis in diffuse large B-cell lymphomas. *Acta Haematol.* 2008;120(4):211–216. DOI: 10.1159/000193223.
14. Acikalin M.F., Etiz D., Gurbuz M.K., Ozudogru E., Canaz F., Colak E. Prognostic significance of galectin-3 and cyclin D1 expression in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. *Med. Oncol.* 2012;29(2):742–749. DOI: 10.1007/s12032-011-9971-3.
15. Endo K., Kohnoe S., Tsujita E., Watanabe A., Nakashima H., Baba H. et al. Galectin-3 expression is a potent prognostic marker in colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2005;25(4):3117–3121.
16. Zhang X.M., Yao G.Y., Zhang B.Y., Wang L.L., Zhao M. [Study on the expression and significance of Galectin-3 and CDC25B mRNA in human gastric carcinoma]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2009;26(3):288–292. (In Chinese). DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2009.03.011.
17. Yang Z.M., Wu X.T., He T., Da M.X., Luo T., Qian K. [Expression of galectin-3 mRNA in gastric cancer with peritoneal metastasis]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2006;37(1):105–108. (In Chinese).
18. O'Driscoll L., Linehan R., Liang Y.H., Joyce H., Oglesby I., Clynes M. Galectin-3 expression alters adhesion, motility and invasion in a lung cell line (DLKP), *in vitro*. *Anticancer Res.* 2002;22(6A):3117–3125.
19. Castronovo V., Van Den Brûle F.A., Jackers P., Clausse N., Liu F.T., Gillet C. et al. Decreased expression of galectin-3 is associated with progression of human breast cancer. *J. Pathol.* 1996;179(1):43–48. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199605)179:1<43::AID-PATH541>3.0.CO;2-N.
20. Knapp J.S., Lokeshwar S.D., Vogel U., Hennenlotter J., Schwentner C., Kramer M.W. et al. Galectin-3 expression in prostate cancer and benign prostate tissues: correlation with biochemical recurrence. *World J. Urol.* 2013;31(2):351–358. DOI: 10.1007/s00345-012-0925-y.
21. Wang Y., Nangia-Makker P., Tait L., Balan V., Hogan V., Pienta K.J. et al. Regulation of prostate cancer progression by galectin-3. *Am. J. Pathol.* 2009;174(4):1515–1523. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080816.
22. Zhou X., Jing J., Peng J., Mao W., Zheng Y., Wang D. et al. Expression and clinical significance of galectin-3 in osteosarcoma. *Gene.* 2014;546(2):403–407. DOI: 10.1016/j.gene.2014.04.066.
23. Park G.B., Kim D.J., Kim Y.S., Lee H.K., Kim C.W., Hur D.Y. Silencing of galectin-3 represses osteosarcoma cell migration and invasion through inhibition of FAK/Src/Lyn activation and β -catenin expression and increases susceptibility to chemotherapeutic agents. *Int. J. Oncol.* 2015;46(1):185–194. DOI: 10.3892/ijo.2014.2721.
24. Dong R., Zhang M., Hu Q., Zheng S., Soh A., Zheng Y. et al. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy. *Int. J. Mol. Med.* 2018;41(2):599–614. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3311.
25. Crompton B.D., Stewart C., Taylor-Weiner A., Alexe G., Kurek K.C., Calicchio M.L. et al. The genomic landscape of pediatric Ewing sarcoma. *Cancer Discov.* 2014;4(11):1326–1341. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-1037.
26. Huang Z., Ai Z., Li N., Xi H., Gao X., Wang F. et al. Over expression of galectin-3 associates with short-term poor prognosis in stage II colon cancer. *Cancer Biomark.* 2016;17(4):445–455. DOI: 10.3233/CBM-160661.
27. Okada K., Shimura T., Suehiro T., Mochiki E., Kuwano H. Reduced galectin-3 expression is an indicator of unfavorable prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res.* 2006;26(2B):1369–1376.

Вклад авторов

Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Янушевич О.О., Стилиди И.С. – научная идея исследования, разработка дизайна исследования, общее руководство работой, научное редактирование текста. Ковалева О.В., Зыбина Н.Н., Юрисич В. – статистическая обработка результатов исследования, анализ литературных данных, написание статьи. Прищеп П.Л., Варфоломеева С.Р., Сушенцов Е.А. – работа с больными, лечение. Алферов А.А., Кузьмин Ю.Б., Горячева И.О., Кузнецов И.Н. – получение экспериментальных данных. Рогожин Д.В., Булычева И.В. – морфологическое исследование опухолей.

Информация об авторах

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 – 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>

Прищеп Полина Леонидовна – педиатр хирург-онколог, НИИ детской онкологии и гематологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, Paulig92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0810-8238>

Зыбина Наталья Николаевна – д-р биол. наук, профессор, зав. отделом лабораторной диагностики, ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, г. Санкт-Петербург, zybinan@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5422-2878>

Юрисич Владимир – MD, PhD, профессор, факультет медицинских наук, Университет Крагуеваца, г. Крагуевац, Сербия, jurisicvladimir@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6525-128X>

Алферов Александр Андреевич – врач клинической лабораторной диагностики, лаборатория клинической биохимии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, aleksandr.alferov@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0003-3585-5693>

Кузьмин Юрий Борисович – лаборант-исследователь, лаборатория клинической биохимии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, yriikuzmin@yandex.com, <https://orcid.org/0000-0001-9684-2509>

Горячева Ирина Олеговна – врач клинической лабораторной диагностики, лаборатория клинической биохимии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, irina.goriacheva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5522-291X>

Кузнецов Игорь Николаевич – канд. биол. наук, ст. лаборант, кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, npkredo@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0866-5561>

Булычева Ирина Владиславовна – д-р мед. наук, врач-патологоанатом, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, irena@boulytcheva.com, <https://orcid.org/0000-0001-7592-4249>

Варфоломеева Светлана Рафаэлевна – д-р мед. наук, профессор, директор НИИ детской онкологии и гематологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, s.varfolomeeva@rnc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

Сушенцов Евгений Александрович – канд. мед. наук, зав. отделением хирургических методов лечения (онкоортопедии), НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, crespine@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3672-1742>

Герштейн Елена Сергеевна – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинической биохимии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, esgershtein@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>

Рогожин Дмитрий Викторович – д-р мед. наук, зав. патологоанатомическим отделением отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, pathol.777@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0777-9152>

Янушевич Олег Олегович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, ректор МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, mail@msmsu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0059-4980>

Стилиди Иван Сократович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, ronc@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>

(✉) **Кушлинский Николай Евгеньевич**, biochimia@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.12.2022;
одобрена после рецензирования 16.01.2023;
принята к публикации 27.02.2023

УДК 616.12-008.46-036.12-037:616.146.2-073.432

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-78-87>

Уровень мРНК генов антиоксидантной системы и активность НАДФН-генерирующих ферментов при ротенон-индуцированном паркинсонизме у крыс

Крыльский Е.Д., Разуваев Г.А., Попова Т.Н., Нихаев Л.Е., Акинина А.И.

Воронежский государственный университет (ВГУ)

Россия, 394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследование уровня мРНК генов антиоксидантных ферментов и регулирующих их экспрессию транскрипционных факторов Nrf2 и Foxo1, активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат-изоцитратдегидрогеназы (НАДФ-ИДГ), а также анализ корреляционных связей между данными параметрами, состоянием оксидативного статуса и моторно-координационными показателями у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом.

Материалы и методы. Исследование было выполнено на крысах самцах Вистар в возрасте 4–6 мес и массой 200–250 г. Паркинсонизм моделировали путем подкожного введения в течение 10 сут ротенона в дозе 2,5 мг/кг. Для подтверждения развития патологии использовали моторно-координационные тесты и гистологические методы с окрашиванием коры полушарий и полосатого тела головного мозга гематоксилином и эозином. Состояние оксидативного статуса оценивали на основании концентрации диеновых конъюгатов, карбонильных остатков аминокислот в белках и α -токоферола. Активность ферментов исследовали спектрофотометрически по образованию НАДФН. Для анализа уровня мРНК генов использовали метод полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. В ходе исследования у крыс опытной группы по сравнению с контролем наблюдалось возрастание в сыворотке крови и мозге концентрации диеновых конъюгатов, карбонильных остатков аминокислот, а также α -токоферола, что могло быть связано с перераспределением данного соединения между тканями при развитии патологии. Для животных с экспериментальным паркинсонизмом, кроме этого, было характерно снижение уровня мРНК генов *Sod1*, *Gpx1*, *Gsr*, *Gsta2*, *Nfe2l2* и *Foxo1*, а также активности Г6ФДГ и НАДФ-ИДГ. У крыс с экспериментальным паркинсонизмом была найдена отрицательная корреляция активности НАДФ-ИДГ в мозге с концентрацией α -токоферола в сыворотке и положительная – с уровнем мРНК *Gpx1* и *Foxo1* в полосатом теле головного мозга. Уровень окислительно-модифицированных белков в мозге животных с патологией отрицательно коррелировал с концентрацией мРНК *Gsta2* в полосатом теле, а удельная активность Г6ФДГ в сыворотке характеризовалась наличием положительной взаимосвязи с силой хвата.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют, что угнетение транскрипции генов антиоксидантных ферментов и регуляторных факторов Nrf2 и Foxo1 вносило существенный вклад в развитие окислительного стресса при БП. Наблюдаемое снижение активности Г6ФДГ и НАДФ-ИДГ уменьшало доступность НАДФН – лимитирующего фактора для функционирования глутатионовой антиоксидантной системы, что также, очевидно, являлось важным патогенетическим фактором прогрессирования патологии. Наряду со снижением в тканях мозга содержания мРНК генов антиоксидантных ферментов, у крыс с паркинсонизмом возрастала концентрация α -токоферола, что могло быть результатом развития дисбаланса в функционировании антиоксидантной системы.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, окислительный стресс, антиоксидантная система, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, НАДФ-изоцитратдегидрогеназа

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 по экспертизе биомедицинских исследований Воронежского государственного университета (протокол № 42-02 от 04.10.2021).

Для цитирования: Крыльский Е.Д., Разуваев Г.А., Попова Т.Н., Нихаев Л.Е., Акинина А.И. Уровень мРНК генов антиоксидантной системы и активность НАДФН-генерирующих ферментов при rotenone-индуцированном паркинсонизме у крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):78–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-78-87>.

mRNA level of antioxidant genes and activity of NADPH-generating enzymes in rotenone-induced parkinsonism in rats

Kryl'skii E.D., Razuvaev G.A., Popova T.N., Nikhaev L.E., Akinina A.I.

Voronezh State University

1, Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To analyze the mRNA level of genes encoding antioxidant enzymes and the transcription factors Nrf2 and Foxo1 regulating their expression and the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and NADP-dependent isocitrate dehydrogenase (NADP-IDH) and assess the correlation between these parameters, oxidative status, and motor coordination parameters in rats with rotenone-induced parkinsonism.

Materials and methods. The study was performed on male Wistar rats aged 4–6 months and weighing 200–250 g. Parkinsonism was modeled by subcutaneous administration of rotenone for 10 days at a dose of 2.5 mg / kg. To confirm the development of the pathology, motor coordination tests and histological staining of the cerebral cortex and striatum with hematoxylin and eosin were used. The oxidative status was analyzed based on the levels of conjugated dienes, carbonyl amino acid residues in proteins, and α -tocopherol. The enzyme activity was studied spectrophotometrically by the formation of NADPH. Real-time PCR was used to analyze the level of gene mRNA.

Results. During the study, an increase in serum and brain concentrations of conjugated dienes, carbonyl amino acid residues, and α -tocopherol was observed in the experimental group of rats compared to the controls. It could be associated with the redistribution of this compound between tissues during pathology development. The animals with experimental parkinsonism, in addition, were characterized by a decrease in the mRNA level of the *Sod1*, *Gpx1*, *Gsr*, *Gsta2*, *Nfe2l2*, and *Foxo1* genes, as well as the activity of G6PDH and NADP-IDH. In the rats with experimental parkinsonism, a negative correlation of NADPH-IDH activity in the brain with serum α -tocopherol level and a positive correlation with *Gpx1* and *Foxo1* mRNA levels in the striatum were found. The level of oxidatively modified proteins in the brain of the animals with PD was negatively correlated with the concentration of *Gsta2* mRNA in the striatum, while the specific activity of G6PDH in the serum was characterized by the positive relationship with grip strength.

Conclusion. The data obtained indicate that the inhibition of transcription of the genes encoding antioxidant enzymes and regulatory factors Nrf2 and Foxo1 contributed significantly to the development of oxidative stress in PD. A decrease in the activity of G6PDH and NADP-IDH led to a decrease in the availability of NADPH, which is a limiting factor in the functioning of the glutathione antioxidant system. Obviously, the inhibition of G6PDH and NADP-IDH was also an important pathogenic factor in the progression of the pathology. Along with a decrease in the content of antioxidant gene mRNA in the brain tissues, the level of α -tocopherol increased in the rats with parkinsonism, which could be the result of an imbalance in the functioning of antioxidant system.

Keywords: Parkinson's disease, oxidative stress, antioxidant system, glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADP-dependent isocitrate dehydrogenase

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 Biomedical Ethics Committee at Voronezh State University (Protocol No. 42-02 of 04.10.2021).

For citation: Kryl'skii E.D., Razuvaev G.A., Popova T.N., Nikhaev L.E., Akinina A.I. mRNA level of antioxidant genes and activity of NADPH-generating enzymes in rotenone-induced parkinsonism in rats. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):78–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-78-87>.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – второе по распространенности нейродегенеративное заболевание после болезни Альцгеймера и самое распространенное двигательное расстройство в мире. Патогенез БП характеризуется потерей дофаминергических нейронов в черной субстанции и присутствием в среднем мозге телец Леви – агрегатов белков с нарушенным фолдингом, включая α -синуклеин [1]. Нейродегенерация при БП развивается также в норадренергической, серотонинергической и холинергической системе, коре головного мозга, зрительной луковице и отделах вегетативной нервной системы [2].

Было продемонстрировано, что на ранних этапах развития БП имеет место формирование окислительного стресса. Таким образом, неконтролируемая генерация активных форм кислорода (АФК) выступает в качестве причинного фактора гибели дофаминергических нейронов, а не является следствием иных патогенетических факторов нейродегенерации [3]. Защиту нейронов от окислительного стресса обеспечивает антиоксидантная система, включающая такие ферменты, как супероксиддисмутаза, каталаза, ферменты глутатионного звена, а также неферментативные антиоксиданты. Ключевым регуляторным фактором, отвечающим за реализацию антиоксидательного ответа, является белок Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2 – ядерный фактор, связанный с эритроидным фактором 2). В условиях покоя Nrf2 находится в комплексе с белком Keap1 (Kelch-подобный ECH-ассоциированный белок) в цитоплазме, в результате чего он убиквитинируется и подвергается протеасомной деградации.

В условиях окислительного стресса комплекс Nrf2-Keap1 разрушается, что приводит к высвобождению Nrf2 и его ядерной транслокации. Оказавшись в ядре, Nrf2 активирует экспрессию ARE-содержащих (antioxidant responsive elements – элементы антиоксидантного ответа) генов, кодирующих, в том числе, антиоксидантные ферменты [4]. Еще одним регуляторным фактором, участвующим в выживании клеток при окислительном стрессе, является Foxo1. Данный белок модулирует активность многочисленных генов, включая гены антиоксидантных ферментов, аутофагии и апоптоза, в частности фактора

некроза опухоли α , FAS-лиганда (лиганда к члену суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 6), каспазы-3, каспазы-8 и каспазы-9 [5]. Другим важным компонентом защиты, лимитирующим работу глутатионного звена антиоксидантной системы, выступает никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН), необходимый для восстановления окисленного глутатиона. Основным источником НАДФН является пентозофосфатный путь, ключевым ферментом которого выступает глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ПДГ) [6]. Альтернативным источником НАДФН может выступать НАДФ-изоцитратдегидрогеназа (НАДФ-ИДГ), локализованная преимущественно в цитоплазме, однако небольшая активность фермента обнаруживается также в митохондриях. НАДФ-ИДГ обеспечивает координацию процессов углеродного и азотного обмена, а также участвует в генерировании НАДФН [7].

Как показывают исследования, порядка 70% нейронов гибнут до появления клинических симптомов БП, в связи с чем изучение различных аспектов метаболизма при данном заболевании, представляющих интерес, в плане выяснения механизмов поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза, а также с точки зрения возможности ранней диагностики паркинсонизма, является актуальной задачей [8]. В настоящее время экспериментальная БП, индуцируемая введением ротенона, по-прежнему остается предпочтительной моделью патологии. Последняя последовательно имитирует нейропатологические признаки БП вследствие способности ротенона воспроизводить прогрессирующую природу заболевания с характерной медленной скоростью гибели клеток и двигательными нарушениями, а также с признаками α -синуклеинопатии [9]. Ранее нами было показано, что у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом наблюдается угнетение активности ферментов глутатионного звена и каталазы [10]. В то же время в литературе остаются весьма ограниченными исследования, демонстрирующие наличие взаимосвязей между факторами регуляции антиоксидантной системы на уровне транскрипции, ферментами-поставщиками НАДФН и параметрами окислительного статуса при экспериментальной БП.

Таким образом, целью настоящей работы стало исследование уровня мРНК генов антиоксидантных

ферментов и регулирующих их экспрессию транскрипционных факторов Nrf2 и Foxo1, оценка активности Г6ФДГ и НАДФ-ИДГ, а также анализ корреляционных связей между данными параметрами, состоянием оксидативного статуса и моторно-координационными показателями у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выступали крысы-самцы возрастом 4–6 мес и массой 200–250 г, содержащиеся при 12-часовом световом дне и доступе к еде и пище *ad libitum*. Работа выполнялась с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Моделирование БП осуществляли путем подкожного введения крысам ротенона в дозе 2,5 мг/кг в виде раствора в 98%-м очищенном оливковом масле и 2%-м диметилсульфоксиде на протяжении 10 сут [11]. Животные были случайным образом разделены на две экспериментальные группы численностью по 12 особей. Первую группу составляли животные, которые получали подкожно инъекции носителя; во вторую группу входили крысы, которым моделировали БП. Через 24 ч после последней инъекции у крыс анализировали моторные показатели, после чего умерщвляли и забирали исследуемый материал.

Для оценки моторики и координации животных применялись следующие тесты: 1) животное помещали в прозрачную клетку, после включения видеозаписи исследователь покидал помещение. На видеозаписи регистрировали количество вертикальных стоек за 3 мин [11]; 2) удерживая крысу, ей давали зацепиться передними лапками за скобу электронных весов. Весы оттягивали и регистрировали максимальную величину показателя [12]; 3) животное помещали в прозрачную клетку и наклеивали на голову кусочек липкой бумаги. Регистрировали время, за которое крыса воспримет раздражитель и снимет бумагу с головы [13]. Все тесты проводили в трехкратной повторности, определяли среднее значение показателей.

Ткани головного мозга от трех крыс из каждой группы использовали для приготовления гистологического препарата, окрашенного гематоксилином и эозином. Крыс анестезировали, мозг быстро извлекали и погружали в 10%-й формалин на 2 ч, затем промывали проточной водой в течение 1 сут. После обезживания спиртом и заливки парафином из ткани приготавливали срезы толщиной 5 мкм с помощью ротационного микротомы HM-325 (Thermo Fisher Scientific, США) с последующим окрашиванием ге-

матоксилином и эозином. Изображения получали с помощью светового микроскопа AxioLab A1 (Carl Zeiss, Германия) и камеры AxioCam 105 color. Оценивались не менее пяти полей зрения для каждого слайда.

Для анализа концентрации диеновых конъюгатов (ДК) к исследуемому образцу добавляли гептан и изопропанол, перемешивали и осаждали центрифугированием при 3 000 g. Гептановую фазу супернатанта разбавляли этанолом и анализировали спектрофотометрически при 233 нм [14]. Для оценки степени окислительной модификации белков (ОМБ) использовали метод, в основе которого лежит способность взаимодействия карбонильных остатков аминокислот с 2,4-динитрофенил-гидразином (2,4-ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, поглощающих при 370 нм [15]. Образец разбавляли 100 мМ фосфатным буфером (pH 7,4), вносили 10 мМ 2,4-ДНФГ в 2,5 М HCl, инкубировали в течение 1 ч и затем добавляли 20%-й ТХУ. После охлаждения образцы центрифугировали при 3 000 g, промывали осадок белка 10%-м ТХУ и смесью этанол : этилацетат в соотношении 1 : 1, после чего растворяли в 2 мл 8 М мочевины. Концентрацию α -токоферола определяли методом, основанным на фотометрировании хромогенного комплексного соединения Fe^{2+} и ортофенантролина [16]. К исследуемому образцу добавляли этанол и гексан, центрифугировали при 3 000 g, после чего отбирали гексанный слой и выпаривали гексан на водяной бане. К сухому остатку приливали бензол и хлорное железо. Через 5 мин добавляли 0,05%-й ортофенантролин, затем через 2 мин измеряли оптическую плотность при 510 нм. Выделение тотальной РНК осуществляли с помощью реагента Extract RNA (Евроген, Россия). Качество выделения РНК контролировали с помощью агарозного гель-электрофореза. Обратную транскрипцию для каждого образца осуществляли с помощью набора MMLV RT kit (Евроген, Россия). Ст каждого гена был нормирован на среднее геометрическое *Ct Gapdh* и *Actb*, используемых в качестве хаус-кипинг генов. Праймеры, используемые в работе: Sod1 F: 5'-CCAGCGGATGAAGAGAGG-3', Sod1 R: 5'-GGACACATTGGCCACACC-3', Cat F: 5'-CAGCGACCAGATGAAGCA-3', Cat R: 5'-GGTCAGGACATCGGGTTTC-3', Nfe2l2 F: 5'-GCCTTGACTTTGAAGACTGTATGC-3', Nfe2l2 R: 5'-GCAAGCGACTGAAATGTAGGT-3', Foxo1 F: 5'-AGATCTACGAGTGGATGGTGAAGAG-3', Foxo1 R: 5'-GGACAGATTGTGGCGAATTGAAT-3', Gsta2 F: 5'-CGGGAATTTGATGTTTGACC-3', Gsta2 R: 5'-AGAATGGCTCTGGTCTGTGC-3', Gpx1 F: 5'-TTTCCCGTGCAATCAGTTC-3', Gpx1 R: 5'-GGACATACTTGAGGGAATTCAGA-3',

Gapdh F: 5'-CCCTCAAGATTGTCAGCAATG-3',
 Gapdh R: 5'-AGTTGTCATGGATGACCTTGG-3',
 Actb F: 5'-CCCGCGAGTACAACCTTCT-3',
 Actb R: 5'-CGTCATCCATGGCGAACT-3',
 Gsr F: 5'-TTCCTCATGAGAACCAGATCC-3',
 Gsr R: 5'-CTGAAAGAACCCATCACTGGT-3'.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени проводили с помощью смеси qPCRmix-
 HS SYBR (Евроген, Россия) на приборе АНК-32
 (Синтол, Россия). Анализ результатов производили с
 помощью 2^{-ΔΔCt} метода. Специфичности реакции оце-
 нивали на основе кривых плавления.

Активность НАДФ-ИДГ измеряли в среде для
 спектрофотометрии, состоящей из 50 мМ трис-НСl
 буфера (рН 7,8), 1,5 мМ изоцитрата, 2 мМ MnCl₂,
 0,4 мМ НАДФ. Среда спектрофотометрирования для
 оценки активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы
 (Г6ФДГ) представляла собой 50 мМ трис-НСl буфер
 (рН 7,8), содержащий 3,2 мМ глюкозо-6-фосфат,
 0,25 мМ НАДФ, 1,0 мМ MgCl₂. О скорости фермен-
 тативной реакции судили по изменению оптической
 плотности на 340 нм с помощью спектрофотометра
 Hitachi U1900 (Япония). Для определения содержа-
 ния белка использовали биуретовый метод.

Результаты анализировали с помощью программы
 SPSS Statistics 23.0 с использованием одновыбороч-
 ного критерия Колмогорова – Смирнова для анализа
 нормальности распределения значений переменных.
 Значения показателей в группах сравнивали с помо-
 щью *t*-критерия Стьюдента или критерия Манна –
 Уитни. Для выявления корреляционных взаимосвязей
 между изучаемыми переменными использовали ко-
 эффициент корреляции Пирсона для значений с нор-

мальным распределением и коэффициент корреляции
 Спирмена для показателей, распределение которых
 не согласуется с нормальным законом. В настоящей
 работе приводятся значения средней (0,30–0,69) и
 сильной (>0,70) степени корреляции (*r*). Статистиче-
 ски значимыми считали различия при *p* < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что раз-
 витие ротенон-индуцированного паркинсонизма
 у крыс сопровождалось значимым (*p* < 0,05) изме-
 нением моторно-координационных показателей
 (табл. 1). Так, в данных условиях наблюдалось
 уменьшение количества вертикальных стоек и силы
 хвата, а также увеличение времени, затраченного на
 удаление бирки с головы. Кроме того, индукция па-
 тологии подтверждалась морфологическими измене-
 ниями в тканях головного мозга (рис. 1). В частно-
 сти, в коре и полосатом теле головного мозга крыс с
 экспериментальным БП характерными изменениями
 были уменьшение количества нейронов, развитие их
 атрофии и пикноза, конденсация ядер, инфильтрация
 ткани глиальными клетками.

Таблица 1

Показатели моторики у крыс при ротенон-индуцированном паркинсонизме, Ме (<i>Q</i> ₁ – <i>Q</i> ₃)			
Показатель	Группа		<i>p</i>
	Контроль, <i>n</i> = 12	Патология, <i>n</i> = 12	
Количество вертикальных стоек	11,0 (9,5–12,0)	4,0 (2,0–7,0)	0,002
Сила хвата, кг	0,300 (0,269–0,300)	0,157(0,135–0,200)	0,001
Отклеивание бирки, с	21,5 (15,3–40,8)	127,0 (91,8–152,5)	0,003

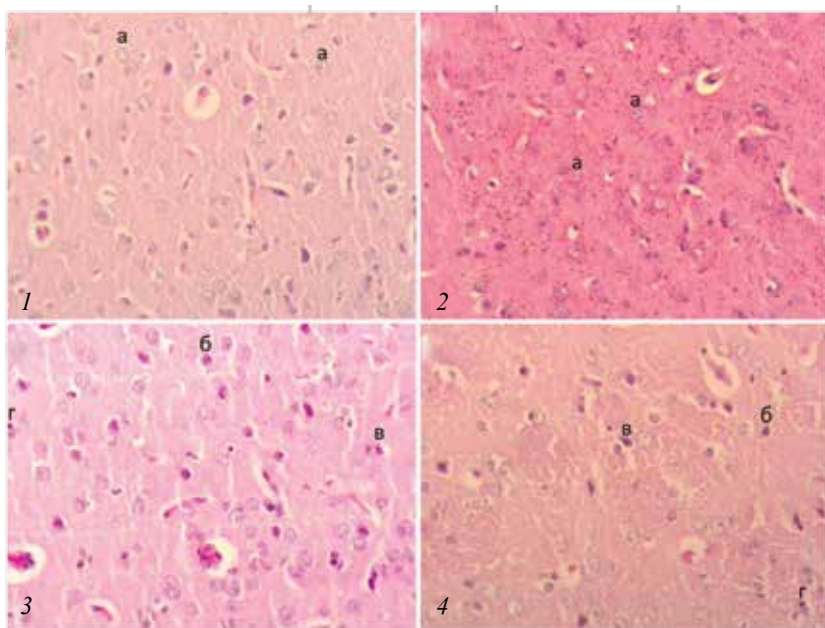


Рис. 1. Окраска гематоксилином и эозином
 тканей головного мозга у крыс: коры (1), по-
 лосатого тела (2) в норме и при ротенон-ин-
 дуцированном паркинсонизме (3, 4), ×400.
 На срезах тканей крыс контрольной группы
 визуализировались рассеянные крупные
 мультиполярные нейроны с везикулярными
 ядрами (а). Развитие патологии характери-
 зовалось наличием клеток с более темно-
 окрашенным ядром (б), сморщенных клеток
 с признаками кариолизиса (с), а также ин-
 фильтрацией глиальными клетками (д)

Развитие ротенон-индуцированного паркинсонизма у крыс сопровождалось активизацией процессов свободнорадикального окисления, о чем свидетельствовало увеличение ($p < 0,05$) концентрации ДК и уровня ОМБ в сыворотке крови и мозге животных (рис. 2). Вместе с тем для крыс с экспериментальной БП наблюдалось также возрастание концентрации α -токоферола в тканях ($p < 0,05$).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при патологии у животных наблюдается снижение уровня мРНК генов антиоксидантных ферментов и транскрипционных факторов Nrf2 и Foxo1, что согласуется с полученными нами ранее данными по активности ферментов при экс-

периментальной БП [10]. Так, результаты настоящей работы продемонстрировали снижение ($p < 0,01$) уровня мРНК Nrf2 (ген *Nfe2l2*) в коре и полосатом теле животных с патологией (рис. 3). Подобная тенденция наблюдалась также для мРНК фактора Foxo1 ($p < 0,05$). На фоне снижения концентрации мРНК данных факторов в тканях животных с патологией происходило уменьшение ($p < 0,05$) уровня мРНК генов супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, а также глутатионтрансферазы в полосатом теле (гены *Sod1*, *Gpx1*, *Gsr*, *Gsta2* соответственно). Экспрессия гена каталазы (*Cat*) статистически значимо не изменялась.

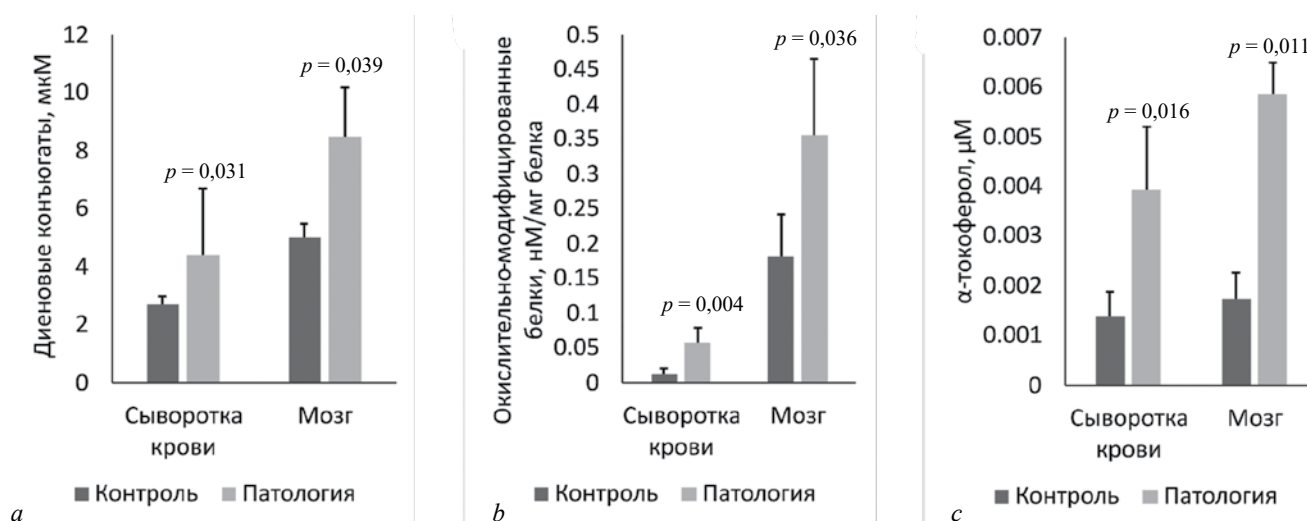


Рис. 2. Концентрация в мозге и сыворотке крови крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом и контрольной группы: диеновых конъюгатов (a), окислительно-модифицированных белков (b) и α -токоферола (c), $Me (Q_1-Q_3)$

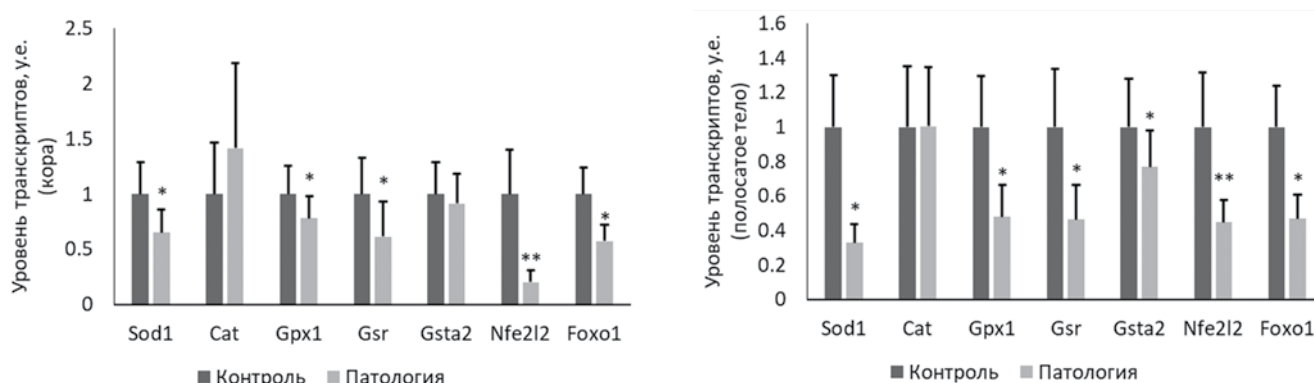


Рис. 3. Уровень мРНК генов антиоксидантных ферментов и регуляторных факторов в коре и полосатом теле головного мозга крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом и контрольной группы, $M \pm SD$

В ходе работы показано, что активность НАДФН-генерирующих ферментов – Г6ФДГ и НАДФ-ИДГ, снижалась ($p < 0,05$) в сыворотке крови и мозге крыс с экспериментальной БП (табл. 2). Схожая динамика наблюдалась и для активности

исследуемых ферментов, выраженной в Е/мг белка. Вместе с тем удельная активность Г6ФДГ в мозге животных с патологией статистически значимо не изменялась, что могло быть сопряжено с уменьшением содержания общего белка ($p = 0,032$).

Таблица 2

Активность НАДФН-генерирующих ферментов в сыворотке крови и мозге крыс при ротенон-индуцированном паркинсонизме, Me (Q_1-Q_3)				
Показатель	Ткань	Группа		p
		Контроль, n = 12	Патология, n = 12	
НАДФ-ИДГ, Е/мл, Е/г сырой массы	Сыворотка крови	0,024 (0,017–0,071)	0,011 (0,010–0,023)	0,009
	Мозг	1,005 (0,352–1,378)	0,451 (0,268–0,550)	0,037
НАДФ-ИДГ, Е/мг белка	Сыворотка крови	0,000270 (0,000194–0,000673)	0,000126 (0,000096–0,000253)	0,01
	Мозг	0,010078 (0,008777–0,014880)	0,005692 (0,004279–0,007018)	0,041
Г6ФДГ, Е/мл, Е/г сырой массы	Сыворотка крови	0,034 (0,021–0,046)	0,013 (0,012–0,019)	0,004
	Мозг	0,450 (0,239–0,518)	0,390 (0,273–0,398)	0,036
Г6ФДГ, Е/мг белка	Сыворотка крови	0,000414 (0,000309–0,000575)	0,000281 (0,000249–0,000349)	0,031
	Мозг	0,011762 (0,006048–0,012862)	0,007308 (0,002237–0,018642)	0,594
Общий белок, г/л	Сыворотка крови	76,5 (53,8–107,6)	58,0 (39,1–61,6)	0,043
	Мозг	18,2 (13,2–25,1)	13,4 (8,8–16,9)	0,032

Проведенный корреляционный анализ подтвердил наличие зависимости между моторно-координационными показателями, параметрами оксидативного статуса, уровнем мРНК исследуемых генов и активностью НАДФН-генерирующих ферментов у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом (табл. 3).

Таблица 3

Корреляция между исследуемыми показателями у животных с ротенон-индуцированным паркинсонизмом		
Показатель	r	p
Сила хвата – удельная активность Г6ФДГ в сыворотке	0,673	0,023
Уровень окислительной модификации белков в мозге – уровень мРНК Gsta2 в полосатом теле	–0,848	0,049
Активность НАДФ-ИДГ в мозге – уровень мРНК Gpx1 в полосатом теле	0,877	0,022
Активность НАДФ-ИДГ в мозге – уровень мРНК Foxo1 в полосатом теле	0,825	0,043
Концентрация α -токоферола в сыворотке – время отклеивания бирки	0,916	0,029
Концентрация α -токоферола в сыворотке – активность НАДФ-ИДГ в мозге	–0,709	0,049

ОБСУЖДЕНИЕ

БП представляет собой распространенное нейродегенеративное заболевание, патогенез которого тесно сопряжен с окислительным стрессом и характеризуется поздним проявлением клинических симптомов. В связи с этим интерес представляют исследования регуляторных аспектов состояния редокс-гомеостаза при моделировании данной патологии. В настоящей работе нами была проведена оценка транскрипционной регуляции антиоксидантной системы и активности ферментов-поставщиков НАДФН для глутатионового звена антиоксидантной системы у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом.

Как показали результаты нашего исследования, для животных с экспериментальной БП было характерно увеличение уровня продуктов свободно-радикального, в частности перекисного окисления липидов (ПОЛ) – ДК, и окисленных остатков аминокислот в белках. Окисление белков под действием АФК играет особую роль в патогенезе БП. Окислительный стресс вызывает реакции гликооксидации, модификации свободных аминокислот в белках, что приводит к образованию конечных продуктов гликирования. Данные продукты обеспечивают сшивание белковых молекул, что способствует превращению белков нейрофиламентов в нерастворимые агрегаты, наличие которых в нейронах является ключевым признаком патогенеза БП [17].

Защиту от окислительного стресса обеспечивает антиоксидантная система, ферментативное звено которой включает такие компоненты, как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и глутатионтрансфераза. Ген *Sod1* кодирует изофермент Cu,Zn-супероксиддисмутаза, преимущественно локализованный в цитоплазме, для которого известна роль в поддержании устойчивости к 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропирдину – токсину, вызывающему экспериментальную БП [18]. *Gpx1* представляет собой ген изофермента глутатионпероксидазы-1, наиболее распространенной в тканях млекопитающих из всех глутатионпероксидаз [19].

Gsta2 кодирует фермент из суперсемейства глутатионтрансфераз, обеспечивающих детоксикацию электрофильных молекул, обезвреживание канцерогенов и лекарственных средств. Глутатионтрансферазы альфа-класса являются наиболее универсальными ферментами, среди которых *Gsta2* является одним из ключевых ARE-контролируемых белков, защищающих от окислительного стресса [20]. Проведенные нами исследования продемонстрировали

снижение уровня мРНК генов данных ферментов в полосатом теле и коре головного мозга животных с патологией. Это согласуется с полученными ранее результатами, свидетельствующими о нарушении функционирования ферментов антиоксидантной системы при экспериментальной БП [10].

Наличие отрицательной взаимосвязи между уровнем мРНК *Gsta2* в полосатом теле и содержанием окислительно-модифицированных белков в мозге подтверждает существенную роль снижения интенсивности транскрипции генов антиоксидантной системы в развитии свободнорадикального окисления при паркинсонизме. По-видимому, наблюдаемые изменения были обусловлены уменьшением уровня мРНК факторов Nrf2 и Foxo1 – ключевых регуляторов активности генов, обеспечивающих резистентность клеток к окислительному стрессу. Так, известно, что Nrf2 выступает в качестве важнейшего активатора экспрессии генов антиоксидантных ферментов и ферментов – поставщиков НАДФН, модулятора функционирования митохондрий, а также обеспечивает снижение интенсивности воспалительных процессов при нейродегенерации [21, 22].

Транскрипционные факторы Foxo, в число которых входит Foxo1, играют важную роль в ряде физиологических процессов, таких как регуляция метаболизма, клеточного цикла и реакции на стрессовые факторы, включая чрезмерную генерацию АФК. Имеются сведения, что подавление сигнального пути PI3K-AKT-Foxo у крыс с БП усугубляет окислительный стресс в нигральных дофаминергических нейронах [23]. В то же время не было показано значимого снижения уровня мРНК для гена *Cat*, а также *Gsta2* в коре головного мозга крыс с патологией. По-видимому, к моменту выведения животных из эксперимента уровни мРНК данных генов еще оставались достаточно стабильными и не переходили в стадию декомпенсации.

Нами было также показано, что для крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом характерно уменьшение активности в мозге и сыворотке крови основных поставщиков НАДФН – Г6ФДГ и НАДФ-ИДГ. По-видимому, снижение эффективности образования НАДФН также вносит существенный вклад в нарушение функционирования антиоксидантных ферментов и развитие окислительного стресса при БП. Так, имеются данные, показывающие существенную роль данных ферментов в резистентности клеток к чрезмерно генерируемым АФК [24, 25].

Более того, показано, что повышение активности Г6ФДГ у трансгенных мышей обуславливало

их меньшую восприимчивость к 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридину и тормозило развитие признаков паркинсонизма [26]. Показанная нами положительная корреляция между силой хвата животных с патологией и удельной активностью Г6ФДГ в сыворотке крови подтверждает вклад снижения активности НАДФН-генерирующих ферментов в развитие нарушений координации при паркинсонизме. Кроме того, положительная корреляция между активностью НАДФ-ИДГ в мозге и уровнем мРНК *Gpx1* и *Foxo1* свидетельствует о значительном взаимном влиянии НАДФН-генерирующих ферментов и транскрипционной активности антиоксидантных генов.

К неферментативным антиоксидантам липидной фазы, способным эффективно нормализовывать оксидативный статус в клетках путем предотвращения ПОЛ и стабилизации структуры мембран, относится α -токоферол. Главным регулятором распределения α -токоферола в организме является белок – переносчик α -токоферола (α ТТР) [27]. В мозге α ТТР регулирует аполипопротеин Е-опосредованный транспорт витамина из астроцитов в соседний нейрон. При окислительном стрессе экспрессия α ТТР в астроцитах увеличивается, что облегчает доставку α -токоферола к нейронам, тем самым защищая их от окислительного повреждения [28]. Как показали результаты нашей работы, на фоне интенсификации свободнорадикального окисления, у крыс с паркинсонизмом происходило возрастание концентрации α -токоферола в сыворотке крови и мозге.

Данная тенденция, наблюдавшаяся наряду с угнетением активности антиоксидантных ферментов [10] и транскрипции их генов, указывает на развитие дисбаланса в функционировании антиоксидантной системы при паркинсонизме. В пользу этого свидетельствует наличие положительной корреляции между концентрацией α -токоферола в сыворотке и временем, затрачиваемым на отклеивание бирки, а также активностью НАДФ-ИДГ в мозге у животных с экспериментальной БП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование продемонстрировало, что развитие ротенон-индуцированного паркинсонизма было сопряжено с уменьшением уровня мРНК большинства исследуемых генов антиоксидантных ферментов, что, по-видимому, взаимосвязано со снижением активации генов регуляторных белков Nrf2 и Foxo1. Данные изменения, судя по всему, являлись ключевым фактором снижения активности антиоксидантных ферментов, возрастания интенсивности свободнорадикального окисления и,

как следствие, развития окислительного стресса при БП. Другим патогенетическим механизмом нарушения оксидативного статуса в тканях животных с патологией выступало снижение активности ферментов – поставщиков НАДФН для функционирования антиоксидантной системы – Г6ФДГ и НАДФ-ИДГ. Наряду с этим у крыс с rotenone-индуцированным паркинсонизмом наблюдалось возрастание концентрации α -токоферола в сыворотке крови и мозге, что могло быть результатом развития дисбаланса в функционировании антиоксидантной системы при окислительном стрессе.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Blauwendraat C., Nalls M.A., Singleton A.B. The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2020;19(2):170–178. DOI: 10.1016/S1473-4422(19)30287-X.
2. Raza C., Anjum R., Shakee N.U.A. Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life Sci.* 2019;226:77–90. DOI: 10.1016/j.lfs.2019.03.057.
3. Trist B.G., Hare D.J., Double K.L. Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease. *Aging Cell.* 2019;18(6):e13031. DOI: 10.1111/ace1.13031.
4. Hannan Md.A., Dash R., Sohag A.A.M., Haque Md.N., Moon I.S. Neuroprotection against oxidative stress: phytochemicals targeting TrkB signaling and the Nrf2-ARE antioxidant system. *Front. Mol. Neurosci.* 2020;13:116. DOI: 10.3389/fnmol.2020.00116.
5. Xing Y., Li A., Yang Y., Li X., Zhang L., Guo H. The regulation of FOXO1 and its role in disease progression. *Life Sciences.* 2018;193:124–131. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.11.030.
6. Nóbrega-Pereira S., Fernandez-Marcos P.J., Brioché T., Gomez-Cabrera M.C., Salvador-Pascual A., Flores J.M. et al. G6PD protects from oxidative damage and improves health span in mice. *Nat Commun.* 2016;7:10894. DOI: 10.1038/ncomms10894.
7. Popova T., Pinheiro de Carvalho M.A.A., Matasova L., Medvedeva L. Regulation of mitochondrial NADP-isocitrate dehydrogenase in rat heart during ischemia. *Mol. Cell Biochem.* 2007;294(1–2):97–105. DOI: 10.1007/s11010-006-9249-9.
8. Ball N., Teo W.P., Chandra S., Chapman J. Parkinson's disease and the environment. *Front. Neurol.* 2019;10:218. DOI: 10.3389/fneur.2019.00218.
9. Farombi E.O., Awogbindin I.O., Farombi T.H., Oladele J.O., Izomoh E.R., Aladelokun O.B. et al. Neuroprotective role of kolaviron in striatal redox-inflammation associated with rotenone model of Parkinson's disease. *Neurotoxicology.* 2019;73:132–141. DOI: 10.1016/j.neuro.2019.03.005.
10. Крыльский Е.Д., Разуваев Г.А., Попова Т.Н., Акинина А.И., Нихасев Л.Е. Функционирование системы антиокислительной защиты при rotenone-индуцированном паркинсонизме у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2021;171(6):701–707. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-6-701-707.
11. Ablat N., Lv D., Ren R., Xiaokaiti Y., Ma X., Zhao X. et al. Neuroprotective effects of a standardized flavonoid extract from safflower against a rotenone-induced rat model of Parkinson's disease. *Molecules.* 2016;21(9):1107. DOI: 10.3390/molecules21091107.
12. Sharma S., Kumar P., Deshmukh R. Neuroprotective potential of spermidine against rotenone induced Parkinson's disease in rats. *Neurochemistry International.* 2018;116:104–111. DOI: 10.1016/j.neuint.2018.02.010.
13. Park H.J., Lee P.H., Bang O.Y., Lee G., Ahn Y.H. Mesenchymal stem cells therapy exerts neuroprotection in a progressive animal model of Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry.* 2008;107(1):141–151. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2008.05589.x.
14. Recknagel R.O., Ghoshal A.K. Lipoperoxidation of rat liver microsomal lipids induced by carbon tetrachloride. *Nature.* 1966;210(5041):1162–1163. DOI: 10.1038/2101162a0.
15. Reznick A.Z., Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.* 1994;233:357–363. DOI: 10.1016/S0076-6879(94)33041-7.
16. Desai I.D., Martinez F.E. Bilirubin interference in the colorimetric assay of plasma vitamin E. *Clin. Chim. Acta.* 1986;154(3):247–250. DOI: 10.1016/0009-8981(86)90040-9.
17. Sharma A., Weber D., Raupbach J., Dakal T.C., Fließbach K., Ramirez A. et al. Advanced glycation end products and protein carbonyl levels in plasma reveal sex-specific differences in Parkinson's and Alzheimer's disease. *Redox. Biol.* 2020;34:101546. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101546.
18. Tripanichkul W., Jaroensupparach E.-O. Ameliorating effects of curcumin on 6-OHDA-induced dopaminergic denervation, glial response, and SOD1 reduction in the striatum of hemiparkinsonian mice. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013;17(10):1360–1368.
19. Toppo S., Vanin S., Bosello V., Tosatto S.C.E. Evolutionary and structural insights into the multifaceted glutathione peroxidase (Gpx) superfamily. *Antioxid. Redox. Signal.* 2008;10(9):1501–1514. DOI: 10.1089/ars.2008.2057.
20. Liu J., Liu H., Zhao Z., Wang J., Guo D., Liu Y. Regulation of Actg1 and Gsta2 is possible mechanism by which capsaicin alleviates apoptosis in cell model of 6-OHDA-induced Parkinson's disease. *Biosci. Rep.* 2020;40(6):BSR20191796. DOI: 10.1042/BSR20191796.
21. Jayaram S., Krishnamurthy P.T. Role of microgliosis, oxidative stress and associated neuroinflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease: The therapeutic role of Nrf2 activators. *Neurochem. Int.* 2021;145:105014. DOI: 10.1016/j.neuint.2021.105014.
22. Tejo F.V., Quintanilla R.A. Contribution of the Nrf2 pathway on oxidative damage and mitochondrial failure in Parkinson and Alzheimer's disease. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(7):1069. DOI: 10.3390/antiox10071069.
23. Gong J., Zhang L., Zhang Q., Li X., Xia X.J., Liu Y.Y. et al. Lentiviral vector-mediated SHC3 silencing exacerbates oxidative stress injury in nigral dopamine neurons by regulating the PI3K-AKT-FoxO signaling pathway in rats with Parkinson's disease. *Cell Physiol. Biochem.* 2018;49(3):971–984. DOI: 10.1159/000493228.
24. Itsumi M., Inoue S., Elia A.J., Murakami K., Sasaki M., Lind E.F. et al. Idh1 protects murine hepatocytes from

- endotoxin-induced oxidative stress by regulating the intracellular NADP(+)/NADPH ratio. *Cell Death Differ.* 2015;22(11):1837–1845. DOI: 10.1038/cdd.2015.38.
25. Wang Y.P., Zhou L.S., Zhao Y.Z., Wang S.W., Chen L.L., Liu L.X. et al. Regulation of G6PD acetylation by SIRT2 and KAT9 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress. *EMBO J.* 2014;33(12):1304–1320. DOI: 10.1002/embj.201387224.
26. Mejías R., Villadiego J., Pintado C.O., Vime P.J., Gao L., Toledo-Aral J.J. et al. Neuroprotection by transgenic expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in dopaminergic nigrostriatal neurons of mice. *Journal of Neuroscience.* 2006;26(17):4500–4508. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0122-06.2006.
27. Ulatowski L., Dreussi C., Noy N., Barnholtz-Sloan J., Klein E., Manor D. Expression of the α -tocopherol transfer protein gene is regulated by oxidative stress and common single-nucleotide polymorphisms. *Free Radic. Biol. Med.* 2012;53(12):2318–2326. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.528.
28. Ulatowski L., Manor D. Vitamin E trafficking in neurologic health and disease. *Annu. Rev. Nutr.* 2013;33:87–103. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071812-161252.

Вклад авторов

Крыльский Е.Д. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи. Разуваев Г.А. – получение данных, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи. Попова Т.Н. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Нихаев Л.Е., Акиннина А.И. – получение данных, анализ и интерпретация данных.

Информация об авторах

Крыльский Евгений Дмитриевич – канд. биол. наук, доцент кафедры медицинской биохимии и микробиологии, ВГУ, г. Воронеж, evgenij.krylsky@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8855-5515>

Разуваев Григорий Андреевич – студент, кафедра медицинской биохимии и микробиологии, ВГУ, г. Воронеж, storiesofgames@gmail.com

Попова Татьяна Николаевна – д-р биол. наук, профессор, декан медико-биологического факультета, ВГУ, г. Воронеж, biomed-porova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9660-3054>

Нихаев Леонид Евгеньевич – студент, кафедра медицинской биохимии и микробиологии, ВГУ, г. Воронеж, nikhaev.l@yandex.ru

Акиннина Алина Игоревна – студент, кафедра медицинской биохимии и микробиологии, ВГУ, г. Воронеж, alina_0611@bk.ru

(✉) **Крыльский Евгений Дмитриевич**, evgenij.krylsky@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.03.2022;
одобрена после рецензирования 25.08.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.12-089.8-78:616.132.2-089.86:616.127-007.6

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-88-96>

Особенности ремоделирования миокарда левого желудочка и сердечной гемодинамики после коронарного шунтирования on-pump или off-pump

Маянская С.Д.¹, Абзалова Г.Ф.², Гараева Л.А.³, Абдульянов И.В.³, Тепляков А.Т.⁴, Березикова Е.Н.⁵, Гребенкина И.А.⁵

¹ Казанский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, Республика Татарстан, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49

² Межрегиональный клинико-диагностический центр (МКДЦ)

Россия, Республика Татарстан, 420101, г. Казань, ул. Карбышева, 12а

³ Казанская государственная медицинская академия (КГМА) – образовательный филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО)

Россия, Республика Татарстан, 420012, г. Казань, ул. Муштары, 11

⁴ Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук

Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

⁵ Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)

Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить сравнительную динамику ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) после операций коронарного шунтирования (КШ) с использованием методов искусственного кровообращения (ИК) и на бьющемся сердце.

Материалы и методы. В исследование включены 129 пациентов с верифицированной ишемической болезнью сердца (ИБС), которым было выполнено КШ в условиях ИК (on-pump) или на бьющемся сердце (off-pump). Всем пациентам перед операцией, через 1 нед и через 4 мес проводилась эхокардиография (ЭХОКГ) и объемная компрессионная осциллометрия (ОКО), результаты которых сравнивались в группах, разделенных по методике операции и в зависимости от наличия перенесенного инфаркта миокарда с использованием вариационных рядов, апостериорного критерия Тьюки, коэффициента Пирсона и коэффициента Спирмена.

Результаты. По данным ЭХОКГ не выявлено разницы гемодинамических показателей в группах сравнения в постоперационном периоде. По данным ОКО в группе «off-pump без постинфарктного кардиосклероза (ПИКС)» через 1 нед после операции отмечены статистические отличия следующих показателей: увеличение сердечного выброса (СВ) ($p < 0,001$), ударный объем (УО) и ударный индекс (УИ) ($p = 0,005$), мощность ЛЖ (МЛЖ) ($p = 0,015$), а также увеличение сердечного индекса и МЛЖ через 4 мес. В группе пациентов с ПИКС и on-pump через 1 нед после КШ наблюдалось снижение показателей МЛЖ ($p < 0,001$) и динамики расхода энергии ($p < 0,001$). При проведении корреляционного анализа были получены умеренные связи между инотропными параметрами сердечной гемодинамики УО, УИ, СВ, МЛЖ и артериального давления ($r = 0,33-0,47$; $p < 0,001$) и заметные связи между УО, УИ, СВ, МЛЖ и фракцией выброса ($r = 0,63-0,68$; $p < 0,001$).

Заключение. После операции КШ, выполненной off-pump, через 7 сут отмечено улучшение некоторых гемодинамических показателей и всех показателей инотропной функции сердца по сравнению с пациентами

on-pump. К 4-му мес после операции off-pump наблюдалось положительное гемодинамическое ре-ремоделирование по сравнению с послеоперационным периодом после on-pump.

Ключевые слова: коронарное шунтирование, off-pump, ремоделирование

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено комитетом по этике КГМУ (протокол № 10 от 03.03.2011).

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: Маянская С.Д., Абзалова Г.Ф., Гараева Л.А., Абдульянов И.В., Тепляков А.Т., Березикова Е.Н., Гребенкина И.А. Особенности ремоделирования миокарда левого желудочка и сердечной гемодинамики после коронарного шунтирования on-pump или off-pump. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):88–96. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-88-96>.

Characteristics of left ventricular and cardiac hemodynamic remodeling after on-pump or off-pump coronary artery bypass grafting

Mayanskaya S.D.¹, Abzalova G.F.², Garaeva L.A.³, Abdulianov I.V.³, Teplyakov A.T.⁴, Berezikova E.N.⁵, Grebenkina I.A.⁵

¹ Kazan State Medical University

49, Butlerova Str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420012, Russian Federation

² Interregional Clinical and Diagnostic Center

12A, Karbysheva Str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420101, Russian Federation

³ Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Continuing Education

11, Mushtari Str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420012, Russian Federation

⁴ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences

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

⁵ Novosibirsk State Medical University (NSMU)

52, Krasnyi Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the comparative dynamics of left ventricular (LV) remodeling after on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting.

Materials and methods. The study included 129 patients with verified coronary artery disease (CAD) who underwent coronary artery bypass grafting (CABG) with cardiopulmonary bypass (on-pump CABF) or beating heart surgery (off-pump CABG). All patients underwent transthoracic echocardiography (TTE) and volumetric compression oscillometry (VCO) before surgery, as well as one week and four months after it. The results were compared in groups divided according to the surgical technique and the presence of previous myocardial infarction using variation series, the Tukey's post-hoc test, the Pearson correlation coefficient, and the Spearman's rank correlation coefficient.

Results. According to TTE data, no difference in hemodynamic parameters between the groups in the postoperative period was noted. According to VCO data, a significant difference was revealed in the off-pump group without previous MI one week after surgery: an increase in cardiac output (CO) ($p < 0.001$), an increase in stroke volume (SV) and stroke index (SI) ($p = 0.005$), LV power (LVP) ($p = 0.015$), and also a rise in cardiac index and LVP four months after the surgery. In the on-pump group of patients with previous MI a week after CABG, a decrease in the LVP ($p < 0.001$) and dynamic changes of energy expenditure ($p < 0.001$) were observed. The correlation analysis revealed moderate correlations between the inotropic parameters of cardiac hemodynamics SV, SI, CO, LVP and blood pressure (BP) ($r\pi = 0.33-0.47$; $p < 0.001$) and strong correlations between SV, SI, CO, LVP and ejection fraction (EF) ($r\pi = 0.63-0.68$; $p < 0.001$).

Conclusion. Seven days after the off-pump CABG, an improvement in some hemodynamic parameters and all inotropic parameters of the heart was revealed compared with the on-pump group. Four months after the off-pump surgery, positive hemodynamic remodeling was observed compared with the postoperative period after the on-pump CABG.

Keywords: coronary artery bypass grafting, off-pump surgery, remodeling

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: Mayanskaya S.D., Abzalova G.F., Garaeva L.A., Abdulianov I.V., Teplyakov A.T., Berezikova E.N., Grebenkina I.A. Characteristics of left ventricular and cardiac hemodynamic remodeling after on-pump or off-pump coronary artery bypass grafting. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):88–96. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-88-96>.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) неуклонно снижается благодаря массовому внедрению в клиническую практику интервенционных методов лечения и диагностики ишемической болезни сердца (ИБС). Тем не менее при распространенном многососудистом атеросклеротическом поражении коронарных артерий (КА) со значительным кальцинозом, проксимальным стенозом левой КА, а также у больных с сахарным диабетом (СД) коронарное шунтирование (КШ) по-прежнему остается операцией выбора [1–3]. У такой группы пациентов успешно выполненная операция прямой реваскуляризации миокарда на открытом сердце приводит к улучшению клинического состояния, снижению функционального класса стенокардии и увеличению фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) [4, 5].

КШ может проводиться как в условиях искусственного кровообращения (ИК) и фармако-холодовой кристаллоидной кардиоopleгии (ФХКП), или on-pump, так и на бьющемся сердце – off-pump coronary artery bypass, или off-pump [6–8]. При оперативном вмешательстве в условиях экстракорпорального кровообращения сердце подвергается ишемии и кардиоopleгии с дальнейшей реперфузией. При этом возникает состояние, известное как оглушенность миокарда, или «stunned myocardium», что вызывает задержку восстановления сократительной функции ЛЖ.

Стремление избежать реперфузионных осложнений, повысить результативность хирургического лечения и снизить послеоперационную смертность привело к развитию методики прямой реваскуляризации миокарда на бьющемся сердце – off-pump. Преимущества такого подхода связаны с отсут-

ствием травматических повреждений клеток крови, меньшей длительностью операции и отсутствием осложнений, связанных с ИК [9, 10].

Однако в современной литературе до сих пор недостаточно данных о различиях в ремоделировании сердца и сосудов у пациентов с ИБС, которые подверглись разным методам прямой реваскуляризации (on-pump и off-pump). Подобные данные представляются крайне важным, поскольку позволили бы планировать реабилитацию пациентов в послеоперационный период с учетом структурно-функциональную перестройки ЛЖ сердца, а именно изменения массы миокарда, камер сердца, его геометрии, его систолической и диастолической функции, ФВ и т.д.

Целью данного исследования явилось сравнительное исследование динамики ремоделирования ЛЖ у пациентов с ИБС после хирургической реваскуляризации миокарда с использованием методов on-pump и off-pump для оптимизации послеоперационной реабилитации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 129 пациентов с ИБС в возрасте 39–76 лет (средний возраст $57,2 \pm 8,6$ года) с тяжелыми стенотическими изменениями КА, подтвержденными по данным коронароангиографии (КАГ), с разной систолической функцией ЛЖ, которым было запланировано проведение КШ.

Критериями исключения из исследования считались: острый коронарный синдром (ОКС), острые нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), сопутствующая патология клапанов, требующая хирургического вмешательства; аневризма аорты и ЛЖ, состояния после имплантации кардиостимулятора, а также онкологическое заболевание, острые воспалительные, бронхообструктивные, ревматические, эндокринные и инфекционные заболевания.

Всем больным проводилось аортокоронарное или маммарокоронарное шунтирование с наложением одного, двух (36,1%) и более трех шунтов (63,9%).

Все обследуемые пациенты были разделены на четыре группы: 1-я группа – пациенты с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС), которым КШ проводилось в условиях ИК (on-pump) – 47 человек; 2-я группа – пациенты без ПИКС, с КШ on-pump –

27 человек; 3-я группа – пациенты с ПИКС, которым КШ проводилось на бьющемся сердце (off-pump) – 28 человек; 4-я группа – пациенты без ПИКС, с КШ off-pump – 27 человек. Диагноз ИБС был подтвержден КАГ. Сравнительная характеристика пациентов по полу, возрасту, наличию факторов риска ССЗ и сопутствующих заболеваний в группах представлена в табл. 1.

Таблица 1

Сравнительная характеристика больных в группах, n (%)				
Показатель	Группа 1, n = 47	Группа 2, n = 27	Группа 3, n = 28	Группа 4, n = 27
Средний возраст, годы, $M \pm SD$	60,5 $\pm$ 1,0	61,3 $\pm$ 1,2	57,6 $\pm$ 2,2	64,8 $\pm$ 2,8
Мужчины	37 (78,7)	19 (70,3)	10 (35,7)	13 (48,1)
ИМТ, кг/м ² , $M \pm SD$	29,4 $\pm$ 4,7	27,8 $\pm$ 4,3	28,9 $\pm$ 4,1	29,2 $\pm$ 4,7
Курение	25 (53,2)	14 (51,8)	10 (35,7)	14 (51,8)
ГБ	25 (53,2)	22 (81,5)	10 (35,7)	13 (48,1)
Поражение 1 КА	12 (25,5)	10 (37,0)	8 (28,6)	10 (37,0)
Поражение ≥ 2 КА	31 (65,9)	17 (62,9)	6 (21,4)	6 (22,2)
Стеноз ствола ЛКА	4 (8,5)	–	–	–
СД	14 (29,8)	6 (22,2)	2 (7,1)	4 (14,8)
КШ (1–2 шунта)	14 (29,8)	15 (55,5)	10 (35,7)	10 (37,0)
КШ (≤ 3 шунтов)	33 (70,2)	12 (44,4)	4 (14,3)	6 (22,2)

Примечание. ГБ – гипертоническая болезнь, ИМТ – индекс массы тела, ЛКА – левая коронарная артерия.

Всем пациентам трехкратно перед КШ, через 7 сут и через 4 мес после операции для оценки ремоделирования и гемодинамики сердца проводилась эхокардиография (ЭХОКГ) и объемная компрессионная осциллометрия (ОКО). Исследование проводилось на фоне стандартной медикаментозной терапии ИБС и хронической сердечной недостаточности.

ЭХОКГ выполнялось ультразвуковой системой экспертного класса Vivid 7 Dimension Pro. Сроки проведения ЭХОКГ – непосредственно перед операцией, через 7 сут и через 4 мес после коронарного шунтирования. Во время процедуры оценивались следующие параметры: конечный диастолический размер (КДР) ЛЖ, конечный диастолический объем (КДО) ЛЖ, конечный систолический объем (КСО) ЛЖ, ФВ ЛЖ (по Симпсону), толщина межжелудочковой перегородки (МЖП) в диастолу, толщина задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ) в диастолу и объем левого предсердия. Геометрическая перестройка ЛЖ оценивалась путем расчета индексированных показателей относительной толщины стенок (ОТС), КДО, массы миокарда ЛЖ (ММЛЖ), объема левого предсердия (ОЛП).

ОКО проводилась с помощью анализатора параметров кровообращения АПКО-8-РИЦ (фирма «Сетал», г. Казань) [11]. В основе данного метода лежит способ оценки изменения объема крупных артериальных сосудов с помощью оригинальной

измерительной системы. Методика исследования заключается в автоматическом нагнетании воздуха в манжету с контролируемой скоростью и одновременным наблюдением осцилляций на мониторе до достижения порога компрессии и последующей автоматической декомпрессии. Исследование проводится в положении сидя, натошак, с индивидуальным подбором манжеты. Далее при помощи программного обеспечения прибора рассчитывались следующие гемодинамические показатели: сердечный выброс (СВ); сердечный индекс (СИ); ударный объем (УО); ударный индекс (УИ); мощность левого желудочка (МЛЖ) (произведение УО и среднего гемодинамического давления); время изгнания крови из ЛЖ (Тизг.) – расстояние от начала подъема пульсовой кривой до точки падения ее главной систолической части; объемная скорость выброса (ОСВ) – объем крови, выбрасываемой желудочком за 1 мин; расход энергии на продвижение 1 л крови (ЭПЛК). Зная величины мощности сокращения ЛЖ, минутного объема сердца и суммарное время изгнания за 1 мин, определяют расход энергии на перемещение 1 л крови за 1 мин через ЛЖ.

Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics 20, с помощью которой проводился параметрический и непараметрический анализ. Проверка сравниваемых совокупностей на нормальность распределения оценивалась

по критерию Вилкоксона – Манна – Уитни. Для исследования по качественным признакам использовался критерий Фишера. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. При обнаружении статистически значимых различий между группами выполнялось парное сравнение совокупностей при помощи апостериорного критерия Тьюки. Для интервальных переменных проводились парные корреляции с коэффициентами по Пирсону

(гп), для ординарных значений – с коэффициентом Спирмена. Данные представлены в виде абсолютных и относительных значений n (%) и среднего $\pm$ среднеквадратичного отклонения $M \pm SD$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ показателей ремоделирования миокарда по данным ЭХОКГ в зависимости от наличия или отсутствия ПИКС представлен в табл. 2.

Таблица 2

Изменения показателей ремоделирования миокарда по данным ЭХОКГ в зависимости от метода операции и наличия ПИКС, $M \pm SD$					
Показатель	Срок	Группа 1, $n = 47$	Группа 2, $n = 27$	Группа 3, $n = 28$	Группа 4, $n = 27$
ММЛЖ, г	До КШ	239,5 $\pm$ 11,5	178,8 $\pm$ 7,0	220,8 $\pm$ 20,4	188,6 $\pm$ 6,2
	ч/з 7 сут	219,0 $\pm$ 11,0*	163,1 $\pm$ 8,8*	193,5 $\pm$ 14,5*	170,3 $\pm$ 5,7**
	ч/з 4 мес	195,5 $\pm$ 9,3###	152,1 $\pm$ 5,3###	167,1 $\pm$ 10,8##	151,7 $\pm$ 5,4###
МЖП, см	До КШ	1,10 $\pm$ 0,04	1,10 $\pm$ 0,04	1,15 $\pm$ 0,07	1,14 $\pm$ 0,05
	ч/з 7 сут	1,06 $\pm$ 0,04*	1,07 $\pm$ 0,03*	1,10 $\pm$ 0,06	1,09 $\pm$ 0,05
	ч/з 4 мес	1,0 $\pm$ 0,03###	1,02 $\pm$ 0,02###	1,02 $\pm$ 0,05#	1,01 $\pm$ 0,03###
ЗСЛЖ, см	До КШ	0,99 $\pm$ 0,04	1,0 $\pm$ 0,02	1,06 $\pm$ 0,06	1,01 $\pm$ 0,04
	ч/з 7 сут	0,99 $\pm$ 0,03	1,0 $\pm$ 0,02	0,98 $\pm$ 0,05	1,01 $\pm$ 0,03
	ч/з 4 мес	0,93 $\pm$ 0,02#	0,98 $\pm$ 0,02	0,95 $\pm$ 0,03#	0,96 $\pm$ 0,02##
ОТС ЛЖ	До КШ	0,37 $\pm$ 0,02*	0,41 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,02	0,44 $\pm$ 0,02
	ч/з 7 сут	0,36 $\pm$ 0,01	0,41 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,02*	0,41 $\pm$ 0,01
	ч/з 4 мес	0,34 $\pm$ 0,01###	0,40 $\pm$ 0,01##	0,36 $\pm$ 0,02#	0,39 $\pm$ 0,01#
КДО, мл	До КШ	133,5 $\pm$ 8,8	82,4 $\pm$ 4,1	102,8 $\pm$ 8,2	78,8 $\pm$ 3,5
	ч/з 7 сут	113,2 $\pm$ 6,6***	73,9 $\pm$ 3,6***	92,1 $\pm$ 8,7**	69,5 $\pm$ 3,4**
	ч/з 4 мес	104,2 $\pm$ 5,3###	71,3 $\pm$ 3,0###	85,3 $\pm$ 6,2###	63,9 $\pm$ 2,6##
ОЛП, мл	До КШ	72,9 $\pm$ 3,8	58,3 $\pm$ 2,3	85,0 $\pm$ 9,2	60,4 $\pm$ 2,8
	ч/з 7 сут	66,8 $\pm$ 3,4***	54,5 $\pm$ 2,2***	75,1 $\pm$ 6,8*	56,7 $\pm$ 2,6***
	ч/з 4 мес	64,4 $\pm$ 2,6###	52,1 $\pm$ 1,9###	57,3 $\pm$ 4,2#	52,5 $\pm$ 2,5###
ФВ, %	До КШ	45,0 $\pm$ 1,4*	58,7 $\pm$ 0,7	52,5 $\pm$ 2,0	60,7 $\pm$ 0,9
	ч/з 7 сут	44,7 $\pm$ 1,5	57,0 $\pm$ 0,7	50,5 $\pm$ 1,7	58,7 $\pm$ 1,3
	ч/з 4 мес	48,5 $\pm$ 1,6##	61,9 $\pm$ 0,8	54,4 $\pm$ 1,8	61,8 $\pm$ 1,0

Примечание. ЗСЛЖ – задняя стенка ЛЖ; КДО – конечно-диастолический объем ЛЖ; ММЛЖ – масса миокарда ЛЖ; МЖП – межжелудочковая перегородка; ОТС – относительная толщина стенки ЛЖ; ОЛП – объем левого предсердия; ФВ – фракция выброса.

* статистические различия между исходными показателями 1-й и 3-й группы: ОТС ЛЖ $p = 0,023$; ФВ $p = 0,009$; статистические различия в группах между исходными показателями и на 7-е сут после КШ: * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; статистические различия в группах между исходными показателями и через 4 мес после КШ: # $p < 0,05$; ## $p < 0,005$ ### $p < 0,001$.

При оценке различий исходных показателей ЭХОКГ между группами пациентов, нами были получены статистически достоверные данные только по двум показателям – ОТС и ФВ ЛЖ. Так, у пациентов, имеющих в анамнезе ИМ, прооперированных методом off-pump (группа 3), толщина стенок ЛЖ была меньше, чем в группе прооперированных on-pump (группа 1), а ФВ, наоборот, несколько выше. Однако их различия между группами в послеоперационном периоде были незначительны.

За период наблюдения во всех группах пациентов независимо от наличия ПИКС и метода хирургического лечения уже через 1 нед после КШ, а особенно к 4-му мес послеоперационного периода наблюдалось значительное снижение ММЛЖ (см. табл. 2). При этом масса ЛЖ уменьшалась во всех

группах равномерно независимо от метода КШ. Изменения ОТС ЛЖ по сравнению с исходным уровнем становились статистически значимыми лишь через 4 мес после операции. КДО ЛЖ и ОЛП снижались уже через 1 нед после операции, через 4 мес наблюдалось еще более выраженное их уменьшение. Динамика ФВ в раннем послеоперационном периоде была незначительной. Однако через 4 мес после КШ в группе пациентов с ПИКС, оперированных с применением ИК и ФХКП, отмечалось статистически значимое увеличение данного показателя – от $45,0 \pm 1,4$ до $48,5 \pm 1,6\%$ ($p = 0,004$), что, вероятно, было связано с более низкой изначально сократительной способностью миокарда именно в данной группе. Параметры сердечной гемодинамики, полученные с помощью метода ОКО, представлены в табл. 3.

Таблица 3

Гемодинамические показатели исходно, на 7-е сут и через 4 мес у больных, перенесших КШ, $M \pm SD$				
Показатель	Группа 1, $n = 47$	Группа 2, $n = 27$	Группа 3, $n = 28$	Группа 4, $n = 27$
СВ, л/мин:				
До КШ;	$5,1 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,3$	$4,8 \pm 0,2$
ч/з 7 сут;	$4,9 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,2$	$5,5 \pm 0,3$	$5,5 \pm 0,2^*$
ч/з 4 мес	$5,4 \pm 0,2^\bullet$	$6,1 \pm 0,3^{**}$	$6,1 \pm 0,3^\bullet$	$6,5 \pm 0,2^{**}$
УО, мл:				
До КШ;	$83,1 \pm 2,7$	$79,9 \pm 3,7$	$92,9 \pm 5,2$	$78,6 \pm 5,5$
ч/з 7 сут;	$63,2 \pm 2,7^*$	$66,1 \pm 3,8^*$	$84,1 \pm 6,9$	$85,8 \pm 4,7^*$
ч/з 4 мес	$79,4 \pm 2,8$	$87,6 \pm 4,3^{**}$	$90,3 \pm 6,4$	$97,2 \pm 5,5^{**}$
УИ, л/м ² :				
До КШ;	$42,4 \pm 1,5$	$43,7 \pm 1,8$	$48,2 \pm 3,2$	$43,0 \pm 2,7$
ч/з 7 сут;	$34,9 \pm 1,5^*$	$36,3 \pm 2,2^*$	$43,1 \pm 4,5$	$48,5 \pm 2,5^*$
ч/з 4 мес	$41,1 \pm 1,4$	$48,1 \pm 2,4^{**}$	$47,2 \pm 3,9$	$54,8 \pm 2,8^{**}$
МЛЖ, Вт:				
До КШ;	$3,5 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,3$	$3,6 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,2$
ч/з 7 сут;	$2,6 \pm 0,1^*$	$3,0 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,2^*$
ч/з 4 мес	$3,3 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,3^{**}$
СИ, л/мин ² :				
До КШ;	$2,7 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$
ч/з 7 сут;	$2,6 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,1^*$
ч/з 4 мес	$2,9 \pm 0,1^{**}$	$3,3 \pm 0,2^{**}$	$3,3 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,2^{**}$
$T_{\text{впр}}$, с:				
До КШ;	$300,3 \pm 10,1$	$309,0 \pm 17,3$	$365,9 \pm 40,7$	$309,8 \pm 16,1$
ч/з 7 сут;	$297,4 \pm 11,6$	$268,0 \pm 17,6$	$409,9 \pm 55,1$	$326,9 \pm 33,2$
ч/з 4 мес	$322,6 \pm 13,0$	$326,8 \pm 17,1$	$331,2 \pm 33,7$	$378,8 \pm 28,2$
ОСВ, мл/с:				
До КШ;	$285,1 \pm 14,1$	$280,8 \pm 19,7$	$294,9 \pm 29,8$	$235,9 \pm 27,3$
ч/з 7 сут;	$235,6 \pm 12,2$	$261,3 \pm 16,8$	$306,0 \pm 29,1$	$252,1 \pm 37,2$
ч/з 4 мес	$267,6 \pm 11,8$	$296,9 \pm 16,9$	$294,3 \pm 27,0$	$292,8 \pm 36,2$
ЭПЛК, Вт $\times$ с:				
До КШ;	$12,2 \pm 0,2$	$11,7 \pm 0,3$	$12,1 \pm 0,5$	$11,5 \pm 0,3$
ч/з 7 сут;	$11,1 \pm 0,2^*$	$11,2 \pm 0,3$	$11,6 \pm 0,4$	$11,7 \pm 0,4$
ч/з 4 мес	$12,4 \pm 0,3$	$12,9 \pm 0,4^{**}$	$12,9 \pm 0,5$	$12,7 \pm 0,5^{**}$

* статистические различия между исходными показателями и на 7-е сут после операции: СВ, УО, УИ $p < 0,001$ (группа 4 $p < 0,005$); МЛЖ (группа 1 $p < 0,001$; группа 4 $p = 0,015$); СИ (группа 4 $p < 0,001$); ЭПЛК (группа 1 $p < 0,001$).

**статистические различия между исходными показателями и через 4 мес после операции: СВ $p < 0,05$; $p < 0,01$; УО $p < 0,005$; УИ $p < 0,001$; СИ $p < 0,005$; ЭПЛК $p < 0,05$; $\bullet$ статистические различия между группами, $p < 0,05$.

Согласно полученным данным, через 1 нед после оперативного лечения СВ практически не менялся, за исключением пациентов группы 4 (off-pump без ПИКС), в которой данный показатель увеличился с $4,8 \pm 0,2$ до $5,5 \pm 0,2$ л/мин ($p < 0,001$). Однако уже через 4 мес после КШ у всех пациентов среднее значение СВ ЛЖ было выше, чем до операции, причем в группах после off-pump данный показатель был выше по сравнению с пациентами после on-pump ($p < 0,05$). Однако статистически значимые различия были выявлены только в группах пациентов без ПИКС.

УО и УИ ЛЖ через 1 нед после операции значительно снижались у пациентов, оперированных с применением ИК и ФХКП ($p < 0,001$), тогда как в группе 3 эти показатели уменьшались не столь существенно ($p = 0,164$), а в группе 4, наоборот, статистически значимо возрастали ($p = 0,005$). Через 4 мес

после КШ данные параметры гемодинамического ремоделирования ЛЖ у пациентов, имеющих в анамнез ИМ, возрастали до значений, сопоставимых с исходным уровнем. При этом наиболее выраженный прирост УО и УИ ЛЖ отмечался в группе 4 без ПИКС.

В группе 1 пациентов (с ПИКС) через 1 нед после КШ с применением ИК и ФХКП наблюдалось значительное снижение показателя мощности ЛЖ ($p < 0,001$), тогда как в группах 2 и 3 данный показатель был сопоставимым с исходными значениями ($p = 0,093$ и $p = 0,397$ соответственно). В группе 4 пациентов (без ПИКС после КШ на бьющемся сердце) уровень МЛЖ уже к концу 7-х сут, наоборот, демонстрировал статистически значимый рост ($p = 0,015$). Через 4 мес после операции показатель во всех группах, кроме 4-й, оказался сопоставимым с исходным уровнем, тогда как в последней наблюда-

лось его дальнейшее увеличение. В этой же группе отмечался аналогичный прирост СИ.

Наконец, динамика расхода энергии продвижения 1 л крови через ЛЖ через 1 нед после операции характеризовалась статистически значимым снижением с $12,2 \pm 0,2$ до $11,1 \pm 0,2$ Вт $\times$ с у пациентов самой тяжелой группы 1 (с ПИКС и после КШ on-pump) ($p < 0,001$). В остальных группах значения ЭПЛК были сопоставимыми с исходным уровнем. Через 4 мес после шунтирования средние показатели увеличились во всех группах, но статистически значимый прирост был получен у пациентов без перенесенного ИМ. При проведении корреляционного анализа были получены умеренные связи между инотропными параметрами сердечной гемодинамики УО, УИ, СВ, МЛЖ и артериальным давлением ($r = 0,33-0,47$; $p < 0,001$) и заметные связи между УО, УИ, СВ, МЛЖ и ФВ ($r = 0,63-0,68$; $p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что после операции прямой реваскуляризации миокарда происходит адаптация сердца к новым условиям функционирования, что вызывает структурно-функциональную перестройку [12]. Вопрос о влиянии метода шунтирования (on-pump или off-pump) на показатели внутрисердечной гемодинамики и ре-ремоделирования сердца остается открытым. Тем не менее этот вопрос требует тщательного изучения, поскольку данные о динамике сердечных показателей в послеоперационном периоде могут использоваться как для оценки эффективности хирургического лечения [13, 14], так и для подбора программы реабилитации пациентов после шунтирования в зависимости от метода операции.

Вопрос о том, каким именно образом происходит функционально-анатомическая перестройка ЛЖ в послеоперационном периоде и какую роль в этом играет метод операции (on-pump или off-pump), в настоящее время не совсем ясен. Однако уже через 1 нед после КШ, и особенно к концу 4-го мес, независимо от метода операции и ИМ в анамнезе наблюдалось уменьшение ММЛЖ, а также показателей толщины стенок сердца – МЖП, ЗСЛЖ, ОТС. По-видимому, процессы, происходящие после реваскуляризации, сохранившей жизнеспособность миокарда, способствуют быстрой нормализации структурных и анатомических параметров миокарда и улучшению насосной функции ЛЖ, что подтверждается достоверным возрастанием этих показателей к концу наблюдения.

Аналогичные изменения в виде снижения отмечены в отношении объемных показателей сердца – КДО ЛЖ и ОЛП. Все это сопровождалось законо-

мерной динамикой основного параметра сократительной способности миокарда – ФВ, сначала в виде его уменьшения, а затем – достижения исходного уровня или даже небольшого роста [15]. Но все эти изменения носили довольно общий характер и не позволяли выявить различия в ремоделировании сердца при КШ как on-pump, так и off-pump. В конце концов хирургическая реваскуляризация независимо от метода приводила к положительным структурно-анатомическим изменениям сердца. В данной ситуации на представилось важным оценить не только структурное, но и гемодинамическое сердечное ремоделирование в группах с применением разных методов КШ.

В связи с этим была проведена оценка ряда параметров сердечной гемодинамики с помощью ОКО. Данный метод доступен, технически не имеет ограничений и может быть легко воспроизведен в практических условиях, что особенно важно для последовательного динамического наблюдения. По результатам данного исследования было выявлено значительное различие практически всех основных показателей гемодинамики, таких как СВ, СИ, УО, УИ ЛЖ в зависимости от метода шунтирования. Так, у пациентов в группе 1 (с ПИКС и on-pump) в течение 1 нед наблюдалось снижение данных параметров, тогда как у пациентов групп 3 и 4 (off-pump) показатели снижались незначительно. В группе 4 (без ПИКС), наоборот, наблюдался статистически значимый прирост. К 4-му мес после операции гемодинамика стабилизировалась во всех группах, однако у пациентов группы 4 эти параметры были существенно выше.

Мы не получили тесную корреляционную связь между параметрами ЭХОКГ, ОКО и непараметрическими данными, отражающими факторы риска, сопутствующие заболевания, ПИКС и количество шунтированных артерий. Поэтому можем предположить, что подобная зависимость от метода хирургического лечения связана не только с разной тяжестью ИБС в группах, но и, вероятно, с длительностью, травматичностью хирургического вмешательства, ишемическими и реперфузионными повреждениями, нефизиологичностью процедуры и, безусловно, кардиодепрессивным влиянием метода on-pump.

В таком режиме КШ, по данным разных исследователей, угнетение гемодинамических показателей сердца отмечается практически через 2 ч после операции и приводит к снижению ФВ в среднем с 50 до 30%. При этом сократительная функция сердца может восстанавливаться к концу 1-х сут после КШ или даже гораздо позднее [16, 17]. О кардиодепрессивном влиянии КШ «on-pump», приводящему

к быстрому снижению мощности ЛЖ и уменьшению расхода его ЭПЛК за 1 мин, свидетельствуют и наши данные. Между тем после КШ на бьющемся сердце этого снижения практически не наблюдалось, что может быть связано с относительно быстрым восстановлением активности миокарда после гипбернации даже у тяжелых пациентов. При этом наличие перенесенного ИМ существенно замедляло восстановление инотропной функции сердца вне зависимости от метода шунтирования. Тем не менее в группе пациентов, которым КШ было выполнено на бьющемся сердце, стабилизация его систолической функции наблюдалась значительно быстрее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, метод хирургического лечения влияет не только на структурно-анатомическое ремоделирование сердца, но и в значительной степени на параметры сердечной гемодинамики в послеоперационном периоде. У пациентов с ИБС после операции коронарного шунтирования, выполненного на бьющемся сердце (off-pump), через 7 сут наблюдается достоверное улучшение всех показателей инотропной функции сердца по сравнению с пациентами on-pump. К 4-му мес после операции в условиях off-pump параметры положительного гемодинамического ре-ремоделирования становятся еще заметнее, чем у пациентов после КШ в условиях ИК. Данный факт свидетельствует о более быстром и качественном восстановлении миокарда и позволяет оптимизировать программу реабилитационных мероприятий в зависимости от способа хирургического лечения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Поляков Р.С., Абугов С.А., Жбанов И.В., Саакян Ю.М., Пурецкий М.В., Пиркова А.А. и др. Коронарное стентирование у больных ишемической болезнью сердца с многососудистым поражением коронарного русла и низкими оценками по шкале SYNTAX SCORE. *Кардиология*. 2013;53(10):4–9.
- Locker C. Off-pump or on-pump coronary artery bypass grafting in diabetes: Is this the important question?. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2019;157(3):970–971. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2018.08.069.
- Zhang X., Wu Z., Peng X. et al. Prognosis of Diabetic Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Surgery Compared With Nondiabetics: A Systematic Review and Meta-analysis. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2011;25(2):288–298. DOI: 10.1053/j.jvca.2010.09.021.
- Mohr F., Morice M., Kappetein A. et al. Coronary artery bypass graft surgery versus percutaneous coronary intervention in patients with three-vessel disease and left main coronary disease: 5-year follow-up of the randomised, clinical SYNTAX trial. *The Lancet*. 2013;381(9867):629–638. DOI: 10.1016/s0140-6736(13)60141-5.
- Panza J., Velazquez E., She L. et al. Extent of Coronary and Myocardial Disease and Benefit From Surgical Revascularization in LV Dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;64(6):553–561. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.04.064.
- Simard T., Hibbert B., Pourdjabbar A. et al. Percutaneous coronary intervention with or without on-site coronary artery bypass surgery: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Cardiol.* 2013;167(1):197–204. DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.12.035.
- Ma G., Fan Y., Shao W., Qi L. Meta-Analysis for the Prognosis of On-Pump Versus Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018;72(3):344–345. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.03.544.
- Takagi H., Ando T., Mitta S. Meta-Analysis Comparing ≥ 10 -Year Mortality of Off-Pump Versus On-Pump Coronary Artery Bypass Grafting. *Am. J. Cardiol.* 2017;120(11):1933–1938. DOI: 10.1016/j.amjcard.2017.08.007.
- Kim K., Choi J., Oh S. et al. Twenty-year experience with off-pump coronary artery bypass grafting and early postoperative angiography. *Ann. Thorac. Surg.* 2020;109(4):1112–1119. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2019.07.053.
- Smart N., Dieberg G., King N. Long-term outcomes of on-versus off-pump coronary artery bypass grafting. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018;71(9):983–991. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.12.049.
- Шидловская С.А., Дедебаева Л.Б., Дегтярев В.А., Чомахидзе П.Ш., Копылов Ф.Ю. Опыт применения объемной компрессионной осциллометрии у пациентов с артериальной гипертензией. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2015;8(2):33–37. DOI: 10.17116/kardio20158233-37.
- Shi Y., Denault A., Couture P., Butnaru A., Carrier M., Tardif J. Biventricular diastolic filling patterns after coronary artery bypass graft surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2006;131(5):1080–1086.e3. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2006.01.015.
- Mathison M., Edgerton J., Horswell J., Akin J., Mack M. Analysis of hemodynamic changes during beating heart surgical procedures. *Ann. Thorac. Surg.* 2000;70(4):1355–1360. DOI: 10.1016/s0003-4975(00)01590-3.
- Liu J., Tanaka N., Murata K. et al. Prognostic value of pseudonormal and restrictive filling patterns on left ventricular remodeling and cardiac events after coronary artery bypass grafting. *Am. J. Cardiol.* 2003;91(5):550–554. DOI: 10.1016/s0002-9149(02)03304-0.
- Martinez E. No Major Differences in 30-Day Outcomes in High-Risk Patients Randomized to Off-Pump Versus On-Pump Coronary Bypass Surgery: The Best Bypass Surgery Trial. *Yearbook of Critical Care Medicine*. 2010;121(4):498–504. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.880443.
- Ng K., Popovic Z., Troughton R., Navia J., Thomas J., Garcia M. Comparison of left ventricular diastolic function after on-pump versus off-pump coronary artery bypass grafting. *Am. J. Cardiol.* 2005;95(5):647–650. DOI: 10.1016/j.amjcard.2004.10.043.
- Zhao D., Edelman J., Seco M., Bannon P., Vally M. Long-term outcomes following off-pump coronary artery bypass grafting. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018;72(3):345–347. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.04.068.

Вклад авторов

Маянская С.Д., Абзалова Г.Ф., Березикова Е.Н. – концепция и дизайн исследования. Абзалова Г.Ф. – сбор и обработка материала, статистическая обработка. Маянская С.Д., Гараева Л.А. – написание текста. Маянская С.Д., Абдульянов И.В, Тепляков А.Т., Гребенкина И.А. – редактирование.

Информация об авторах

Маянская Светлана Дмитриевна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии, КГМУ, г. Казань, smayanskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6701-5395>

Абзалова Гузель Фаритовна – канд. мед. наук, врач функциональной диагностики, МКДЦ, г. Казань, guselka88@bk.ru

Гараева Лилия Айратовна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра кардиологии, рентгенэндоваскулярной и сердечно-сосудистой хирургии, КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Казань, garaevalily@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9427-6037>

Абдульянов Ильдар Васильевич – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой кардиологии, рентгенэндоваскулярной и сердечно-сосудистой хирургии, КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО; врач сердечно-сосудистый хирург, кардиохирургическое отделение № 2, МКДЦ, г. Казань, ildaruna@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2892-2827>

Тепляков Александр Трофимович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Vgelen1970@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0721-0038>

Березикова Екатерина Николаевна – д-р мед. наук, доцент, кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск, <https://orcid.org/0000-0002-9630-0213>

Гребенкина Ирина Аркадьевна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск, <https://orcid.org/0000-0002-5563-2983>

(✉) **Маянская Светлана Дмитриевна**, smayanskaya@mail.ru

Поступила в редакцию 05.09.2022;
одобрена после рецензирования 14.10.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616-056.257-06:616.248]-002-053.2
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-97-103>

Цитокиновый профиль при ожирении и бронхиальной астме у детей

Тарабрина А.А.¹, Огородова Л.М.¹, Самойлова Ю.Г.¹, Федосенко С.В.¹, Федорова О.С.¹,
Петров В.А.¹, Подчиненова Д.В.¹, Бойко А.С.²

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

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Детское ожирение является одной из актуальных проблем современного здравоохранения, поскольку связано с высоким риском возникновения хронических неинфекционных заболеваний, таких как бронхиальная астма (БА).

Цель исследования – определение особенности цитокиновых профилей у детей с диагностированной БА и без нее в зависимости от массы тела и площади висцерального жира.

Материалы и методы. На первом этапе 506 школьникам г. Томска выполнена антропометрия с расчетом индекса массы тела, измерение площади висцеральной жировой ткани на аппарате Inbody 770. Во второй клинико-диагностический этап включен 51 ребенок из первого этапа. Сформированы четыре клинические группы: «ожирение» ($n = 17$), «висцеральное ожирение» ($n = 7$), «бронхиальная астма» ($n = 15$) и здоровые дети ($n = 12$). Всем участникам определен уровень интерлейкина (IL) 6, 8, 4, 10 и иммуноглобулина (Ig) E в сыворотке крови путем мультиплексного анализа (анализаторы MagPix и Luminex 200 c). Статистический анализ данных проведен с помощью пакета программы Statistica for Windows 10.0, а также с использованием языка R (версия 4.2.2).

Результаты. Уровень IL-10 в группах «бронхиальная астма» ($p < 0,006$) и «ожирение» ($p < 0,008$) был достоверно более высоким по сравнению с группой «висцеральное ожирение». При оценке IL-8 установлен достоверно более высокий уровень у больных БА ($p < 0,003$) и ожирением ($p < 0,003$) чем при висцеральном ожирении. Более высокие концентрации IL-6 выявлены в группах «бронхиальная астма» ($p < 0,001$) и «ожирение» ($p < 0,028$) по сравнению с группой «висцеральное ожирение».

Заключение. Схожие изменения IL-6, IL-8, IL-10 в сторону их повышения у детей, страдающих бронхиальной астмой и ожирением без анамнеза астмы, могут объяснять вклад ожирения как фактора риска при астме у детей, возможно, через избыточную продукцию указанных провоспалительных цитокинов, способствующих реализации аллергического Th2-опосредованного воспаления.

Ключевые слова: бронхиальная астма, ожирение, висцеральное ожирение, воспаление, цитокины

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

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

Соответствие принципам этики. До проведения предусмотренных процедур законным представителем ребенка подписано информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 8459/2 от 28.10.2020).

✉ Тарабрина Анна Александровна, Aa.tarabrina@mail.ru

Для цитирования: Тарабрина А.А., Огородова Л.М., Самойлова Ю.Г., Федосенко С.В., Федорова О.С., Петров В.А., Подчиненова Д.В., Бойко А.С. Цитокиновый профиль при ожирении и бронхиальной астме у детей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):97–103. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-97-103>.

The cytokine profile in obesity and asthma in children

Tarabrina A.A.¹, Ogorodova L.M.¹, Samoilova Yu.G.¹, Fedosenko S.V.¹, Fedorova O.S.¹, Petrov V.A.¹, Podchinenova D.V.¹, Boyko A.S.²

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, 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

ABSTRACT

Background. Childhood obesity is one of the pressing problems in modern healthcare, since it is associated with a high risk of non-communicable diseases, such as bronchial asthma (BA).

The aim. To determine the features of cytokine profiles in children with and without BA, depending on body weight and visceral fat area.

Materials and methods. At the first stage, 506 Tomsk schoolchildren underwent anthropometry with the calculation of the body mass index (BMI) and measurement of the visceral fat area (VFA) using the InBody 770 analyzer. Fifty-one (51) children from the first stage were included in the second clinical and diagnostic stage. The children were divided into four clinical groups: “Obesity” ($n = 17$), “Visceral Obesity” ($n = 7$), “Asthma” ($n = 15$), and “Healthy Children” ($n = 12$). In all study participants, the levels of interleukin (IL)-6, IL-8, IL-4, IL-10, and immunoglobulin (Ig) E in the blood serum were determined by the multiplex assay (MagPix and Luminex 200 c analyzers). Statistical data analysis was carried out using the Statistica 10.0 software package and the 4.2.2 version of R.

Results. The levels of IL-10 in the “Asthma” ($p < 0.006$) and “Obesity” ($p < 0.008$) groups were significantly higher than in the “Visceral Obesity” group. Significantly higher levels of IL-8 were found in patients with asthma ($p < 0.003$) and obesity ($p < 0.003$) compared to the “Visceral Obesity” group. Higher concentrations of IL-6 were found in the “Asthma” ($p < 0.001$) and “Obesity” ($p < 0.028$) groups compared to the “Visceral Obesity” group.

Conclusion. Similar upward changes in IL-6, IL-8, and IL-10 in children with asthma and obesity without a history of asthma may explain the contribution of obesity to a risk of asthma in children, possibly through excessive production of these proinflammatory cytokines that contribute to the implementation of Th2-mediated allergic inflammation.

Keywords: asthma, obesity, visceral obesity, inflammation, cytokines

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

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

Conformity with the principles of ethics. A legally authorized representative of every child signed an informed consent to carrying out of the procedures. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 8459/2 of 28.10.2020).

For citation: Tarabrina A.A., Ogorodova L.M., Samoilova Yu.G., Fedosenko S.V., Fedorova O.S., Petrov V.A., Podchinenova D.V., Boyko A.S. The cytokine profile in obesity and asthma in children. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):97–103. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-97-103>.

ВВЕДЕНИЕ

Ожирение в детском и подростковом возрасте является одной из актуальных проблем современного здравоохранения, поскольку связано с высоким

риском возникновения хронических неинфекционных заболеваний, таких как бронхиальная астма (БА), артериальная гипертензия, сахарный диабет 2-го типа в более старшем возрасте [1–4]. По данным Всемирной организации здравоохранения, в

2020 г. ожирение зарегистрировано у 4,4 млн (7,9%) детей в возрасте до 5 лет в европейском регионе [5]. Согласно данному отчету, каждый восьмой ребенок (11,6%) в возрасте 5–9 лет страдает ожирением, каждый третий (29,5%) – избыточной массой тела [5]. Результаты исследования, проведенного в восьми федеральных округах России в 2017 г. среди 2 тыс. детей, показали, что частота ожирения у мальчиков в возрасте 11 и 15 лет составила 18,6 и 10%, у девочек 11 и 15 лет – 9,2 и 3,6% соответственно [6].

В настоящее время особое внимание уделяют пациентам с избытком висцеральной жировой ткани (ВЖТ) при нормальном индексе массы тела (ИМТ) [7]. Ю.Г. Самойлова и соавт. в своей работе установили, что распространенность висцерального ожирения у детей в возрасте до 10 лет ($n = 625$) составляла 2% у девочек и 1,6% у мальчиков, а в группе старше 10 лет ($n = 1\,314$) – 6,7% у девочек и 8,5% у мальчиков [8].

Многочисленные исследования продемонстрировали, что ожирение, или избыточный вес, ассоциировано с развитием астмы у детей [9–11]. При этом пациенты с БА и ожирением отличались худшим ответом на применение будесонида в отношении функции легких, а также чаще нуждались в госпитализации по поводу БА [12, 13]. При этом результаты некоторых работ указывают на возможную роль избытка жировой ткани в развитии системного воспаления и увеличении последующего риска хронических неинфекционных заболеваний, таких как БА [2, 14, 15]. В частности, обсуждается механизм участия макрофагов M1, которые способствуют секреции не T2-цитокинов (TNF α , IL-17A, IL-21, IFN γ , TGF- β 1, IL-6) активированными Th1- и (или) Th17-лимфоцитами в жировой ткани с последующей аккумуляцией нейтрофилов в тканях-мишенях [15–17].

С одной стороны, в работе Н.А. Periyalil и соавт. показано, что у взрослых пациентов с ожирением и БА количество макрофагов M1 в ВЖТ коррелирует с ИМТ [18]. С другой стороны, исследования демонстрируют развитие хронического воспаления с участием подкожной и висцеральной жировой ткани (ПЖТ) [19].

В целом современные результаты исследований являются разрозненными и не дают представления о вкладе воспаления, инициированного висцеральным или подкожным ожирением, в риск развития БА у детей. Цель исследования: установить особенности цитокинового профиля у детей с диагностированной БА и без нее в зависимости от массы тела и площади висцерального жира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование выполнено в два этапа. Первый эпидемиологический этап являлся частью многоцентрового проспективного эпидемиологического исследования «Профилактика ожирения у детей и подростков (клинико-метаболические, диагностические и реабилитационные аспекты)» и выполнен в период с октября 2020 по июнь 2021 г. в четырех школах г. Томска (разрешение этического комитета СибГМУ № 8459/2 от 28.10.2020). В рамках данного этапа сплошным образом включены 506 школьников в возрасте 7–12 лет, исключение составили дети с моногенными формами ожирения, сахарным диабетом 1-го и 2-го типа, тяжелой или нестабильной соматической патологией.

В данной группе выполнен комплекс исследований, включавший измерение антропометрических показателей (рост, вес) в легкой одежде, без обуви с помощью весов, установленных в аппарате InBody 770 (точность 0,1 кг), и медицинского ростомера МСК-233 (точность до 0,1 см) (компания «Меги», Уфа, Россия). Расчет Standard Deviation Score (SDS) ИМТ проводился при помощи программы WHO Anthro Plus, биоимпедансометрия с определением площади ВЖТ – на аппарате InBody 770 (Biospace Co., Ltd., Сеул, Корея).

На втором клинико-диагностическом этапе проведено исследование «случай – контроль». Все участники первого этапа получили предложение продолжить участие в исследовании. После проведения 1-го этапа были сформированы четыре клинические группы: группа 1 – пациенты с ожирением ($n = 17$), группа 2 – с нормальным SDS ИМТ и висцеральным ожирением по данным биоимпедансометрии ($n = 7$), группа 3 – с БА без избытка ВЖТ и ожирения ($n = 15$), и группа 4 – здоровые дети ($n = 12$). Пациенты с БА рекрутированы из клинической базы детской клиники СибГМУ. Детям проведено исследование уровня цитокинов: IL-6, IL-8, IL-4, IL-10 в сыворотке на мультиплексных анализаторах Magpix и Luminex 200 (Luminex Corp., США) на базе ЦКП «Медицинская геномика» (Томский НИМЦ).

Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета программы Statistica for Windows 10.0. Результаты исследования обработаны посредством расчета описательных статистик. Проверку на нормальность распределения признаков осуществили с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для количественных данных, которые подчинялись нормальному закону распределения, рассчитывали среднее арифметическое и стандартное отклонение $M \pm SD$. Для неподчиняющихся нормальному закону

распределения рассчитывали медиану и интерквартильный размах $Me (Q_1; Q_3)$. Различия в параклинических параметрах между группами оценивали с помощью критерия Манна – Уитни – Вилкоксона (для количественных переменных). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Также проведен статистический анализ с использованием языка R (версия 4.2.2). Перед проведением анализа показатели цитокинов были нормализованы с использованием ранговой нормализации и переведены в единицы стандартных отклонений. Затем выборку проанализировали на предмет многомерных выбросов. Для оценки вклада состояния пациентов и их антропометрических параметров в вариабельность концентрации цитокинов использовали многомерный дисперсионный анализ для матриц расстояний с перестановками (функция `adonis2` пакета `vegan`). Для этого рассчитывали матрицу расстояния между значениями концентраций цитокинов пациентов в евклидовом пространстве (функция `vegdist` пакета `vegan`), а затем применяли `adonis2` с 9999 перестановками и расчетом маргинальных эффектов всех переменных. В модель были включены возраст,

ИМТ, пол, группировка по клиническим параметрам и ВЖТ. Для поиска попарных различий между группами пациентов использовали функцию `pairwise.adonis`. В случае множественных сравнений для p -значений использовали поправку FDR.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В данной статье отражены и обсуждены результаты второго клинико-диагностического этапа. Количество детей, включенных в клинико-диагностический этап исследования, составило 51 человек, из них 31 (61%) мальчик и 20 (39%) девочек. Средний возраст составил 9,3 (9; 10) лет. Основные антропометрические, половозрастные характеристики и результаты биоимпедансного анализа кинических групп приведены в табл. 1.

Аллергический характер заболеваний подтвержден у всех пациентов клинической группы «бронхиальная астма» результатами исследования IgE и IL-4, которые составили 450 (151,6; 500) МЕ/мл и 76,1 (2,61; 428,7) пг/мл соответственно. Результаты оценки уровней провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и IL-10 представлены в табл. 2.

Таблица 1

Антропометрические, половозрастные характеристики и результаты биоимпедансного анализа клинических групп						
Группа	Рост, см, $M \pm SD$	ИМТ, $M \pm SD$	ВЖТ, $cm^2, M \pm SD$	Пол ребенка		Возраст, лет, $Me (Q_1; Q_3)$
				мальчики	девочки	
Группа 1, $n = 17$	142,3 $\pm$ 6,3	24,3 $\pm$ 4,11	99,1 $\pm$ 48,3	10	7	9 (9; 10)
Группа 2, $n = 7$	144,5 $\pm$ 4,5	17,2 $\pm$ 1,13	46,9 $\pm$ 5,7	2	5	10 (9; 10)
Группа 3, $n = 15$	139,1 $\pm$ 6,3	15,4 $\pm$ 1,03	24 $\pm$ 7,6	11	4	9 (8; 10)
Группа 4 $n = 12$	138,0 $\pm$ 5,9	16,4 $\pm$ 0,6	24,7 $\pm$ 9,2	8	4	9 (9; 10)

Таблица 2

Вариабельность уровня IL-6, IL-8, IL-10 в клинических группах, пг/мл, $Me (Q_1; Q_3)$				
Показатель	Группа 1, $n = 17$	Группа 2, $n = 7$	Группа 3, $n = 15$	Группа 4, $n = 12$
IL-10	1,83 (1,10; 3,72) ²	0,92 (0,43; 1,14) ^{1, 2}	2,1 (1,15; 3,79) ¹	1,26 (1,09; 2,05)
IL-8	8,9 (5,48; 14,25) ²	4,36 (2,23; 4,76) ^{1, 2, 3}	9,6 (6,43; 29,3) ¹	8,9 (7,5; 11,01) ³
IL-6	1,3 (0,46; 5,39) ²	0,46 (0,25; 0,46) ^{1, 2, 3}	5,3 (1,02; 20,6) ^{1, 4}	0,48 (0,46; 1,49) ^{3, 4}

Примечание. Достоверные различия ($p < 0,05$) между группами: ¹ «бронхиальная астма» и «висцеральное ожирение», ² «ожирение» и «висцеральное ожирение», ³ «висцеральное ожирение» и «контрольной», ⁴ «бронхиальная астма» и «контрольная» (U-критерий Манна – Уитни).

Уровень IL-10 в группах «бронхиальная астма» ($p < 0,006$) и «ожирение» ($p < 0,008$) был статистически значимо более высоким, чем в группе «висцеральное ожирение» (см. табл. 2). При оценке провоспалительного IL-8 установлен значимо более высокий уровень у больных БА ($p < 0,003$) и ожирением ($p < 0,003$), чем при висцеральном ожирении. Исследование провоспалительного IL-6 продемонстрировало более высокое его содержание в группах «бронхиальная астма» ($p < 0,001$) и «ожирение»

($p < 0,028$) по сравнению с клинической группой «висцеральное ожирение» (см. табл. 2).

На следующем этапе проведена оценка показателя совокупного цитокинового профиля с позиции анализа факторов, влияющих на его дисперсию. С этой целью применен многомерный дисперсионный анализ, включавший такие факторы, как возраст, ИМТ, пол, клиническую группу и площадь ВЖТ. В табл. 3 показана взаимосвязь между указанными параметрами и совокупным цитокиновым профилем.

Таблица 3

Взаимосвязь между характеристиками пациентов и совокупным профилем исследованных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10)		
Показатель	R^2	p -value
Возраст	0,015	0,353
Пол	0,033	0,059
ИМТ	0,045	0,018
ВЖТ, см ²	0,045	0,019
Клинические группы	0,110	0,028

Примечание. R^2 – коэффициент детерминации (здесь и в табл. 4).

Как показали результаты непараметрического дисперсионного анализа, переменная «клинические группы» объяснила 11% вариабельности уровня цитокинов ($R^2 = 0,110$; $p = 0,028$), 4% – ИМТ ($R^2 = 0,045$; $p = 0,018$), 4% – ВЖТ ($R^2 = 0,045$; $p = 0,019$).

Далее проведен анализ межгрупповых различий совокупного цитокинового профиля при помощи алгоритма adonis для попарного сравнения (табл. 4).

Таблица 4

Взаимосвязь цитокинового профиля и клинических групп			
Группа сравнения	R^2	p -value	p -adjusted
БА vs висцеральное ожирение	0,247	0,0021	0,0105
БА vs ожирение	0,049	0,169	0,241
БА vs контрольная	0,100	0,031	0,078
Висцеральное ожирение vs ожирение	0,140	0,007	0,023
Висцеральное ожирение vs контроль	0,177	0,001	0,005
Ожирение vs контроль	0,029	0,545	0,681

Примечание. Достигнутый уровень значимости с поправкой FDR – p -adjusted.

При проведении попарных сравнений клинических групп по совокупной концентрации цитокинов установлены значимые различия между группами «бронхиальная астма» и «висцеральное ожирение» ($R^2 = 0,247$; $p = 0,002$), «висцеральное ожирение» и «ожирение» ($R^2 = 0,140$; $p = 0,007$), «висцеральное ожирение» и «контрольная группа» ($R^2 = 0,177$; $p = 0,001$). При этом отсутствовали статистические различия между группами «бронхиальная астма» и «ожирение» (см. табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ожирение и бронхиальная астма входят в группу актуальных хронических неинфекционных заболеваний у детей и подростков [20]. Исследователи активно обсуждают роль ожирения и висцерального ожирения как возможных факторов риска развития бронхиальной астмы, а также как сопутствующих заболеваний, отягощающих течение БА [4, 20–22].

Результаты данного исследования свидетельствуют о схожих изменениях некоторых не Т2-цитокинов (IL-6, IL-8, IL-10) в сторону их повышения у детей, страдающих бронхиальной астмой и ожирением без БА. Именно однонаправленность провоспалительных изменений может быть фундаментальной основой реализации риска развития астмы у детей с ожирением. Данные изменения не подтверждены в группе пациентов с висцеральным ожирением без повышения ИМТ, что может свидетельствовать о более низкой провоспалительной активности ВЖТ у этих пациентов в отношении продукции изучаемых цитокинов и (или) о значимости высокого ИМТ в патогенезе указанных отклонений.

С точки зрения гетерогенности клинических проявлений и различий в иммунном ответе, выделяют два основных эндотипа бронхиальной астмы [20]. Т2-эндотип (Т2-высокий), реализуемый преимущественно через активность Th2-лимфоцитов, является основным механизмом детской аллергической астмы, характеризующейся эозинофильным воспалением и секрецией Т2-цитокинов (IL-4, -5, -9 и -13) [23, 24]. Действительно, в данном исследовании у пациентов, страдающих бронхиальной астмой, и только у них, зарегистрированы высокие показатели IgE и IL-4, отражающие активность Th2-воспаления. Наряду с базовым аллергическим механизмом в ходе исследования у больных бронхиальной астмой зарегистрированы также высокие уровни не Th2-цитокинов – IL-6, IL-8, IL-10. Совокупный цитокиновый профиль при бронхиальной астме при проведении многомерного дисперсионного анализа не показал достоверных различий с клинической группой «ожирение», но достоверно различался с клинической группой «висцеральное ожирение» за счет более низких уровней изучаемых цитокинов.

Известно, что IL-6 участвует в развитии нейтрофильного воспаления [25]. Исследования указывают также, что участие этого цитокина в развитии воспаления при аллергической астме связано со способностью регулировать дифференцировку наивных CD4 Т-лимфоцитов до Th2 клеток посредством синтеза IL-4 [26, 27].

Что касается IL-8, этот цитокин демонстрирует высокие показатели у детей, страдающих астмой. Данный цитокин обладает хемоаттрактантной активностью, преимущественно в отношении хемотаксиса нейтрофилов в очаг воспаления [14, 28]. Между тем М. Nodeib и соавт. установили корреляцию между концентрацией IL-8 и уровнем IgE ($r = 0,789$; $p < 0,001$) в сыворотке крови [29].

С одной стороны, опубликованы данные, подтверждающие роль IL-10 в регуляции аллергиче-

ского воспаления и синтеза IgE [30, 31]. С другой стороны, IL-10 способствует активации макрофагов M2 в жировой ткани, а также воздействует непосредственно на адипоциты, снижая их провоспалительную активность, что может объяснять высокий уровень данного цитокина у пациентов из группы «ожирение» [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следовательно, изученные нами не Th-2-цитокины (IL-6, IL-8, IL-10), известные участники системного воспаления при ожирении, вовлечены также и в развитие воспаления при аллергической астме. В целом это сходство механизмов может составлять основу вклада ожирения как фактора риска при астме у детей, возможно, через избыточную продукцию указанных провоспалительных цитокинов, способствующих реализации аллергического Th2-опосредованного воспаления.

Что касается висцерального ожирения, результаты данного исследования не позволяют подтвердить самостоятельную роль ВЖТ в реализации системного воспаления в контексте изученных провоспалительных цитокинов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Петеркова В.А., Безлепкина О.Б., Болотова Н.В., Богова Е.А., Васюкова О.В., Гирш Я.В. и др. Клинические рекомендации «Ожирение у детей». *Проблемы эндокринологии*. 2021;67(5):67–83.
2. Rohm T.V., Meier D.T., Olefsky J.M., Donath M.Y. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022;55(1):31–55. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.12.013.
3. Suliga E. Visceral adipose tissue in children and adolescents: A review. *Nutr. Res. Rev.* 2009;22(2):137–147. DOI: 10.1017/S0954422409990096.
4. Gaines J., Vgontzas A.N., Fernandez-Mendoza J. et al. Increased inflammation from childhood to adolescence predicts sleep apnea in boys: A preliminary study. *Brain Behav. Immun.* 2017;64:259–265. DOI: 10.1016/j.bbi.2017.04.011.
5. WHO European Regional Obesity Report 2022. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2022.
6. Намазова-Баранова Л.С., Елецкая К.А., Кайтукова Е.В., Макарова С.Г. Оценка физического развития детей среднего и старшего школьного возраста: анализ результатов одномоментного исследования. *Педиатрическая фармакология*. 2018;15(4):333–342. DOI: 10.15690/pf.v15i4.1948.
7. Simoni P., Guglielmi R., Aparisi Gómez M.P. Imaging of body composition in children. *Quant Imaging Med. Surg.* 2020;10(8):1661–1671. DOI: 10.21037/qims.2020.04.06.
8. Самойлова Ю.Г., Подчиненова Д.В., Кудлай Д.А., Олейник О.А., Матвеева М.В., Коваренко М.А. и др. Биоимпедансный анализ как перспективная скрининговая технология у детей. *Врач*. 2021;32(7):32–37.
9. Deng X., Ma J., Yuan Y., Zhang Z., Niu W. Association between overweight or obesity and the risk for childhood asthma and wheeze: An updated meta-analysis on 18 articles and 73,252 children. *Pediatr. Obes.* 2019;14:e12532. DOI: 10.1111/ijpo.12532.
10. Egan K.B., Ettinger A.S., Bracken M.B. Childhood body mass index and subsequent physician-diagnosed asthma: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Pediatr.* 2013;13:121. DOI: 10.1186/1471-2431-13-121.
11. Black M.H., Smith N., Porter A.H., Jacobsen S.J., Koebsnick C. Higher prevalence of obesity among children with Asthma. *Obesity*. 2012;20:1041–1047. DOI: 10.1038/oby.2012.5.
12. Hay C., Henrickson S.E. The impact of obesity on immune function in pediatric asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2021;21(2):202–215. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000725.
13. Gross E., Lee D.S., Hotz A., Ngo K.C., Rastogi D. Impact of obesity on asthma morbidity during a hospitalization. *Hosp. Pediatr.* 2018;8(9):538–546. DOI: 10.1542/hpeds.2017-0265.
14. Конищева А.Ю., Гервазиева В.Б., Мазурина С.А. Особенности профиля медиаторов воспаления и аутореактивности при бронхиальной астме, сочетанной с ожирением. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019;(1):59–63.
15. Kendel Jovanović G., Mrakovcic-Sutic I., Pavičić Žeželj S., Šušić B., Rahelić D., Klobučar Majanović S. The efficacy of an energy-restricted anti-inflammatory diet for the management of obesity in younger adults. *Nutrients*. 2020;12(11):3583. DOI: 10.3390/nu12113583.
16. Chehimi M., Vidal H., Eljaafari A. Pathogenic role of IL-17-producing immune cells in obesity, and related inflammatory diseases. *J. Clin. Med.* 2017;6(7):68. DOI: 10.3390/jcm6070068.
17. Al-Sharif F.M., Abd El-Kader S.M., Neamatallah Z.A., AlKhateeb A.M. Weight reduction improves immune system and inflammatory cytokines in obese asthmatic patients. *Afr. Health Sci.* 2020;20(2):897–902. DOI: 10.4314/ahs.v20i2.44.
18. Periyalil H.A., Wood L.G., Wright T.A., Karihaloo C., Starkey M.R., Miu A.S. et al. Obese asthmatics are characterized by altered adipose tissue macrophage activation. *Clin. Exp. Allergy*. 2018;48(6):641–649. DOI: 10.1111/cea.13109.
19. Girón-Ulloa A., González-Domínguez E., Klimek R.S., Patiño-Martínez E., Vargas-Ayala G., Segovia-Gamboa N.C. et al. Specific macrophage subsets accumulate in human subcutaneous and omental fat depots during obesity. *Immunol. Cell Biol.* 2020;98(10):868–882. DOI: 10.1111/imcb.12380.
20. Hay C., Henrickson S.E. The impact of obesity on immune function in pediatric asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2021;21(2):202–215. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000725.
21. Osorio-Conles Ó., Vega-Beyhart A., Ibarzabal A., Balibrea J.M., Graupera I., Rimola J. et al. A distinctive NAFLD signature in adipose tissue from women with severe obesity. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(19):10541. DOI: 10.3390/ijms221910541.
22. Neeland I.J., Marso S.P., Ayers C.R., Lewis B., Oslica R., Francis W. et al. Effects of liraglutide on visceral and ectopic

- fat in adults with overweight and obesity at high cardiovascular risk: a randomised, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021;9(9):595–605. DOI: 10.1016/S2213-8587(21)00179-0.
23. Kuo C.S., Pavlidis S., Loza M., Baribaud F., Rowe A., Pandis I. et al. T-helper cell type 2 (Th2) and non-Th2 molecular phenotypes of asthma using sputum transcriptomics in U-BIOPRED. *Eur. Respir. J.* 2017;49(2):1602135. DOI: 10.1183/13993003.02135-2016.
 24. Bantulà M., Roca-Ferrer J., Arismendi E., Picado C. Asthma and obesity: two diseases on the rise and bridged by inflammation. *J. Clin. Med.* 2021;10(2):169. DOI: 10.3390/jcm10020169.
 25. Li X., Hastie A.T., Peters M.C., Hawkins G.A., Phipatanakul W., Li H. et al. Investigation of the relationship between IL-6 and type 2 biomarkers in patients with severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;145(1):430–433. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.08.031.
 26. Rincón M., Anguita J., Nakamura T., Fikrig E., Flavell R.A. Interleukin (IL)-6 directs the differentiation of IL-4-producing CD4⁺ T cells. *J. Exp. Med.* 1997;185(3):461–469. DOI: 10.1084/jem.185.3.461.
 27. Rincon M., Irvin C.G. Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases. *Int. J. Biol. Sci.* 2012;8(9):1281–1290. DOI: 10.7150/ijbs.4874.
 28. Bi H., Zhang Y., Wang S., Fang W., He W., Yin L. et al. Interleukin-8 promotes cell migration via CXCR1 and CXCR2 in liver cancer. *Oncol. Lett.* 2019;18(4):4176–4184. DOI: 10.3892/ol.2019.10735.
 29. Hodeib M., Taha G., Mohamed M., Maarek E., Doudar N.A. IL-8 gene expression and bronchial asthma phenotypes in children. *The Egyptian Journal of Immunology.* 2021;28(3):138–144.
 30. Hussein Y.M., Shalaby S.M., Mohamed R.H., Hassan T.H. Association between genes encoding components of the IL-10/IL-0 receptor pathway and asthma in children. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2011;106:474–480. DOI: 10.1016/j.anai.2011.02.021.
 31. Saraiva M., Vieira P., O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J. Exp. Med.* 2020;217(1):e20190418. DOI: 10.1084/jem.20190418.
 32. Xie L., Fu Q., Ortega T.M., Zhou L., Rasmussen D., O'Keefe J. et al. Overexpression of IL-10 in C2D macrophages promotes a macrophage phenotypic switch in adipose tissue environments. *PLoS One.* 2014;9(1):e86541. DOI: 10.1371/journal.pone.0086541.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.М. Огородова, Ю.Г. Самойлова, О.С. Федорова; сбор данных – А.А. Тарабрина, Д.В. Подчиненова, А.С. Бойко; статистическая обработка данных – А.А. Тарабрина, В.А. Петров; написание текста – А.А. Тарабрина; Л.М. Огородова, С.В. Федосенко; редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Информация об авторах

Тарабрина Анна Александровна – аспирант, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, Aa.tarabrina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1945-3600>

Огородова Людмила Михайловна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, lm-ogorodova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2962-1076>

Самойлова Юлия Геннадьевна – д-р мед. наук, профессор кафедры педиатрии с курсом эндокринологии, СибГМУ, г. Томск, samoilova_yu@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2667-4842>

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

Федорова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, доцент, проректор по научной работе и последиplomной подготовке, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, olga.sergeevna.fedorova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

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

Подчиненова Дарья Васильевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра педиатрии с курсом эндокринологии, СибГМУ, г. Томск, darvas_42@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6212-4568>

Бойко Анастасия Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, anastasya-iv@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2955-9057>

(✉) **Тарабрина Анна Александровна**, Aa.tarabrina@mail.ru

Поступила в редакцию 30.03.23;
одобрена после рецензирования 10.04.2023;
принята к публикации 14.04.2023.

УДК 616.345-006-092.19-07:577.112
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-104-110>

Прогностическое значение уровня белка CTLA-4 и его лиганда B7.2 у больных раком толстого кишечника

Четверяков А.В., Цепелев В.Л.

Читинская государственная медицинская академия (ЧГМА)
Россия, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39а

РЕЗЮМЕ

Цель. Разработать программу для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника на основании оценки уровня белка CTLA-4 и его лиганда B7.2.

Материалы и методы. В исследование включены 44 пациента с колоректальным раком (КРР) и 25 больных с доброкачественными опухолями толстого кишечника. Контрольную группу составили 25 пациентов, оперированных в плановом порядке (пластика колостомы), сформированной ранее по поводу травмы толстой кишки. Концентрацию CTLA-4 и B7.2 определяли в сыворотке крови, а также в супернатантах гомогенатов ткани опухоли и лимфатических узлов с помощью метода проточной цитофлуометрии.

Результаты. Установлено, что у пациентов с раком толстой кишки уровень CTLA-4 в сыворотке крови увеличивается в 2,77 раза в сравнении с группой контроля ($p < 0,001$). Концентрация CTLA-4 в ткани новообразования у пациентов с КРР была выше аналогичного показателя группы контроля в 2,34 раза ($p = 0,007$). Концентрация лиганда B7.2 в сыворотке крови у пациентов с КРР превышала данный показатель в группе контроля в 2,51 раза ($p = 0,002$). Концентрация лиганда B7.2 в ткани опухоли у пациентов с КРР превышала таковую в группе контроля в 1,68 раза ($p = 0,004$). При анализе полученных данных определены параметры, которые имеют значимость в структуре диагностической модели. На основании этих параметров разработана компьютерная программа для определения вероятности наличия онкологической патологии толстого кишечника.

Заключение. Полученные данные демонстрируют увеличение уровня CTLA-4 и его лиганда B7.2 в сыворотке крови и ткани опухоли у пациентов с колоректальным раком.

Ключевые слова: иммунные контрольные точки, CTLA-4, B7.2, колоректальный рак

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ЧГМА (протокол № 98 от 27.11.2019).

Для цитирования: Четверяков А.В., Цепелев В.Л. Прогностическое значение уровня белка CTLA-4 и его лиганда B7.2 у больных раком толстого кишечника. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):104–110. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-104-110>.

Prognostic value of the levels of CTLA-4 and its ligand B7.2 in patients with colorectal cancer

Chetveryakov A.V., Tsepelev V.L.

Chita State Medical Academy
39a, Gorkogo Str., Chita, 672000, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To develop a computer program to determine the probability of colorectal cancer based on the assessment of the levels of CTLA-4 and its ligand B7.2.

Materials and methods. The study included 44 patients with colorectal cancer (CRC) and 25 patients with benign tumors of the colon. The control group consisted of 25 individuals who had been operated for colon injury. We determined the levels of CTLA-4 and B7.2 in the blood serum and in the supernatants of tumor tissue and lymph node homogenates using flow cytometry.

Results. We found that the level of CTLA-4 in the blood serum increased by 2.77 times in CRC patients compared to the control group ($p < 0.001$). The concentration of CTLA-4 in the tumor tissue in patients with CRC was 2.34 times higher than in the control group ($p = 0.007$). The concentration of the B7.2 ligand in the blood serum of patients with CRC exceeded this parameter in the control group by 2.51 times ($p = 0.002$). The concentration of B7.2 in the tumor tissue of CRC patients was 1.68 times higher ($p = 0.004$) than in the control group. The analysis of the obtained data determined the parameters that have prognostic value in the structure of the diagnostic model. Using these parameters, we developed a computer program to determine the probability of CRC in the patient.

Conclusion. The data obtained demonstrate an increase in the levels of CTLA-4 and its ligand B7.2 in the serum and tumor tissue of patients with CRC.

Keywords: immune checkpoints, CTLA-4, B7.2, colorectal cancer

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 patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Chita State Medical Academy (Protocol No. 98 of 27.11.2019).

For citation: Chetveryakov A.V., Tsepelev V.L. Prognostic value of the levels of CTLA-4 and its ligand B7.2 in patients with colorectal cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):104–110. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-104-110>.

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) является одной из локализаций, выявление которой происходит на поздних стадиях заболевания, и занимает третье место в мире по смертности среди злокачественных новообразований [1, 2]. Существенную роль в развитии и росте опухоли играет ее способность «ускользать» от иммунного надзора. Эта способность осуществляется через использование клетками опухоли определенных молекулярных структур, которые носят название «иммунные контрольные точки» (ИКТ, immune control points) [3, 4]. Основной функцией ИКТ является регуляция иммунных процессов и

предотвращение повреждения собственных тканей активированными клетками иммунитета [5]. На основании вышеизложенного был разработан новый вид иммунотерапевтического лечения, основанный на блокировании контрольных иммунных точек [6].

Цитотоксический Т-лимфоцитарно-ассоциированный белок (Cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4, CTLA-4, CD152) является одной из иммунных контрольных точек и экспрессируется преимущественно Т-клетками [7, 8]. Лигандом к CTLA-4 выступает B7.2 (CD86). Взаимодействие CTLA-4 с этим лигандом считается важным механизмом в иммуносупрессивном регулировании деятельности Т-клеток [9–11]. Механизм ингибирующей иммун-

ной регуляции осуществляется, когда CTLA-4 захватывает лиганд B7.2 с поверхности антигенпрезентирующей клетки (АПК) или опухолевой клетки и путем трансэндоцитоза переносит их внутрь Т-лимфоцита [12]. В ряде исследований, посвященных изучению эффективности применения моноклональных антител к CTLA-4, продемонстрированы объективные положительные ответы в отношении рака молочной железы, меланомы и рака почки [11]. Исследований, свидетельствующих об эффективном применении моноклональных антител к CTLA-4, у пациентов с КРР недостаточно.

Целью нашей работы являлась разработка программы для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника на основании оценки уровня белка CTLA-4 и его лиганда B7.2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 44 больных колоректальным раком. Группу клинического сравнения составили 25 пациентов с доброкачественными новообразованиями толстой кишки, проходившие лечение в Краевом онкологическом диспансере г. Читы в период с 2019 по 2020 г. В контрольную группу вошли 25 пациентов, поступивших в ГУЗ «Краевая клиническая больница» для планового оперативного вмешательства (пластика колостомы), сформированной ранее по поводу травм толстой кишки. Все больные были обследованы в соответствии с клиническими рекомендациями, утвержденными Минздравом России [13]. В каждом случае получено информированное добровольное согласие пациента, исследование выполнено согласно требованиям комиссии по этике ФГБОУ ВО Читинской государственной медицинской академии Минздрава России, а также в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013). Критерии включения: согласие пациента на участие в исследовании, наличие опухоли толстого кишечника. Критерии исключения: пациенты с положительным ВИЧ-статусом; аутоиммунными заболеваниями; вирусными и бактериальными инфекциями; больные, проходившие курс химиотерапевтического или лучевого лечения перед оперативным пособием.

При гистологическом исследовании в 39 случаях (88,6%) ткань опухоли была представлена умеренно дифференцированной аденокарциномой (G2). В трех случаях (6,8%) – высокодифференцированной аденокарциномой (G1). В двух случаях (4,6%) – низкодифференцированной аденокарциномой (G3). У шести пациентов диагностирована I стадия процесса, у 24 – II стадия, у восьми – III стадия и у шести – IV стадия.

Забор крови осуществляли в утренние часы, за 2 ч до выполнения оперативного пособия. Накануне перед забором материала пациенты получали стандартную лекарственную предоперационную подготовку. Биоптаты ткани опухоли, ткани лимфатических узлов, а также фрагменты толстой кишки в группе контроля массой до 1 г гомогенизировали при помощи гомогенизатора Ultra-Turrax T 10 basic (IKA, Германия) в фосфатно-солевом буфере (pH 7,4), далее центрифугировали при 5 000 об/мин в течение 10 мин и отбирали супернатант. Концентрацию CTLA-4 и B7.2 в сыворотке крови и супернатанте гомогената тканей определяли методом проточной цитофлуометрии на анализаторе CytoFlex LX (Beckman Coulter, США), используя набор для мультиплексного анализа LEGENDplex™ HU (Immune Checkpoint, США) в соответствии с инструкциями производителя.

При проведении статистического анализа руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL) [14, 15]. Номинальные данные описывали с указанием абсолютных и относительных значений. Сравнение номинальных данных исследования проводили при помощи критерия χ^2 Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы [16].

Нормальность распределения количественных признаков при численности исследуемых групп менее 50 человек оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, полученные данные представляли в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Ранговый анализ вариаций по Краскелу – Уоллису (H) выполняли для сравнения трех независимых групп по одному количественному признаку. Затем при наличии статистически значимых различий, с учетом поправки Бонферрони, проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна – Уитни (U) [17]. Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока [18].

Диагностическая модель была построена путем бинарной логистической регрессии. Для установления ценности указанной модели использовался ROC-анализ, что позволило оценить чувствительность, специфичность и точность модели. Статисти-

ческую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что у пациентов с раком толстой кишки уровень CTLA-4 в сыворотке крови увеличивается в 2,77 раза в сравнении с группой контроля

($U = 119,0; p < 0,001$). Достоверных различий уровня CTLA-4 в сыворотке крови у больных KPP и пациентов с доброкачественным новообразованием толстого кишечника не обнаружено (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение концентрации CTLA-4 в сыворотке крови может являться маркером наличия новообразования толстого кишечника, но не позволяет определить характер новообразования.

Таблица 1

Уровень CTLA-4 у больных с новообразованиями толстого кишечника, пг/мл, Me [Q ₁ ; Q ₃]				
Показатель	Группа			Тестовая статистика, df = 2
	Контрольная группа, n = 25	Доброкачественная опухоль, n = 25	Колоректальный рак, n = 44	
Сыворотка крови	4,88 [4,38; 6,22]	10,48 [10,30; 14,50]	13,50 [13,07; 20,80]	$H = 34,26; p < 0,001$
Ткань опухоли	6,06 [6,03; 8,40]	9,42 [8,84; 11,37]	14,17 [13,72; 27,28]	$H = 8,82; p = 0,012$

Примечание. H – критерий Краскела – Уоллиса, p – достигнутый уровень значимости (здесь и в табл. 2).

Подобная динамика наблюдалась при исследовании концентрации CTLA-4 в ткани опухоли. Уровень CTLA-4 в ткани новообразования у пациентов с KPP был выше аналогичного показателя группы контроля в 2,34 раза ($U = 334,0; p = 0,007$). По отношению к группе больных с доброкачественной опухолью толстого кишечника данный показатель у пациентов с KPP был выше в 1,5 раза ($U = 371,0; p = 0,02$) (см. табл. 1). Полученные результаты позволяют отметить, что увеличение концентрации CTLA-4 связано с характером новообразования. Однако наличие этих статистически значимых данных

не представляет практического интереса, так как для определения характера новообразования можно выполнить гистологическое исследование полученного материала.

Концентрация лиганда B7.2 в сыворотке крови у пациентов с KPP превышала данный показатель в группе контроля в 2,51 раза ($U = 302,5; p = 0,002$). Также установлено, что уровень B7.2 в сыворотке крови у больных раком толстой кишки и пациентов с доброкачественными новообразованиями толстого кишечника не имеет статистически значимых различий (табл. 2).

Таблица 2

Уровень B7.2 у пациентов с новообразованиями толстого кишечника, пг/мл, Me [Q ₁ ; Q ₃]				
Показатель	Группа			Тестовая статистика, df = 2
	Контрольная группа, n = 25	Доброкачественная опухоль, n = 25	Колоректальный рак, n = 44	
Сыворотка крови	33,00 [30,08; 40,11]	79,00 [78,68; 97,46]	82,93 [76,70; 113,26]	$H = 23,08; p < 0,001$
Ткань опухоли	37,09 [34,11; 44,34]	40,40 [43,36; 48,90]	62,31 [61,74; 79,93]	$H = 9,96; p = 0,007$

Полученные данные демонстрируют увеличение концентрации B7.2 у пациентов с новообразованиями толстого кишечника. Однако невозможно дифференцировать доброкачественное образование от злокачественного путем анализа концентрации данного биологического маркера.

Аналогичная динамика увеличения показателей отмечена в ткани новообразования. Так, концентрация лиганда B7.2 в ткани у пациентов с KPP превышал таковую в группе контроля в 1,68 раза ($U = 319,0; p = 0,004$). Уровень B7.2 у больных с раком толстой кишки был выше, чем у пациентов с доброкачественной опухолью толстой кишки

в 1,54 раза ($U = 387,0; p = 0,04$) (см. табл. 2). Концентрация лиганда B7.2 увеличивалась в ткани новообразования, как и в случае с уровнем CTLA-4 в ткани. Полученные нами данные позволяют дифференцировать доброкачественные и злокачественные новообразования толстой кишки. У пациентов с KPP определяли концентрацию CTLA-4 и B7.2 в ткани регионарных лимфатических узлов. Так, уровень CTLA-4 в ткани лимфатических узлов у пациентов с KPP составил 132,22 [117,36; 174,40] пг/мл; концентрация B7.2 – 537,35 [466,76; 650,84] пг/мл.

При анализе полученных данных обращает на себя внимание то, что уровень CTLA-4 в сыворотке

ке крови имеет умеренную корреляционную связь с уровнем CTLA-4 в ткани ($\rho = 0,37$; $p < 0,01$). В отношении лиганда В7.2 статистически значимых корреляционных связей не выявлено. Уровень В7.2 в сыворотке крови не коррелирует с его уровнем в ткани опухоли ($\rho = 0,008$; $p = 0,94$). Между тем отмечается заметная корреляционная связь между уровнем

белка CTLA-4 и лигандом В7.2 в сыворотке крови ($\rho = 0,57$; $p < 0,01$). В то же время в ткани между вышеуказанными мембранными молекулами имеется слабая прямая корреляционная связь ($\rho = 0,28$; $p = 0,004$), что подтверждает роль В7.2 в качестве лиганда для CTLA-4, а не в качестве отдельного биомаркера.

Таблица 3

Значимость параметров CTLA-4 и В7.2 в структуре диагностической модели							
Параметр	В	Среднеквадратичная ошибка	Вальд	Степень свободы, df	Значимость, p	Exp (В)	95%-й ДИ для Exp В
CTLA-4 сыворотки крови	0,42	0,132	9,98	1	0,002	1,52	1,17–1,96
В7.2 сыворотки крови	0,03	0,013	3,78	1	0,05	1,03	1,01–1,05
Константа	–3,25	0,968	11,28	1	0,001	0,04	–

Примечание. ДИ – доверительный интервал.

При анализе данных определены параметры, которые могут иметь значимость в структуре диагностической модели для определения вероятности наличия онкологической патологии (табл. 3). На основании этих параметров получено уравнение вида

$$K = \frac{1}{1 + e^{3,25 - 0,42 \cdot \text{CTLA-4}_{\text{сыв}} - 0,03 \cdot \text{В7.2}_{\text{сыв}}}}$$

где CTLA-4_{сыв} – уровень белка CTLA-4 в сыворотке крови; В7.2_{сыв} – уровень В7.2 в сыворотке крови; 3,25 – константа уровня логистической регрессии; 0,42 и 0,03 – нестандартизированные коэффициенты В, e – экспонента $\sim 2,72$. При значении коэффициента $K \geq 0,59$ диагностируется развитие онкологической патологии толстого кишечника. Для группы контроля данный показатель (K) составляет 0,40 [0,36; 0,50], для пациентов с онкологической патологией – 0,86 [0,82; 0,87]. В группе контроля $K \geq 0,59$ встречалось в 20% случаев (5/25), у больных онкологической патологии – в 94,2% (65/69) случаев (чувствительность данного заключения составляет 0,94, специфичность – 0,80, точность – 0,90 ($AUC = 0,88$ [95%-й ДИ 0,79–0,97], $p < 0,001$) (рисунок)).

Описанный способ можно использовать у пациентов в амбулаторных условиях или хирургическом стационаре для определения вероятности наличия онкологической патологии толстого кишечника. Для упрощения способа при использовании в клинической практике разработана программа для операционной системы Windows в среде разработки Object Pascal (Borland Delphi). Набор действий создается в специальном режиме работы пользовательского окна, в котором пользователь получает доступ к вводу данных об уровне в сыворотке крови цитотоксического Т-лимфоцитарно-ассоциированного белка 4 (CTLA-4, пг/мл) и его лиганда В7.2 (В7.2, пг/мл)

у пациентов с жалобами на функциональные расстройства кишечника.

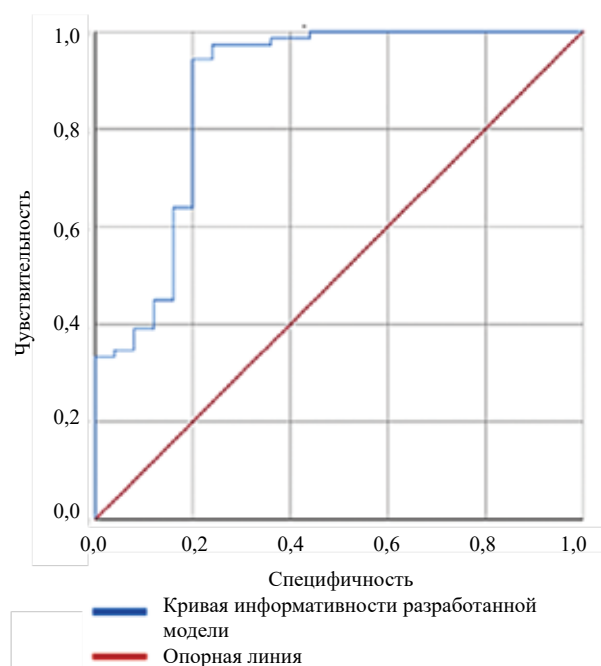


Рисунок. Оценка информативности разработанной модели путем ROC-анализа

Программа носит прикладной характер, обеспечивает возможность определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника, что позволяет выделить группу риска и оптимизировать тактику их обследования и лечения [19].

ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено, что у больных с раком толстой кишки в сыворотке крови увеличивается уровень белка CTLA-4 и его лиганда В7.2. Достоверных

различий между концентрацией CTLA-4 и B7.2 в сыворотке крови у больных с КРР и доброкачественными новообразованиями кишечника не обнаружено. Полученные данные демонстрируют, что увеличение уровня CTLA-4 и B7.2 свидетельствует о наличии опухоли толстого кишечника, но определить характер образования невозможно.

Аналогичная динамика наблюдалась при исследовании данных маркеров в ткани новообразования. Содержание CTLA-4 и B7.2 в ткани опухоли у пациентов с КРР было выше, чем в группе контроля. К тому же концентрация исследуемых маркеров у пациентов с раком толстой кишки была больше в сравнении с больными с доброкачественной опухолью толстого кишечника.

Также определены пороговые значения маркеров CTLA-4 и B7.2 в сыворотке крови, которые имеют значимость в структуре диагностической модели. Разработана компьютерная программа, позволяющая заподозрить вероятность наличия опухоли толстого кишечника, что позволит сформировать группы риска и оптимизировать тактику обследования.

Аналогичные данные о высокой экспрессии CTLA-4 в ткани опухоли получены у пациентов с раком молочной железы и холангиокарциномой [20, 21]. Этот факт указывает на то, что наличие CTLA-4 в микроокружении опухоли является одним из факторов развития иммунной супрессии, что способствует росту и распространению опухолевых клеток. Мы полагаем, что белок CTLA-4 является важным звеном патогенеза «ускользания» клеток рака от иммунного надзора. В исследовании X.J. Guo и соавт. (2021) ведется обсуждение роли белка CTLA-4 в активации регуляторных Т-клеток (Treg), которые являются сильнейшим ингибитором иммунного ответа [21]. Поэтому роль CTLA-4 в активации регуляторных Т-клеток при злокачественных новообразованиях различных локализаций заслуживает дальнейшего пристального изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные демонстрируют увеличение уровня CTLA-4 и его лиганда B7.2 в сыворотке крови и ткани опухоли у пациентов с колоректальным раком, а также их прямую корреляционную связь друг с другом, что позволяет предположить роль этих белков в патогенезе «ускользания» опухолевых клеток от иммунного надзора при раке толстого кишечника. На основании установленных закономерностей создана программа ЭВМ для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. 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.
2. Siegel R.L., Miller K.D., Fedewa S.A., Ahnen D.J., Meester R.G.S., Barzi A. et al. Colorectal cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* 2017;67(3):177–193. DOI: 10.3322/caac.21395.
3. Zhu Y., Hu Y., Kong X., Xiao Q., Pan Z., Zheng Z. et al. Cohort profile: The National Colorectal Cancer Cohort (NCRCC) study in China. *BMJ Open.* 2021;11(12):e051397. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-051397.
4. Zhu S., Yi M., Wu Y., Dong B., Wu K., Zhu S. Roles of tumor-associated macrophages in tumor progression: implications on therapeutic strategies. *Exp. Hematol. Oncol.* 2021;10(1):60. DOI: 10.1186/s40164-021-00252-z.
5. Eptaminitaki G.C., Wolff N., Stellas D., Sifakis K., Baritaki S. Long non-coding RNAs (lncRNAs) in response and resistance to cancer immunosurveillance and immunotherapy. *Cells.* 2021;10(12):3313. DOI: 10.3390/cells10123313.
6. Prakadan S.M., Alvarez-Breckenridge C.A., Markson S.C., Kim A.E., Klein R.H., Nayyar N. et al. Genomic and transcriptomic correlates of immunotherapy response within the tumor microenvironment of leptomeningeal metastases. *Nat. Commun.* 2021;12(1):5955. DOI: 10.1038/s41467-021-25860-5.
7. Feng Y., Liu L., Li J., Huang J., Xie J.H., Menard L. et al. Systematic characterization of the tumor microenvironment in Chinese patients with hepatocellular carcinoma highlights intratumoral B cells as a potential immunotherapy target. *Oncol. Rep.* 2022;47(2):38. DOI: 10.3892/or.2021.8249.
8. Yin J., Wang H., Hong Y., Ren A., Wang H., Liu L. et al. Identification of an at-risk subpopulation with high immune infiltration based on the peroxisome pathway and TIM3 in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2022;22(1):44. DOI: 10.1186/s12885-021-09085-9.
9. Sharma P., Allison J.P. The future of immune checkpoint therapy. *Science.* 2015;348(6230):56–61. DOI: 10.1126/science.aaa8172.
10. Shapoval A.I., Shapoval S.P., Shcherbakova N.S., Shcherbakov D.N. Immune control Molecules of the B7 family. Part 1. General characteristics and first representatives: b7-1, b7-2, b7-h1, b7-h2 and b7-dc. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry.* 2019;45(4):348–364. DOI: 10.1134/S1068162019040101.
11. Rowshanravan B., Halliday N., Sansom D.M. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. *Blood.* 2018;131(1):58–67. DOI: 10.1182/blood-2017-06-741033.
12. Borrie A.E., Maleki Vareki S. T lymphocyte-based cancer immunotherapeutics. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 2018;341:201–276. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2018.05.010.
13. Общероссийский национальный союз «Ассоциация онкологов России». Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела. *Клинические рекомендации.* М., 2020:70.
14. Alshogran O.Y., Al-Delaimy W.K. Understanding of international committee of medical journal editor's authorship criteria among faculty members of pharmacy and other

- health sciences in Jordan. *J. Empir. Res. Hum. Res. Ethics.* 2018;13(3):276–284. DOI: 10.1177/1556264618764575.
15. Lang T.A., Altman D.G. Basic statistical reporting for articles published in biomedical journals: the “Statistical analyses and methods in the published literature” or the SAMPL guidelines. *Int. J. Nurs. Stud.* 2015;52(1):5–9. DOI: 10.1016/j.ijnurstu.2014.09.006.
16. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник.* 2020;1:140–150. DOI: 10.52485/19986173_2020_1_140.
17. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа качественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник.* 2020;1:151–163. DOI: 10.52485/19986173_2020_1_151.
18. Мудров В.А. Алгоритмы корреляционного анализа данных в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник.* 2020;2:169–176. DOI: 10.52485/19986173_2020_2_169.
19. Четверяков А.В., Цепелев В.Л., Крюкова В.В., Мудров В.А. Программа для определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника. ФГБОУ ВО ЧГМА МЗ РФ. URL: <https://new.fips.ru/ofpstorage/Doc/PrEVM/RUNWPR/000/002/022/613/721/2022613721-00001/document.pdf>.
20. Bagbudar S., Karanlik H., Cabioglu N., Bayram A., Ibis K., Aydin E. et al. Prognostic implications of immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: the role of expressions of CTLA-4, PD-1, and LAG-3. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2022;30(2):99–107. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000978.
21. Guo X.J., Lu J.C., Zeng H.Y., Zhou R., Sun Q.M., Yang G.H. et al. CTLA-4 synergizes with PD1/PD-L1 in the inhibitory tumor microenvironment of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Front. Immunol.* 2021;12:705378. DOI: 10.3389/fimmu.2021.705378.

Информация об авторах

Четверяков Андрей Валерьевич – врач-хирург, аспирант, кафедра госпитальной хирургии, ЧГМА, г. Чита, yasnogorsk94@gmail.com

Цепелев Виктор Львович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии, ЧГМА, г. Чита, viktorcepelev@mail.ru

(✉) Четверяков Андрей Валерьевич, yasnogorsk94@gmail.com

Поступила в редакцию 04.05.2022;
одобрена после рецензирования 24.06.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.5-002-097:577.112:576.5:576.385.5
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-111-121>

Инфламмасома как ранний патофизиологический феномен воспалительного процесса при болезнях кожи и других патологиях

Климов В.В.¹, Загрешенко Д.С.², Уразова О.И.¹,
Климов А.В.¹, Найдина О.А.¹, Цыплина Е.Ю.¹,
Кологривова Е.Н.¹, Кошовкина Т.В.¹, Кошкарлова Н.С.¹

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

² Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей (НГИУВ) –
филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО)
Россия, 654005, г. Новокузнецк, пр. Строителей, 5

РЕЗЮМЕ

В обзоре рассмотрены молекулярная структура, последовательность, пути активации инфламмасом, варианты нисходящих эффектов и их связь с аутовоспалительными, аутоиммунными, нейродегенеративными, аллергическими и злокачественными патологиями, с фокусом на вовлечение кожи в патологический процесс. Дана интерпретация инфламмасом как раннего патофизиологического события перед началом воспалительного процесса и возможные варианты нарушения регуляции их функционирования. Более подробно описаны все аспекты исследований, относящихся к инфламмасоме NLRP3. Приведены данные по имеющимся и перспективным направлениям терапевтических интервенций при NLRP3-ассоциированных болезнях.

Ключевые слова: инфламмасома, NLRP3, AIM2, NLRP1, миелоидные клетки, кератиноциты, паттерн-распознающие рецепторы, сигнальная трансдукция, каспазы, IL-1 β , IL-18, IL-33, пироптоз, старение клетки в связи с воспалением, кожные болезни

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: Климов В.В., Загрешенко Д.С., Уразова О.И., Климов А.В., Найдина О.А., Цыплина Е.Ю., Кологривова Е.Н., Кошовкина Т.В., Кошкарлова Н.С. Инфламмасома как ранний патофизиологический феномен воспалительного процесса при болезнях кожи и других патологиях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):111–121. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-111-121>.

Inflammasome as an early pathophysiological phenomenon of inflammation in skin diseases and other pathologies

Klimov V.V.¹, Zagreshenko D.S.², Urazova O.I.¹, Klimov A.V.¹, Naidina O.A.¹, Tsyplina E.Yu.¹, Kologrivova E.N.¹, Koshovkina T.V.¹, Koshkarova N.S.¹

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation,

² Novokuznetsk State Institute for Advanced Training of Doctors – branch of the Russian Medical Academy for Continuing Professional Education

2, Stroiteley Av., Novokuznetsk, 654005, Russian Federation

ABSTRACT

The review considers the molecular structure of inflammasomes, routes of inflammasome activation, appropriate downstream effects, and their association with autoinflammatory, autoimmune, neurodegenerative, and allergic diseases and malignancies with a focus on the involvement of the skin in these pathologies. Inflammasome activation is interpreted as an early pathophysiological event before the onset of inflammation, and, especially, if inflammasome dysregulation occurs. All research aspects related to the NLRP3 inflammasome are described in detail. The review also considers promising directions for therapeutic interventions in NLRP3-associated diseases.

Keywords: inflammasome, NLRP3, AIM2, NLRP1, myeloid cells, keratinocytes, pattern recognition receptors, signaling, caspases, IL-1 β , IL-18, IL-33, pyroptosis, inflamming, skin diseases

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.

Для цитирования: Klimov V.V., Zagreshenko D.S., Urazova O.I., Klimov A.V., Naidina O.A., Tsyplina E.Yu., Kologrivova E.N., Koshovkina T.V., Koshkarova N.S. Inflammasome as an early pathophysiological phenomenon of inflammation in skin diseases and other pathologies. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):111–121. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-111-121>.

ВВЕДЕНИЕ

Кожа является самым большим барьерным органом человеческого организма на пути проникновения из окружающей среды микробов, аллергенов, химических вредоносных субстанций и неблагоприятного воздействия физических факторов [1, 2]. Кожа состоит из эпидермиса и дермы, а эпидермис подразделяется на пять слоев: роговой, блестящий, зернистый, шиповатый и базальный. Некоторые исследователи не выделяют блестящий как отдельный слой. Многие клетки как здоровой, так и воспаленной кожи относятся или могут быть отнесены к иммунной системе: кератиноциты, клетки Лангерганса, интраэпителиальные CD8 α ⁺ Т-лимфоциты, NK-клетки, врожденные лимфоидные клетки (ILC), макрофаги, тучные клетки, эозинофилы, нейтрофилы, Т-клетки памяти; фактически кожа представляет собой вторичный орган иммунной системы [2, 3].

Большинство клеток экспрессирует паттерн-распознающие рецепторы: Toll-подобные (TLRs),

NOD-подобные (NLRs), RIG-1-подобные (RLRs) и AIM-2-подобные (ALRs), лигандами для которых являются молекулярные паттерны [1, 4] и аллергены [5]. Кератиноциты дифференцируются в процессе кератинизации, но кератинизация одновременно является важным механизмом естественного иммунитета. Лимфоциты (90%) вместе с другими клетками (10%) формируют дермато-ассоциированную лимфоидную ткань. Также в коже имеются меланоциты и фибробласты [3]. Особенно богатый состав клеток содержится в воспаленной коже (рис. 1). Кератиноциты, дендритные клетки, нейтрофилы, макрофаги и фибробласты могут служить клетками-контейнерами для инфламмасом. С помощью новой транскриптомной технологии РНК-секвенирования отдельной клетки был описан современный ландшафт клеток при некоторых болезнях кожи [6, 7].

Инфламмасома – ранний феномен воспалительного процесса при болезнетворном воздействии, который относится к механизмам естественного иммунитета. В аспекте структуры инфламмасома представляет собой высокомолекулярный протеиновый

комплекс, локализующийся в цитозоле и содержащий паттерн-распознающие рецепторы, сигнальные моле-

кулы (включая ASC Speck [8, 9]), ферменты (включая каспазы [10]) и другие компоненты [1, 2, 11].

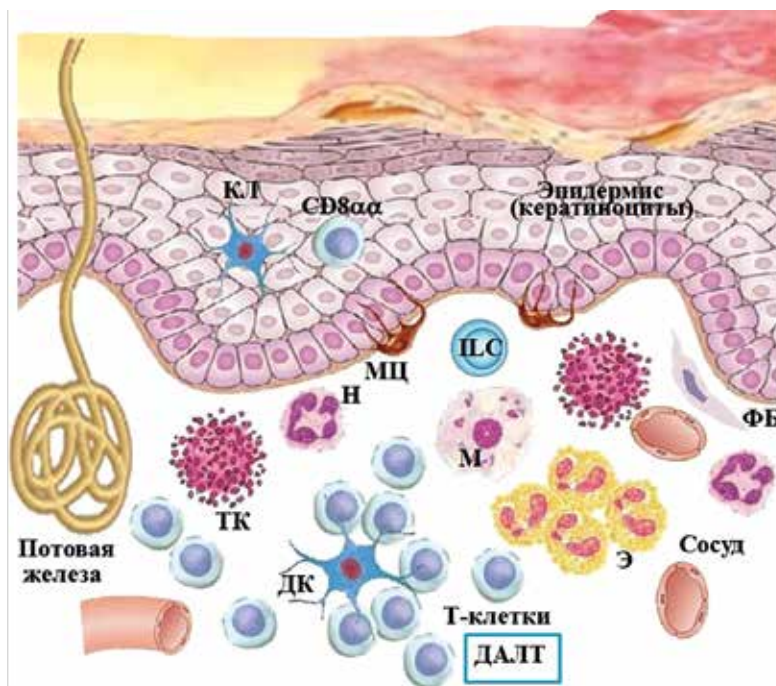


Рис. 1. Клетки в воспаленной коже: ДАЛТ – дермато-ассоциированная лимфоидная ткань; КЛ – клетка Лангерганса; CD8αα – γδТ-клетка с фенотипом CD8αα+; ИЛС – врожденная лимфоидная клетка; ТК – тучная клетка; Н – нейтрофил; МЦ – меланоцит; М – макрофаг; ФБ – фибробласт; Э – эозинофил; ДК – дендритная клетка

СТРУКТУРА, АКТИВАЦИЯ, ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ И РЕГУЛЯЦИЯ ИНФЛАММАСОМ

Инфламмасомы были впервые описаны в 2002 г. F. Martinon и соавт. [12]. В настоящее время идентифицировано около 20 инфламмасом: NLRP1-NLRP14, NLRC4/NAIP, AIM2, IFI16, CARD8 и PYRIN [4, 11]. Их компоненты принадлежат разным семействам (NLR, ALR и PYRIN), которые распознают разные молекулярные паттерны. Например, самое многочисленное семейство NLR подразделяется на пять подсемейств (NLRA, NLRB, NLRC, NLRP и NLRX) и насчитывает в целом 23 члена [4, 13]. В коже клетками-контейнерами для возникающих инфламмасом могут служить миелоидные клетки, кератиноциты и фибробласты [4, 14]. В течение 20 лет более подробно были охарактеризованы инфламмасомы, содержащиеся в миелоидных клетках, но гораздо менее – свойства инфламмасом в немиелоидных клетках, к числу которых относятся кератиноциты и фибробласты.

Функционирование инфламмасом подразумевает такой нисходящий эффект, как развитие воспаления за счет секреции провоспалительных цитокинов с проявлениями одного из типов клеточной смерти или без них. Но предварительно инфламмасомы должны быть активированы и структурно собраны. Процесс активации протекает в четыре стадии [1]:

1) подготовка – экспрессия главных компонентов будущей инфламмасомы и неактивных форм цитокинов после распознавания паттернов и внешних провоспалительных цитокинов;

2) распознавание дополнительных активационных сигналов NLR- или другими рецепторами в цитозоле;

3) олигомеризация – структурная сборка инфламмасомы как высокомолекулярного комплекса со всеми необходимыми компонентами;

4) финальная активация – включает активацию каспаз, конвертацию неактивных форм цитокинов в секретируемые активные интерлейкин (IL)-1β, IL-18 и IL-33, а также гасдермина D, ответственного за образование пор в мембране клетки-контейнера и запуск пироптоза или других возможных типов программированной клеточной смерти [15–17].

В зависимости от пути активации все инфламмасомы подразделяются на канонические и неканонические [2, 18–20]. Канонический путь активации инфламмасомы NLRP3 обеспечивается двумя последовательно включаемыми группами сигналов. Первые импульсы приходят в первую стадию подготовки вследствие распознавания молекулярных паттернов TLR-рецепторами и внешних IL-1β и TNF их соответствующими рецепторами, что приводит к экспрессии генов неактивных форм цитокинов IL-1β, IL-18 и IL-33 и компонентов будущей инфлам-

сомы. Сигналы второй группы происходят из многих источников и поступают во вторую стадию. Следствием является третья стадия, в течение которой имеет место сборка всей молекулы инфламмосомы из обязательных компонентов. Инфламмосома мобилизует каспазу-1, а каспаза-1 обеспечивает конечные эффекты: секрецию провоспалительных цитокинов [11, 20, 21] и пироптоз [18]. Неканонический путь активации опосредуется прямым связыванием молекулярных паттернов каспазой-4 или каспазой-5 [11, 18, 22]. Следует иметь в виду, что в литературе имеются некоторые противоречия в описании путей активации инфламмосом, включая все стадии и их содержание.

Рассмотрим канонический путь активации более детально. Молекулярные паттерны PAMPs и DAMPs распознаются как TLR-рецепторами, экспрессированными на клеточной мембране, так и эндосомальными TLR-рецепторами; начинается сигнальная трансдукция, которая включает вовлечение адапторных белков MyD88 и TRIF. Одновременно внешние

цитокины TNF и IL-1 распознаются комплементарными им рецепторами с подключением данного цитокин-рецепторного взаимодействия к этому же сигнальному пути. Транскрипционные факторы AP-1, NF- κ B и IRF-3 стимулируют экспрессию генов, кодирующих компоненты, имеющие отношение к структуре будущей инфламмосомы и ее нисходящим эффектам (провоспалительным цитокинам) [1, 3, 18, 23].

На этом стадия подготовки заканчивается. Далее происходят следующие события: ионные потоки (отток из клетки K^+ и Cl^- и приток Ca^{++}), разрыв лизосом и высвобождение катепсина, митохондриальная дисфункция и связанные с ней генерация сверхокисных радикалов (ROS) и окисление ДНК. Это приводит к олигомеризации – процессу сборки инфламмосомы, мобилизации каспазы-1, расщеплению, активации и секреции IL-1 β , IL-18, IL-33 и поробразующего белка гасдермина D и, как результат, эффектам пироптоза [14, 18, 21]. Более подробно это представлено на рис. 2.

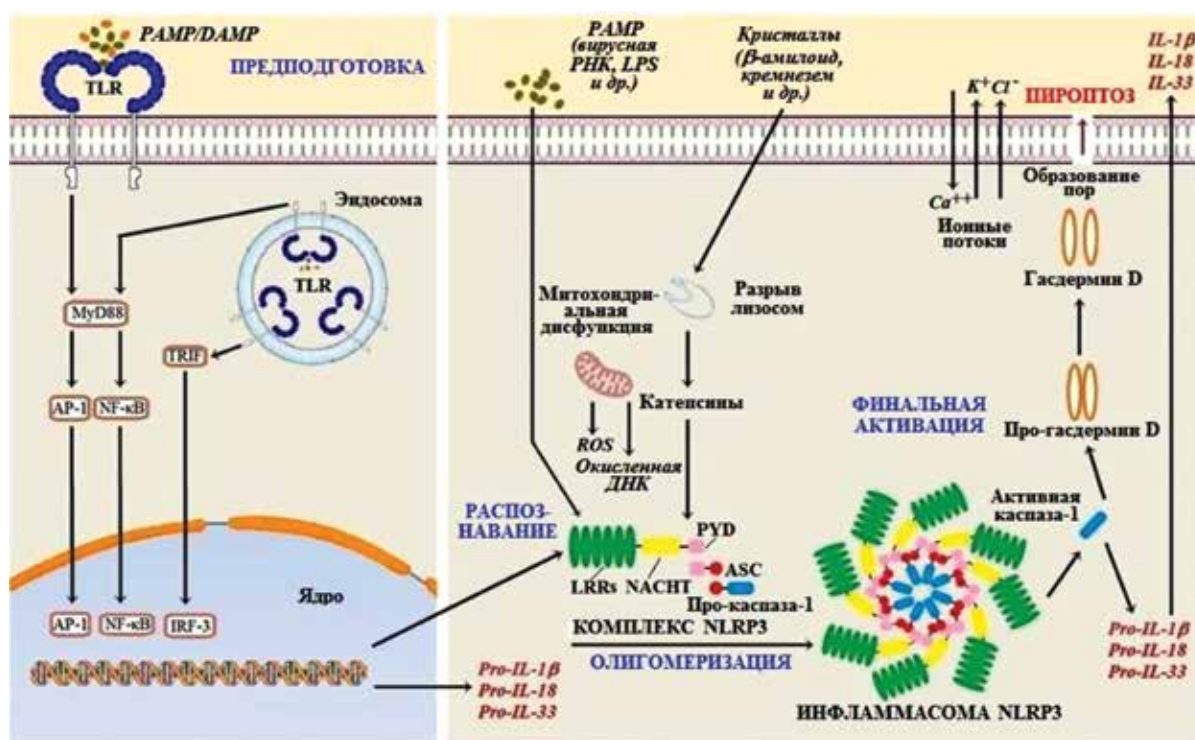


Рис. 2. Канонический путь активации инфламмосом на примере NLRP3: TLR – toll-подобный рецептор, LPS – липополисахарид, MyD88, TRIF, ASC – адапторные белки, AP-1, NF- κ B, IRF-3 – транскрипционные факторы, LRR, NACHT, PYD – домены комплекса NLRP3, IL-1 β – интерлейкин-1 β , IL-18 – интерлейкин-18, IL-33 – интерлейкин-33, ROS – сверхокисные кислородные радикалы

Предподготовка, распознавание, олигомеризация и финальная активация – это четыре стадии канонического пути активации инфламмосомы NLRP3. После распознавания PAMP и DAMP TLR-рецептора-

ми клетка-контейнер экспрессирует незрелые формы IL-1 β , IL-18 и IL-33 и неактивные компоненты будущего комплекса NLRP3. Комплекс NLRP3 состоит из: 1) обогащенных лейцином доменов (LRRs); 2)

центрального домена NACHT; 3) пиринового домена (PYD); 4) адапторного белка ASC и 5) прокаспазы-1. Комплекс NLRP3 предназначен для распознавания разных активационных сигналов, включая PAMP, катепсинов, ионных потоков, сверхокисных радикалов (ROS) и др., что требуется для сборки инфламматомы NLRP3. На конечной стадии активная каспаза-1 мобилизует продукцию порообразующего белка гасдермина D, который необходим для пироптоза. Также каспаза-1 расщепляет проформы цитокинов, превращая их в активные секретируемые IL-1 β , IL-18 и IL-33. К данному моменту раннее патофизиологическое событие, предшествующее воспалению, завершается. Не все детали процесса активации инфламматомы NLRP3 указаны на рис. 2.

При неканоническом пути активации инфламматомы NLRP3 молекулярные паттерны взаимодействуют с TLR-рецепторами. В частности, липополисахарид (LPS) грамотрицательных бактерий распознается рецептором TLR4, что приводит к экспрессии интерферонов 1-го типа, а затем активации ГТФаз (включая индуцированную интерферонами 1-го типа ГТФазу IRGB10), а также гуанилат-связывающих белков (GBPs). В результате LPS из внутриклеточно расположенных бактерий высвобождается в цитозоль [24]. LPS активирует каспазу-4 или каспазу-5. В последующем каспазы взаимодействуют с гасдермином D, необходимым для процесса пироптоза, а каспаза-1 расщепляет незрелую форму про-IL-1 β , конвертируя ее в активный секретируемый цитокин IL-1 β [14, 18, 23].

Описан также третий, альтернативный, путь активации инфламматомы NLRP3 [1, 23, 25], способствующий становлению секреции цитокинов без мобилизации ионных потоков, участия гасдермина D и пироптоза. В ответ на LPS в отсутствие других активационных сигналов, сложный молекулярный комплекс, содержащий в своем составе каспазу-8, может запускать этот путь активации.

Функционирование любой инфламматомы является хорошо регулируемым процессом [4, 18, 20, 26]. Очень важно, чтобы между активацией и инактивацией инфламматомы существовал оптимальный баланс. Из-за различий в структуре молекул рецепторов разные инфламматомы часто регулируются отличающимися механизмами [20]. В зависимости от поляризации инфламматомы могут быть каноническими и неканоническими [11, 18, 20, 23], провоспалительными или противовоспалительными [4], проопухолевыми или противоопухолевыми [11].

Парадоксально, но инфламматомы NLRP10 и NLRP12 ингибируют активность каспазы-1, а NLRP6 и NLRP7 – IL-1 β , проявляя противовоспалитель-

ные свойства. Однако известно, что инфламматомы NLRP10 и NLRP12 ассоциированы с атопическим дерматитом [4]. При разных формах рака функционирование различных инфламматом носит противоречивый характер. С одной стороны, инфламматомы оказывают стимулирующее влияние на противоопухолевый иммунитет, с другой – могут непосредственно способствовать становлению патологической толерантности к опухоли [11].

Адекватная активация инфламматом является физиологическим событием для организма, чтобы защититься от внедрения патогенных микробов или реактивации собственной условно-патогенной микробиоты с использованием механизмов иммунитета. Однако в случае аномальной активации инфламматомы могут вызывать клеточную смерть и повреждение тканей, что будет фактором развития патологий, особенно аутовоспалительных, нейродегенеративных и кардиометаболических, а также рака [20].

ПИРОПТОЗ, АПОПТОЗ, НЕКРОПТОЗ И ПАНОПТОЗ

В настоящее время наше понимание типов и механизмов клеточной смерти и их влияния на функционирование всего организма существенно изменилось; несколько типов программированной клеточной смерти описано в текущей литературе. Это апоптоз [27, 28], пироптоз [18, 27], некроптоз [16, 27] и паноптоз [15]. В дополнение к ним известны также нетоз и ферроптоз [27]. Клеточная смерть имеет и физиологические, и патологические черты. Например, селекция Т-клеток в тимусе, В-клеток в костном мозге и эмбриональное развитие являются физиологическими явлениями, необходимыми для организма, и, наоборот, гибель многочисленных клеток при хроническом воспалении и повреждении тканей – это абсолютно патологическое событие [28].

Апоптоз чаще не является воспалительным типом программированной клеточной смерти, но в случае, когда острое воспаление пролонгируется, а эффероцитоз апоптотических телец запаздывает, развивается поздний апоптоз – литическая форма клеточной смерти [27]. Болезни, ассоциированные с апоптозом, некоторые специфические процессы, например заживление ран в космосе, молекулярные механизмы сборки апоптосомы в условиях воздействия внешних или внутренних факторов, хорошо известны и широко освещены в литературе [27, 29].

Пироптоз – это зависимый от инфламматом тип программированной клеточной смерти, который происходит при вовлечении белков семейства

гасдерминов на последней стадии активации инфламмасы. Пироптоз характеризуется набуханием клетки, ранним разрывом клеточной мембраны, конденсацией ядерного материала. Высвобождение клеточного содержимого в экстрацеллюлярное пространство стимулирует как воспалительный, так и репаративный процессы [18, 27].

Некроптоз является наиболее неблагоприятным для органов и тканей типом запрограммированной клеточной смерти. Некроптоз участвует в патогенезе многих тяжелых состояний, таких как токсический эпидермальный некролиз, острый панкреатит, нейродегенеративные болезни, осложнения сердечно-сосудистых заболеваний и др. При блокаде сигнальной трансдукции при апоптозе происходит активация некроптоза с вовлечением каспазы-8, киназ RIP1/RIP3, псевдокиназы MLKL [16, 28]. Однако в настоящее время точные механизмы сборки некроптосомы полностью не раскрыты.

Паноптоз – относительно недавно описанный новый тип запрограммированной клеточной смерти, развивающийся на основе недавно идентифицированного цитоплазматического многомерного протеинового комплекса, названного паноптосомой. Паноптосома может вовлекать параллельно все три ключевые типа запрограммированной клеточной смерти: пироптоз, апоптоз и некроптоз [15]. Хотя паноптосома инкорпорирует фундаментально различные механизмы сборки, фактически паноптоз следует рассматривать как комбинированный воспалительный тип клеточной смерти, имеющий отношение к активации инфламмасы. Описано, что экспрессированные компоненты паноптосомы ассоциированы с аутовоспалительными, аутоиммунными и нейродегенеративными болезнями, а также многими формами рака [15].

СТАРЕНИЕ КЛЕТКИ В СВЯЗИ С ВОСПАЛЕНИЕМ

Существует много факторов, воздействующих на кожу и клетки иммунной системы в коже и других барьерных органах. Некоторые могут быть неблагоприятными, представлять сигналы тревоги и, по крайней мере, индуцировать образование инфламмасы и затем развитие воспалительного процесса.

В эксперименте по инфламмасомам NLRP1 и NLRP3 культуры человеческих эпидермальных кератиноцитов подвергались воздействию ультрафиолетового излучения в участке спектра В и аденозинтрифосфата (АТФ), что вызывало высвобождение каспазы-1, в то время как бактериальный токсин нигерицин и домашняя пыль не давали такого результата [30]. В другом эксперименте по-

казано, что экстракт сигаретного дыма повышал активность каспазы-1 через NLRP3-независимый и TLR4-TRIF-каспаза-8-зависимый путь. Одновременно он ингибировал экспрессию инфламмасы NLRP3 и высвобождение IL-1 β и IL-18, действуя на транскрипционном уровне [31].

Солнечное ультрафиолетовое излучение в участке спектра В – один из основных факторов повреждения кожи, который может индуцировать воспаление, клеточное старение и даже рак. При использовании протокола CRISPR/Cas9 в отношении человеческих первичных кератиноцитов была установлена более важная роль инфламмасы NLRP1 по сравнению с NLRP3 в ответе на ультрафиолетовое излучение В и секреции IL-1 β и IL-18 [32]. Другие активационные сигналы за исключением исходящих от паттерн-распознающих рецепторов необходимы для сборки инфламмасы NLRP3 и активации каспазы-1. К ним относятся АТФ, нигерицин, кристаллы мочевой кислоты или асбеста. Ультрафиолетовое излучение В и нигерицин известны как активаторы инфламмасы в миелоидных клетках и кератиноцитах, поскольку оба стимулируют IL-1 β только в присутствии ASC и NLRP1, в то время как у нокаутных мышей не наблюдается их влияние на высвобождение IL-1 β [33].

В целом результат воздействия на кожу неблагоприятных факторов сводится к течению хронического низкоинтенсивного субклинического воспаления или клеточного старения, обусловленного воспалением (inflammaging) [34]. Это явление связано с сочетанием внешних и генетических факторов, которые могут включать аккумуляцию персистирующих старых клеток и клеточную память, сформированную на основе эпигенетических модификаций генома [35]. Основываясь на экспериментах с использованием клеточных культур и лабораторных животных, показано, что клеточное старение является существенно зависимым от супрессивного белка p53 и каспазы-4 неканонического пути, запущенного стрессом и цитоплазматическим LPS [22, 36].

Если пациенты уже страдают от атопического дерматита, псориаза, угревой болезни, воздействие поллютантов из окружающей среды и ультрафиолетового излучения в участке спектра В может привести к обострению хронической патологии за счет нарастания интенсивности кожного воспаления, вызванного цитокинами IL-1 β и IL-18 [33, 37]. Чем продолжительнее экспозиция этого неблагоприятного воздействия, тем больше риск развития болезней, опосредованных инфламмасомами. Более того, ультрафиолетовое излучение может стимулировать рост раковой опухоли кожи [9, 33].

БОЛЕЗНИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ИНФЛАММАСОМАМИ

Воспаление не является единственным нисходящим эффектом активации инфламмасом, так как известно также их участие в представлении антигенов, транскрипции [4], посттранскрипционной и посттрансляционной регуляции [18, 19], клеточном старении и смерти [37], а также канцерогенезе [9]. При комбинированных нисходящих эффектах в случаях, если наблюдается неконтролируемая гиперактивация, возможно развитие аутовоспалительных [38–40], аутоиммунных [41, 42], аллергических болезней [43, 44] и рака [11, 45] (таблица). Классическими, нередко встречающимися расстройствами, которые ассоциированы с инфламмасомами, являются аутовоспалительные патологии (например, семейная средиземноморская лихорадка, криопиринопатии, периодическая болезнь, болезнь Стилла и др.) [38, 39].

Таблица

Ассоциация инфламмасом с патологиями		
Инфлам-масома	Болезни и синдромы	Источ-ник
NLRP1	Генерализованное витилиго, врожденный токсоплазмоз, болезнь Аддисона	[2, 4]
	Рак кожи	[45, 46]
NLRP2	Ранний атопический дерматит у детей	[4, 47]
NLRP3	Атопический дерматит, псориаз, угревая болезнь, крапивница, беллезный пемфигоид, витилиго	[1, 2, 13, 23, 42, 48–52]
	Аллергический контактный дерматит	[53]
	Аутовоспалительные, нейродегенеративные и кардиометаболические болезни, рак	[9, 23, 38]
NLRP10, NLRP12	Атопический дерматит	[4]
	Периодическая болезнь	[38, 39]
NAIP-NLRC4	Аутовоспалительные синдромы	[1, 38]
NLRC5	Меланома, фиброзные опухоли	[4, 54]
AIM-2	Витилиго, аллергический контактный дерматит, индуцированное альдостероном повреждение почки	[1, 2]
IFI16	Рак шейки матки	[55]
PYRIN	Аутовоспалительные болезни	[1, 38]

Кожа является барьерным органом, через который в организм попадает много микробов, поэтому значительная часть реакций врожденного иммунитета и адаптивные иммунные ответы происходят именно здесь. Патогенез большинства иммунологически опосредованных болезней обусловлен сочетанием

генетических, эпигенетических и внешних факторов в разных комбинациях, и среди таких патологий болезни кожи занимают особое место.

Как следует из таблицы, почти все болезни кожи представлены среди патологических состояний, опосредуемых инфламмасомами. В последние 15 лет наблюдался значительный прогресс в идентификации новых ассоциаций болезней с инфламмасомами и их компонентами и разработке новых лекарств, которые показали способность регулировать активность инфламмасом. В наибольшей степени были изучены канонические инфламмасомы NLRP3 и AIM2 [1, 2, 42]. Описаны более частая экспрессия некоторых NLR-рецепторов и колонизация кожи *S. aureus* у больных атопическим дерматитом по сравнению с контролем. Найдена более высокая экспрессия этих рецепторов и в псориатических бляшках [4]. Роль инфламмасомы NLRP3 в патогенезе и терапии псориаза продемонстрирована на разных уровнях, включая эпигенетическую регуляцию. В эксперименте показано, что miR-155 может запускать псориазоподобное воспаление через инфламмасому NLRP3 [56]. Получены данные о снижении экспрессии инфламмасомы NLRC5 в клетках меланомы за счет подавления презентации опухолевых антигенов [54] и, наоборот, о повышении в келоидных фибробластах и фиброзных опухолях кожи [4].

Новые интересные данные появились и в отношении другого барьерного органа – дыхательного тракта. Показано, что активация инфламмасомы NLRP3 может стимулировать развитие аллергического ринита за счет процессов пироптоза в назальных эпителиоцитах и макрофагах [57, 58]. Стало известно о вовлечении инфламмасомы NLRP3 в развитие «цитокинового шторма» при тяжелом течении COVID-19 и остром респираторном дистресс-синдроме благодаря тому, что белок коронавируса N активно стимулирует связывание NLRP3 с ASC и сборку всей инфламмасомы [59].

ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ИНТЕРВЕНЦИЙ

Использование инфламмасомы NLRP3 как мишени для новых терапевтических интервенций в лечении NLRP3-ассоциированных болезней быстро расширяется. Исследована эффективность нескольких лекарственных средств [23]. Новые субстанции (включая малые молекулы), находящиеся на разных стадиях исследований, стали перспективными препаратами-кандидатами [20]. В зависимости от поляризации инфламмасомы разработки в лечении NLRP3-ассоциированных патологий фокусируются на ингибиторах и активаторах [18]. В большей мере

востребованы ингибиторы, направленные как на весь процесс активации NLRP3, так и на отдельные молекулы (каспазы, NACHT, ASC и др.) [23]. Одобренный FDA (США) для клинического использования траниласт, аналог метаболита триптофана, непосредственно связывается с доменом NACHT комплекса NLRP3, что нарушает сборку всей молекулы NLRP3, т.е. блокируется стадия олигомеризации [60].

В последние годы главным подходом в лечении NLRP3-ассоциированных болезней было использование ингибиторов IL-1 β и рецептора к IL-1 β . Так, FDA одобрило три биолоджика для лечения воспалительных (NLRP3-опосредованных) болезней: канакинумаба, ингибитора IL-1 β ; анакинры, рекомбинантного антагониста рецептора к IL-1; и рилонацепта, рецептора-ловушки, связывающей IL-1 β и IL-1 α [18, 61]. В частности, описано эффективное лечение генерализованного псориаза канакинумабом, моноклональными антителами к IL-1 β , которое приводило к полной ремиссии с исчезновением всех кожных элементов [62]. Также известны результаты успешной против-TNF-терапии при псориазе [49]. Однако в некоторых случаях наблюдались побочные эффекты биолоджиков [18].

Второй подход, связанный с прямым торможением комплекса NLRP3 малыми молекулами, на предварительных этапах показал высокую специфичность, экономический эффект и меньшую токсичность по сравнению с блокадой цитокинов [18, 63]. Предложено использование везикул (наночастиц), получаемых из мембраны *B. pertussis*, как новую платформу для вакцины, направленной на инфламмасому NLRP3 в макрофагах. Бактериальный LPS может доставляться наночастицами и трансфицироваться в компоненты NLRP3, чтобы запустить неканонический путь активации и затем активировать естественный иммунитет [64].

Новой тенденцией в последние годы стало понимание связи между инфламмасомой NLRP3 и развитием таких воспалительных болезней респираторного тракта, как аллергический ринит. Инфламмасома NLRP3 сейчас рассматривается как новая мишень для лекарств в дополнение или даже замещение традиционно применяемых средств в лечении этой болезни в будущем [65].

Однако пока нет сколько-нибудь существенного числа лекарств для лечения NLRP3-ассоциированных болезней, одобренных FDA или другими агентствами. Для разрешения использования в клинической практике [23] остается требование критической оценки безопасности, толерантности, дозозависимой токсичности модуляторов инфламмасы NLRP3. Тем не менее новые научные данные о патогенезе

NLRP3-ассоциированных болезней могут помочь в недалеком будущем транслировать молекулярные знания в терапию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Открытие инфламмасы как раннего события перед самым началом воспалительного процесса в первые годы XXI в. стало точкой отсчета для последовавших впечатляющих исследований на клеточном и молекулярном уровнях, которые привели к новому пониманию механизмов воспаления и естественного иммунитета. В настоящее время уже описано около 20 инфламмасом, но наиболее глубоко две канонические: NLRP3 и AIM2. Одновременно на новом уровне исследованы клетки-контейнеры инфламмасом, ранее, казалось бы, хорошо знакомые миелоидные клетки, а применительно к коже и кератиноциты, и фибробласты. Внедрение новых подходов из арсенала omics-технологий позволило сделать переосмысление и установить новые акценты в понимании ландшафта клеток кожи.

Исследованием инфламмасом занимаются специалисты самых разных профилей: патологи, гистологи, иммунологи, молекулярные биологи, представители клинических направлений и др. Как часто бывает в науке, в интерфейсе разных подходов рождается новое и совершаются открытия. Если на фундаментальном уровне сформировалось понимание структуры, сигналинга, путей активации инфламмасом и вариантов нисходящих эффектов, не ограничивающихся началом воспалительного процесса, то пока еще не произошла трансляция фундаментальных знаний в клиническую практику. Но есть все основания, что в ближайшем будущем появятся новые терапевтические подходы и лекарства с высокой эффективностью и соответствующим профилем безопасности, которые внесут свой вклад в современное лечение аутовоспалительных, аутоиммунных, нейродегенеративных, аллергических болезней и рака.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lara-Reyna S., Caseley E.A., Topping J., Rodrigues F., Jimenez Macias J., Lawler S.E. et al. Inflammasome activation: from molecular mechanisms to autoinflammation. *Clin. Transl. Immunol.* 2022;11(7):e1404. DOI: 10.1002/cti2.1404.
2. Tang L., Zhou F. Inflammasomes in common immune-related skin diseases. *Front. Immunol.* 2020;11:882. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00882.
3. Klimov V.V. Innate immunity. In: From basic to clinical immunology. Cham: Springer, 2019:127–159. DOI: 10.1007/978-3-030-03323-1_3.
4. Danis J., Mellett M. Nod-Like receptors in host defence and disease at the epidermal barrier. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(9):4677. DOI: 10.3390/ijms22094677.

5. Jacquet A. Characterization of innate immune responses to house dust mite allergens: Pitfalls and limitations. *Front. Allergy*. 2021;2:662378. DOI: 10.3389/falgy.2021.662378.
6. Liu B., Li A., Xu J., Cui Y. Single-cell transcriptional analysis deciphers the inflammatory response of skin-resident stromal cells. *Front. Surg.* 2022;9:935107. DOI: 10.3389/fsurg.2022.935107.
7. Solé-Boldo L., Raddatz G., Schütz S., Mallm J.-P., Rippe K., Lonsdorf A.S. et al. Single-cell transcriptomes of the human skin reveal age-related loss of fibroblast priming. *Commun. Biol.* 2020;3(1):188. DOI: 10.1038/s42003-020-0922-4.
8. Nagar A., Rahman T., Harton J.A. The ASC Speck and NLRP3 inflammasome function are spatially and temporally distinct. *Front. Immunol.* 2021;12:752482. DOI: 10.3389/fimmu.2021.752482.
9. Ciążyńska A., Bednarski I.A., Wódz K., Narbutt J., Lesiak A. NLRP1 and NLRP3 inflammasomes as a new approach to skin carcinogenesis (Review). *Oncol. Letters*. 2020;19(3):1649–1656. DOI: 10.3892/ol.2020.11284.
10. Ross C., Chan A.H., von Pein J.B., Maddugoda M.P., Boucher D., Schroder K. Inflammatory caspases: toward a unified model for caspase activation by inflammasomes. *Annu. Rev. Immunol.* 2022;40:249–269. DOI: 10.1146/annurev-immunol-101220-030653.
11. Lillo S., Saleh M. Inflammasomes in cancer progression and anti-tumor immunity. *Front. Cell Dev. Biol.* 2022;10:839041. DOI: 10.3389/fcell.2022.839041.
12. Martinon F., Burns K., Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspase and processing of proIL-beta. *Mol. Cell*. 2002;10(2):417–426. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00599-3.
13. Tsang M.S.-M., Hou T., Chan B.C.-L., Wong C.K. Immunological roles of NLR in allergic diseases and its underlying mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):1507. DOI: 10.3390/ijms22041507.
14. Lachner J., Mlitz V., Tschachler E., Eckhart L. Epidermal cornification is preceded by the expression of a keratinocyte-specific set of pyroptosis-related genes. *Sci. Rep.* 2017;7(1):17446. DOI: 10.1038/s41598-017-17782-4.
15. Samir P., Malireddi R.K.S., Kanneganti T.D. The PANoptosome: A deadly protein complex driving pyroptosis, apoptosis, and necroptosis (PANoptosis). *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020;10:238. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00238.
16. Дмитриев Ю.В., Галагудза М.М. Некроптоз и опыт его таргетной модуляции в контексте персонализированной медицины. *Российский журнал персональной медицины*. 2022;2(2):33–45. DOI: 10.18705/2782-3806-2022-2-2-33-45.
17. Li Y., Sun L., Zhang Y. Programmed cell death in the epithelial cells of the nasal mucosa in allergic rhinitis. *Int. Immunopharm.* 2022;112:109252. DOI: 10.1016/j.in-timp.2022.109252.
18. Swanson K.V., Deng M., Ting J.P. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat. Rev. Immunol.* 2019;19(8):477–489. DOI: 10.1038/s41577-019-0165-0.
19. Seok J.K., Kang H.C., Cho Y.Y., Lee H.S., Lee J.Y. Regulation of the NLRP3 inflammasome by post-translational modifications and small molecules. *Front. Immunol.* 2020;11:618231. DOI: 10.3389/fimmu.2020.618231.
20. Zheng D., Liwinski T., Elinav E. Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms. *Cell Discov.* 2020;6(1):36. DOI: 10.1038/s41421-020-0167-x.
21. Zheng J., Yao L., Zhou Y., Gu X., Wang C., Bao K. et al. A novel function of NLRP3 independent of inflammasome as a key transcription factor of IL-33 in epithelial cells of atopic dermatitis. *Cell Death Dis.* 2021;12(10):871. DOI: 10.1038/s41419-021-04159-9.
22. Fernandez-Duran I., Quintanilla A., Tarrats N., Birch J., Hari P., Millar F.R. et al. Cytoplasmic innate immune sensing by the caspase-4 non-canonical inflammasome promotes cellular senescence. *Cell Death Differ.* 2022;29(6):1267–1282. DOI: 10.1038/s41418-021-00917-6.
23. Seok J.K., Kang H.C., Cho Y.-Y., Lee H.-S., Lee J.Y. Therapeutic regulation of the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases. *Arch. Pharm. Res.* 2021;44(1):16–35. DOI: 10.1007/s12272-021-01307-9.
24. Ha H.J., Chun H.L., Lee S.Y., Park H.H. Molecular basis of IRGB10 oligomerization and membrane association for pathogen membrane disruption. *Commun. Biol.* 2021;4(1):92. DOI: 10.1038/s42003-020-01640-7.
25. Gaidt M.M., Hornung V. Alternative inflammasome activation enables IL-1 β release from living cells. *Curr. Opin. Immunol.* 2017;44:7–13. DOI: 10.1016/j.coi.2016.10.007.
26. Christgen S., David E., Place D.E., Kanneganti T.-D. Toward targeting inflammasomes: Insights into their regulation and activation. *Cell Res.* 2020;30(4):315–327. DOI: 10.1038/s41422-020-0295-8.
27. Anderton H., Alqudah S. Cell death in skin function, inflammation, and disease. *Biochem. J.* 2022;479(15):1621–1651. DOI: 10.1042/BCJ20210606.
28. Bertheloot D., Latz E., Franklin B.S. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: An intricate game of cell death. *Cell Mol. Immunol.* 2021;18(5):1106–1121. DOI: 10.1038/s41423-020-00630-3.
29. Riwaldt S., Corydon T.J., Pantalone D., Sahana J., Wise P., Wehland M. et al. Role of apoptosis in wound healing and apoptosis alterations in microgravity. *Front. Bioengin. Biotechnol.* 2021;9:679650. DOI: 10.3389/fbioe.2021.679650.
30. Gruber J.V., Holtz R. *In vitro* expression of NLRP inflammasome-induced active Caspase-1 expression in normal human epidermal keratinocytes (NHEK) by various exogenous threats and subsequent inhibition by naturally derived ingredient blends. *J. Inflam. Res.* 2019;12:219–230. DOI: 10.2147/JIR.S215776.
31. Buscetta M., Di Vincenzo S., Miele M., Badami E., Pace E., Cipollina C. Cigarette smoke inhibits the NLRP3 inflammasome and leads to caspase-1 activation via the TLR4-TRIF-caspase-8 axis in human macrophages. *FASEB J.* 2020;34(1):1819–1832. DOI: 10.1096/fj.201901239R.
32. Fenini G., Grossi S., Contassot E., Biedermann T., Reichmann E., French L.E. et al. Genome editing of human primary keratinocytes by CRISPR/Cas9 reveals an essential role of the NLRP1 inflammasome in UVB sensing. *J. Invest. Dermatol.* 2018;138(12):2644–2652. DOI: 10.1016/j.jid.2018.07.016.

33. Burian M., Yazdi A.S. NLRP1 Is the key inflammasome in primary human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 2018;138(12):2507–2510. DOI: 10.1016/j.jid.2018.08.004.
34. Latz E., Duewell P. NLRP3 inflammasome activation in inflamming. *Sem. Immunol.* 2018;40:61–73. DOI: 10.1016/j.smim.2018.09.001.
35. Nardini C., Moreau J.-F., Gensous N., Ravaioli F., Garagnani P., Bacalini M.G. The epigenetics of inflamming: The contribution of age-related heterochromatin loss and locus-specific remodelling and the modulation by environmental stimuli. *Sem. Immunol.* 2018;40:49–60. DOI: 10.1016/j.smim.2018.10.009.
36. Cyr B., Hadad R., Keane R.W., Vaccari J.P.R. The role of non-canonical and canonical inflammasomes in inflamming. *Front. Mol. Neurosci.* 2022;15:774014. DOI: 10.3389/fnmol.2022.774014.
37. Ferrara F., Prieux R., Woodby B., Valacchi G. Inflammasome activation in pollution-induced skin conditions. *Plast. Reconstr. Surg.* 2021;147(1S-2):15S–24S. DOI: 10.1097/PRS.0000000000007617.
38. Georgin-Lavialle S., Fayand A., Rodrigues F., Bachmeyer C., Savey L., Grateau G. Autoinflammatory diseases: state of the art. *Presse Med.* 2019;48(1Pt2):e25–e48. DOI: 10.1016/j.lpm.2018.12.003.
39. Georgin-Lavialle S., Ducharme-Benard S., Sarabay G., Savey L., Grateau G., Hentgen V. Systemic autoinflammatory diseases: clinical state of the art. Best practice and research. *Clin. Rheumatology.* 2020;34(4):101529. DOI: 10.1016/j.berh.2020.101529.
40. Пирожков С.В., Литвицкий П.Ф. Инфламмосомные болезни. *Иммунология.* 2018;39(2-3):158–165. DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-2-3-158-165.
41. Zhang Y., Yang W., Li W., Zhao Y. NLRP3 inflammasome: Checkpoint connecting innate and adaptive immunity in autoimmune diseases. *Front. Immunol.* 2021;12:732933. DOI: 10.3389/fimmu.2021.732933.
42. Wang D., Duncan B., Li X., Shi J. The role of NLRP3 inflammasome in infection-related, immune-mediated and autoimmune skin diseases. *J. Dermatol. Sci.* 2020;98(3):146–151. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2020.03.001.
43. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Свитич О.А., Брагвадзе Б.Г., Алексеева А.А., Ганковская Л.В. Роль эпителиальных клеток в патогенезе атопии. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019;8(1):201–210. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-201–210.
44. Загрешенко Д.С., Климов В.В., Трофименко Н.А., Дорофеева М.С. Интерлейкин-1В и интерлейкин-18 в экссудатах «кожного окна» у больных хронической крапивницей. *Медицина в Кузбассе.* 2022;21(3):27–29. DOI: 10.24412/2687-0053-2022-3-27-29.
45. Di Filippo M., Hennig P., Karakaya T., Slafova M., Beer H.-D. NLRP1 in cutaneous SCCs: An example of the complex roles of inflammasomes in cancer development. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(20):12308. DOI: 10.3390/ijms232012308.
46. Zhong F.L., Mamaï O., Sborgi L., Boussofara L., Hopkins R., Robinson K. et al. Germline NLRP1 mutations cause skin inflammation and cancer susceptibility syndromes via inflammasome activation. *Cell.* 2016;167(1):187–202.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2016.09.001.
47. Thürmann L., Grützmann K., Klös M., Bieg M., Winter M., Polte T. et al. Early-onset childhood atopic dermatitis is related to NLRP2 repression. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018;141(4):1482–1485.e16. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.11.018.
48. Li S., Kang P., Zhang W., Jian Z., Zhang Q., Yi X. et al. Activated NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome in keratinocytes promotes cutaneous T-cell response in patients with vitiligo. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;145(2):632–645. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.10.036.
49. Deepti V., Shora Z.F., Gunthorunn S., Cecilia B.E., Charlotta S., Charlotta E. Enhanced inflammasome activity in patients with psoriasis promotes systemic inflammation. *J. Invest. Dermatol.* 2021;141(3):586–595.e5. DOI: 10.1016/j.jid.2020.07.012.
50. Su F., Xia Y., Huang M., Zhang L., Chen L. Expression of NLRP3 in psoriasis is associated with enhancement of interleukin-1b and caspase-1. *Med. Sci. Monit.* 2018;24:7909–7913. DOI: 10.12659/MSM.911347.
51. Tsuji G., Hashimoto-Hachiya A., Yen V.H., Takemura M., Yumine A., Furue K. et al. Metformin inhibits IL-1b secretion via impairment of NLRP3 inflammasome in keratinocytes: implications for preventing the development of psoriasis. *Cell Death Discovery.* 2020;6:11. DOI: 10.1038/s41420-020-0245-8.
52. Yang B.-Y., Cheng Y.-G., Liu Y., Liu Y., Tan J.-Y., Guan W. et al. *Datura Metel L.* ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis and inhibits inflammatory cytokines production through TLR7/8–MyD88–NF-kB–NLRP3 inflammasome pathway. *Molecules.* 2019;24(11):2157. DOI: 10.3390/molecules24112157.
53. Bonnekoh H., Vera C., Abad-Perez A., Radetzki S., Neuenchwander M., Specker E. et al. Topical inflammasome inhibition with disulfiram prevents irritant contact dermatitis. *Clin. Transl. Allergy.* 2021;11(5):e12045. DOI: 10.1002/ctt2.12045.
54. Luo Q., Zeng J., Li W., Lin L., Zhou X., Tian X. et al. Silencing of miR155 suppresses inflammatory responses in psoriasis through inflammasome NLRP3 regulation. *Int. J. Mol. Med.* 2018;42(2):1086–1095. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3677.
55. Cai H., Yan L., Liu N., Xu M., Cai H. IFI16 promotes cervical cancer progression by upregulating PD-L1 in immunomicroenvironment through STING-TBK1-NF-kB pathway. *Biomed. Pharmacother.* 2020;123:109790. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109790.
56. Yang Z., Liang C., Wang T., Zou Q., Zhou M., Cheng Y. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2020;522(1):61–67. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.11.031.
57. Kim H., Kim H., Feng Y., Li Y., Tamiya H., Tocci S. et al. PRMT5 control of cGAS/STING and NLRP3 pathways defines melanoma response to antitumor immunity. *Sci. Transl. Med.* 2020;12(551):eaaz5683. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaz5683.
58. Zhou H., Zhang W., Qin D., Liu P., Fan W., Lv H. et al. Activation of NLRP3 inflammasome contributes to the inflammatory response to allergic rhinitis via macrophage pyroptosis. *Int. Immunopharmacol.* 2022;110:109012. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109012.
59. Pan P., Shen M., Yu Z., Ge W., Chen K., Tian M. et al. SARS-CoV-2 N protein promotes NLRP3 inflammasome activation

- to induce hyperinflammation. *Nat. Commun.* 2021;12(1):4664. DOI: 10.1038/S41467-021-25015-6.
60. Huang Y., Jiang H., Chen Y., Wang X., Yang Y., Tao J. et al. Tranilast directly targets NLRP3 to treat inflammasome-driven diseases. *EMBO Mol. Med.* 2018;10(4):e8689. DOI: 10.15252/emmm.201708689.
61. Насонов Е.Л. Роль интерлейкина 1 в развитии заболеваний человека. *Научно-практическая ревматология.* 2018;56(Прил.4):19–27. DOI: 10.14412/1995-4484-2018-19-27.
62. Skendros P., Papagoras C., Lefaki I., Giatromanolaki A., Kotsianidis I., Speletas M. et al. Successful response in a case of severe pustular psoriasis after interleukin-1beta inhibition. *Br. J. Dermatol.* 2017;176(1):212–215. DOI: 10.1111/bjd.14685.
63. Sebastian-Valverde M., Wu H., Rahim M.A., Sanchez R., Kumar K., De Vita R.J. et al. Discovery and characterization of small-molecule inhibitors of NLRP3 and NLRC4 inflammasomes. *J. Biol. Chem.* 2021;296:100597. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.100597.
64. Elizagaray M.L., Gomes M.T.R., Guimaraes E.S., Rumbo M., Hozbor D.F., Oliveira S.C. et al. Canonical and non-canonical inflammasome activation by outer membrane vesicles derived from *Bordetella pertussis*. *Front. Immunol.* 2020;11:1879. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01879.
65. Leszczyńska K., Jakubczyk D., Górska S. The NLRP3 inflammasome as a new target in respiratory disorders treatment. *Front. Immunol.* 2022;13:1006654. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1006654.

Информация об авторах

Климов Владимир Васильевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, klimov@mail.tomsknet.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6673-7556>

Загрешенко Денис Сергеевич – канд. мед. наук, доцент, кафедра клинической лабораторной диагностики, НГИУВ – филиал РМАНПО, г. Новокузнецк, zagreshenko@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4309-664X>

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, <http://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Климов Андрей Владимирович – канд. мед. наук, ассистент, кафедра оториноларингологии; доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, klimov.lor@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2776-5834>

Найдина Оксана Анатольевна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, klimov.lor@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1407-2086>

Цыплина Екатерина Юрьевна – лаборант-исследователь, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, kатыts9917@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9046-6637>

Кологривова Елена Николаевна – д-р мед. наук, профессор, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, enkologrivova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1639-4676>

Кошовкина Татьяна Васильевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, koshov.tan@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7280-1980>

Кошкарлова Наталья Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, kasy@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6032-2402>

(✉) **Климов Владимир Васильевич**, klimov@mail.tomsknet.ru

Поступила в редакцию 30.12.2022;
одобрена после рецензирования 16.01.2023;
принята к публикации 27.02.2023

УДК 618.11-006.6:616.381-008.8—091.8
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-122-133>

Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса

Ковалев О.И.^{1,2}, Вторушин С.В.^{1,2}, Кайгородова Е.В.^{1,2}

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

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

РЕЗЮМЕ

Рак яичника принято рассматривать как наиболее злокачественную и агрессивную опухоль женской репродуктивной системы, что во многом связано с ранним развитием злокачественного асцита и перитонеального канцероматоза. Опухолевые клетки, представляющие первичный очаг, а также содержащиеся в составе асцитической жидкости, крайне гетерогенны с морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической позиций. Значимую роль в процессах самообновления опухоли, ее дифференцировки, метастазирования и развития химиорезистентности играют опухолевые стволовые клетки.

Настоящий обзор направлен на обобщение имеющихся данных о стволовых опухолевых клетках рака яичников и их роли в опухолевой прогрессии. При написании обзора проведен биоинформационный поиск в универсальных базах данных PubMed, NCBI, Google Scholar и eLibrary с применением следующих ключевых слов для поиска: cancer stem cells, ovarian cancer, malignant ascites, hemoresistance и т.п.

Представленные данные позволяют всесторонне охарактеризовать роль стволовых свойств опухолевых клеток рака яичника. Изложена актуальная информация о молекулярно-биологических параметрах стволовых опухолевых клеток рака яичника, представляющих клеточный компонент злокачественного асцита, с приведением данных собственных исследований. Отражены современные представления о механизмах формирования клеточных сфероидов и их вкладе в прогрессирование опухолевого процесса.

Опухолевые стволовые клетки являются крайне перспективной мишенью в создании будущих терапевтических стратегий, основанных на изучении сигнальных путей в стволовых клетках рака яичников, механизмах образования сфероидов, а также вкладе иммунных клеток в приобретение стволовых свойств опухоли.

Ключевые слова: рак яичника, опухолевые стволовые клетки, злокачественный асцит, опухолевые сфероиды, химиорезистентность

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: Ковалев О.И., Вторушин С.В., Кайгородова Е.В. Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):122–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-122-133>.

Stem cell properties of cancer cells in ascitic fluid of patients with ovarian cancer: a key to control over cancer progression

Kovalev O.I.^{1,2}, Vtorushin S.V.^{1,2}, Kaigorodova E.V.^{1,2}

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

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

ABSTRACT

Ovarian cancer is considered to be the most malignant and aggressive tumor of the female reproductive system, which is largely associated with early development of malignant ascites and peritoneal carcinomatosis. Cancer cells representing the primary focus, as well as those contained in the ascitic fluid, are extremely heterogeneous in terms of morphological, immunohistochemical, and molecular genetic aspects. Cancer stem cells play a significant role in tumor self-renewal, differentiation, metastasis, and development of chemoresistance.

This literature review is aimed at summarizing the available data on cancer stem cells in ovarian cancer and their role in tumor progression. A bioinformatic search was carried out in the PubMed, NCBI, Google Scholar, and eLibrary databases using the keywords “cancer stem cells”, “ovarian cancer”, “malignant ascites”, “chemoresistance”, etc.

The data presented in the review make it possible to comprehensively characterize the role of stem cell properties of ovarian cancer cells. The review presents up-to-date information on the molecular and biological parameters of cancer stem cells in ovarian cancer, which are the cellular component of malignant ascites, as well as data from the authors' studies. Along with this, the article describes modern ideas about the mechanisms of formation of cellular spheroids and their contribution to cancer progression.

Cancer stem cells are an extremely promising target in the development of future therapeutic strategies based on the study of signaling pathways in ovarian cancer stem cells, the mechanisms of spheroid formation, and the contribution of immune cells to the acquisition of cancer stem cell properties.

Keywords: ovarian cancer, cancer stem cells, malignant ascites, tumor spheroids, chemoresistance

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

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

For citation: Kovalev O.I., Vtorushin S.V., Kaigorodova E.V. Stem cell properties of cancer cells in ascitic fluid of patients with ovarian cancer: a key to control over cancer progression. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):122–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-122-133>.

ВВЕДЕНИЕ

Рак яичника (РЯ) является крайне злокачественной и наиболее агрессивной опухолью среди всех неоплазий органов женской репродуктивной системы, сопровождается ранним развитием злокачественного асцита с метастатическим распространением опухоли по органам брюшной полости [1]. Современная «теория опухолевых стволовых клеток» постулирует, что стволовые клетки опухоли ответственны за процессы самообновления, ее дифференцировку, метастазирование и развитие резистентности к химиотерапии. По своей природе опухолевые стволовые клетки обладают способностью

к симметричному и асимметричному делению с последующей дифференцировкой опухолевого субклона (субклонов), тем самым устанавливая как фенотипическую, так и функциональную гетерогенность в иерархической организации опухолей [2]

МАРКЕРЫ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

Необходимо отметить, что идентификация стволовых свойств опухолевых клеток у онкологических пациентов довольно проблематична ввиду отсутствия универсального маркера или панели маркеров. В настоящее время существует широкое разнообра-

зие белков, экспрессия которых расценивается как признак стволовых свойств в данных клетках (таблица).

Т а б л и ц а

Маркеры опухолевых стволовых клеток при раке яичника		
Наименование маркера	Описание	Источник
CD133 (проминин-1)	Гликозилированный трансмембранный белок	[3]
CD44	Рецептор гиалуроновой кислоты	[4, 5]
CD24	Лиганд Р-селектина	[6]
CD177	Рецептор тиразинкиназы III типа	[7]
MyD88	Цитозольный адаптерный белок, содержащих домен TIR	[8–10]
ErCAM	Кальций-независимая гомофильная молекула адгезии эпителиальных клеток	[11]
ALDH1	Фермент, катализирующий окисление альдегидов до карбоновых кислот	[12, 13]
CXCR4	Рецептор хемокина CXCL12	[14–16]
NANOG	Транскрипционный фактор	[17–19]
SOX2	Транскрипционный фактор	[20, 21]
OCT4	Транскрипционный фактор	[22]

Ряд маркеров клеточной поверхности оказался полезным для выделения субпопуляций опухолевых стволовых клеток (ОСК) яичников, включая CD133+ [23, 24], CD133+ ALDH+ [25], CD44+ CD117+ [7], ErCAM [26].

ErCAM, кальций-независимая гомофильная молекула адгезии эпителиальных клеток, является трансмембранным гликопротеином I типа, экспрессирующимся частью субпопуляций клеток нормального эпителия и многочисленными стволовыми клетками, в том числе стволовыми опухолевыми клетками при карциноме яичника [11, 27]. *In vivo* показано, что ErCAM-позитивные опухолевые клетки, изолированные от остальной клеточной популяции карциномы яичника, обладают большим туморогенным потенциалом в сравнении с ErCAM-негативными опухолевыми клетками [28].

CD133 является гликозилированным трансмембранным белком, кодируемым геном *PROM1*, физиологическая функция которого на сегодняшний день не является в полной мере изученной. Однако показано, что данный рецептор активно участвует в процессах модулирования распространения и развития лекарственной устойчивости опухоли. CD133 является одним из наиболее изученных маркеров стволовых опухолевых клеток рака яичника, карцином кишки, предстательной железы, легких [3]. Y.J. Lee и соавт. (2016) продемонстрировали корреляцию экспрессии CD133 со степенью дифференцировки опухоли. Средний балл экспрессии CD133 в опухолях III степени злокачественности (High-grade)

был значительно выше, чем в опухолях I степени (low-grade) [5].

ALDH1 входит в семейство ферментов, катализирующих окисление альдегидов до карбоновых кислот. Метаболическая активность данного фермента обнаружена методом ALDEFLUOR при идентификации стволовых опухолевых клеток в ряде опухолей солидного строения. Высокая экспрессия ALDH1 в значительной степени связана с плохими клиническими исходами у пациентов с серозным раком яичников. В настоящее время ALDH используется в качестве маркера опухолевых стволовых клеток при раке яичника [12, 13].

CD44 функционирует как рецептор гиалуроновой кислоты и многих других компонентов внеклеточного матрикса, ответствен за процессы межклеточных взаимодействий, адгезию и клеточную миграцию. Накопленные данные свидетельствуют о том, что CD44, особенно изоформы CD44v, являются маркерами стволовых клеток при различных опухолях, включая карциномы яичника, а также играют важную роль в регуляции стволовых свойств, включая самообновление, инициацию опухоли, метастазирование и химиолучевую устойчивость. Кроме того, имеется достаточно доказательств того, что экспрессия CD44, особенно изоформа CD44v, коррелирует с низкой выживаемостью пациентов. Это достоверно является неблагоприятным прогностическим маркером. В свою очередь, изоформа CD44v может оказаться перспективной мишенью для таргетной терапии [4, 5].

CD24 является лигандом Р-селектина, рецептора адгезии на активированных эндотелиальных клетках. Часто коэкспрессируется в стволовых CD44 и CD133-позитивных клетках карцином яичника. Опухолевые клетки, экспрессирующие CD24, обладают более высоким метастатическим потенциалом в сравнении с CD24-негативными популяциями клеток. Важной ролью CD24 является индукция EMT, приводящего к формированию высокопролиферативного мезенхимального фенотипа опухолевых клеток, а также развитию лекарственной устойчивости опухоли посредством активации PI3K/Akt, NF-κB и ERK сигнальных каскадов [29].

Недавние исследования асцитической жидкости больных раком яичника методом многоцветной проточной цитометрии показали, что клеточный состав асцитической жидкости представляет собой гетерогенную популяцию. Большую концентрацию асцитических опухолевых клеток представляют собой атипичные/гибридные формы клеток с признаком стволовости, а также стволовые опухолевые клетки ErCAM+CD45-CD44+CD24+CD133+/- как с признаком EMT, так и без него [30]. Кроме это-

го, нами было выявлено, что количество опухолевых клеток в асцитической жидкости с фенотипами Epcam+CD45-CD44-CD24+CD133-Ncadherin+ и Epcam+CD45-CD44-CD24+CD133+Ncadherin+, а также количество атипичных/гибридных форм Epcam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/-клеток имеют положительную корреляционную связь с индексом канцероматоза [31]. Следует отметить, что данные клетки являются CD24-положительными.

MyD88 – это цитозольный адаптерный белок, содержащий домен TIR, участвующий в передаче сигнала от Toll-like-рецепторов. Активация TLR4/MyD88/NF-κB сигнального пути усиливает агрессивный фенотип опухоли и ухудшает клинический исход у больных эпителиальным раком яичников. Экспрессия данного белка часто обнаруживается в стволовых опухолевых клетках [8–10].

CD177 – это рецептор тиразинкиназы III типа, активирует процессы фосфорилирования, инициируя процессы транскрипции в различных типах клеток. Участвует в регуляции процесса апоптоза, дифференцировки, пролиферации, хемотаксисе и клеточной адгезии. Широко экспрессируется в гемопоэтических стволовых клетках, миелоидных клетках-предшественниках, про-B-клетках, прогениторных клетках, а также в опухолевых стволовых клетках [7].

CXCR4 является хемокиновым рецептором. Опосредует хемотаксис клеток в ответ на связывание хемокина CXCL12. Используется в качестве одного из маркеров опухолевых стволовых клеток рака яичника. Предполагается, что CXCR4 связан с индукцией процесса метастазирования рака яичников, а также плохой общей выживаемостью пациентов [14–16].

NANOG, как фактор транскрипции, является одним из наиболее важных маркеров, используемых для идентификации ОСК. Сообщается, что мРНК NANOG была обнаружена в плюрипотентных стволовых клетках мыши и человека, но не в дифференцированных клетках (Chambers и соавт., 2003). Известно, что экспрессия NANOG статистически выше в опухолевых стволовых клетках, в сравнении с опухолевыми клетками, не обладающими признаками стволовости. NANOG ответствен за процессы морфофункциональной пластичности и самообновление эмбриональных стволовых клеток посредством взаимодействия с другими факторами транскрипции, такими как SOX-2 и Oct-4. Эти гены прикрепляются к элементам octamer/sox в промоторной области NANOG, что приводит к активации транскрипции Nanog (Rodda и соавт., 2005). Установлено, что NANOG поддерживает характеристики

ОСК посредством активации различных сигнальных путей, включая TGIF-β, Wnt/β-catenin, JAK/STAT, Notch и Hedgehog (Alemohammad и соавт., 2020). Гиперэкспрессия NANOG обнаружена в опухолях из эмбриональных клеток, что коррелирует с клеточной пролиферацией, рецидивом опухоли, клональным опухолевым ростом, онкогенностью, инвазивностью и резистентностью к таким видам лечения, как химиотерапия и лучевая терапия [17–19].

SOX2 является членом семейства факторов транскрипции SOXB1, и его три основных домена представляют собой N-концевой домен, домен группы высокой подвижности (HMG) и домен трансактивации. SOX2 является важным маркером ОСК. Отмечено, что SOX2 сверхэкспрессируется в сфероидов, а также клетках последующих генераций опухолевых клеток сфероидов. Экспрессия SOX2 тесно связана с химиорезистентностью и плохим прогнозом у пациентов с РЯ [20, 21].

Транскрипционный фактор Oct4 экспрессируется в эмбриональных стволовых клетках, а также в стволовых клетках рака яичников [22].

Благодаря анализу ключевых генов, связанных со стволовостью в субпопуляциях опухолевых стволовых клеток, были найдены новые перспективные маркеры, тесно связанные с развитием карциномы яичника: LCP2, FCGR3A, COL1A1, COL1A2, MTCYB, CCT5 и PAPPA [32].

РЕГУЛЯЦИЯ СТВОЛОВЫХ СВОЙСТВ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКА

В настоящее время описано множество механизмов регуляции стволовых свойств клеток карциномы яичника. S. Bai и соавт. (2021) показали, что лиганд 6, подобный эпидермальному фактору роста (EGFL6), который действует как регуляторный фактор стволовых клеток, способствует асимметричному делению ALDH-положительных стволовых клеток рака яичников и тем самым увеличивает пролиферацию опухолевых клеток *in vitro* и рост опухоли *in vivo* [33]. Фактор EIF5A2 положительно регулирует стволовость клеток рака яичников через путь E2F1/KLF4 [34]. Сигнальный путь L1CAM/FGFR1/SRC/STAT3 рассматривается как новый драйвер стволовости при раке яичника. Показано, что L1CAM потенцирует некоторые свойства, связанные со стволовостью, в клетках рака яичника, включая образование сфероидов и инициацию опухоли *in vivo* [35]. FOXK2-управляемая активация IRE1α приводит к альтернативному сплайсингу XBP1 и активации путей стволовости SOX2, OCT4, NANOG и ALDH1A1 [36].

Интересно, что фенотип ОСК регулируется и опухолевым микроокружением. Так, показано, что

повышенный уровень NF- κ B сигналинга приводит к усилению активности Wnt-сигнального пути. Это, в свою очередь, приводит к дедифференцировке опухолевых клеток, не имеющих стволового фенотипа, с последующей их трансформацией в клетки, обладающие чертами стволовости [37]. В гетеросфероидях, включающих поляризованные CD206⁺ M2 макрофаги, отмечается повышенная активность альдегиддегидрогеназы (ALDH), что подразумевает взаимодействие опухолевых стволовых клеток с макрофагами, способствующее активации опухолевых клеток, а также самообновлению пула ОСК [38].

Факторы, секретируемые клетками микроокружения, могут способствовать приобретению опухолевыми клетками, не имеющими признаков стволовости, черт им характерным, например KIT лиганд и R-спондин как лиганды для CD117 [39] и LGR5 [40], соответственно.

ОТДЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ СО СТВОЛОВЫМИ СВОЙСТВАМИ В СОСТАВЕ АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

Исследование С.О. Генинг и соавт. (2021), в котором изучались популяции стволовых клеток в асците, показало, что 95,5% стволовых клеток имеют фенотип CD44⁺/CD133⁻ и 4,5% – CD44⁻/CD133⁺. Популяция CD44⁺/CD133⁺ клеток являлась минорной и составляла около 0,2% [41]. В работе других авторов клетки асцита с высоким уровнем экспрессии CD44 и CD133, полученные от больных раком яичников, обладали большим потенциалом к самообновлению и длительной пролиферации [42–45].

Коэкспрессия CD133 и CD44, а также экспрессия каждого маркера по отдельности была самой высокой в опухолевых клетках, входящих в состав асцитической жидкости первичного рака яичника человека. Кроме того, экспрессия CD97, CD104, CD107a, CD121a и CD307c была значительно более выраженной и распространенной в опухолевых клетках злокачественного асцита, имеющих фенотип CD133⁺CD44⁺, чем в клетках первичной опухоли или метастатических опухолях яичников [5]. В исследованиях М. Jäger и соавт. (2012) двойное окрашивание клеток асцита в образцах, полученных методом цитоспин, выявило наличие CD133⁺/EpCAM⁺ клеток у 100% исследуемых пациентов [46].

Экспрессировать маркеры стволовости могут не только классические опухолевые клетки, но и гибридные, также обнаруживаемые в асцитической жидкости. Их наличие характерно для карциномы яичника. В работе М.З. Akhter и соавт. (2018) говорится, что вся популяция EpCAM⁺CD45⁺ является высокоинвазивной и состоит из субпопуляций стволовых кле-

ток рака яичников (CD133⁺ и CD117⁺CD44⁺) [47]. Другим поразительным выводом данного исследования является то, что фенотипы ОСК в первую очередь ограничены компартментом EpCAM⁺CD45⁺. Это не позволяет отрицать существующую гипотезу о том, что ОСК возникают вследствие нарушения регуляции тканеспецифических стволовых клеток [48].

Похожие результаты получены в исследованиях Е.В. Кайгородовой и соавт. (2020), выявившие большую гетерогенность EpCAM⁺ клеток в асцитической жидкости больных раком яичником, большую концентрацию которых представляли собой атипичные/гибридные формы EpCAM⁺CD45⁺ клетки с признаком стволовости [30, 49]. Кроме того, показана положительная корреляционная связь между количеством EpCAM⁺CD45⁺ клеток с признаками стволовости в асцитической жидкости и индексом распространенности канцероматоза у больных раком яичников [31]. Также выявлено, что количество атипичных/гибридных EpCAM⁺CD45⁺ клеток в асцитической жидкости у больных с пограничными опухолями яичников значимо ниже, чем у больных с серозными карциномами яичников ($p = 0,02$) [50]. В обзоре Е.В. Кайгородовой и соавт. (2022) предложены теории образования гибридных опухолевых клеток, их разновидности и характеристики, показана роль SAML (атипичных гибридных опухолевых клеток, похожих на макрофаги) и СНС (циркулирующих гибридных клеток) как биомаркеров опухолевых заболеваний [51].

Наиболее полное и комплексное исследование клеток асцитической жидкости у больных раком яичника проведено В. Izar и соавт. (2020) [52]. Всесторонне характеризуя экосистему асцита при HGSO (низкодифференцированных серозных карциномах яичника), авторами проведено РНК-секвенирование (scRNA-seq) отдельных клеток (примерно 11 тыс. клеток) из 22 образцов асцита 11 пациентов РЯ. Было аннотировано 18 различных клеточных кластеров, охватывающих эпителиальные клетки (пять кластеров, маркируемые EPCAM, цитокератинами, калликреинами), макрофаги (четыре кластера, маркируемые CD14, AIF1, CSF1R, CD163), опухоль-ассоциированные фибробласты (CAFs) (четыре кластера, маркируемые PDPN, DCN и THY1), дендритные клетки (два кластера, маркируемые CD1C, CD1E, CCR7, CD83), В-клетки (CD19, CD79A/B), Т-клетки (CD2, CD3D/E/G) и эритроциты (GATA1, гемоглобин). Среди пяти опухолевых кластеров проведено определение сигнальных путей, которые различаются в злокачественных клетках каждого пациента. Один кластер клеток содержал ярко выраженные маркеры стволовых (ALDH1A3 и CD133/

PROM1) и мезенхимальных (FN1, ACTA2 и MYL9) клеток, а также AXL и его единственного известного лиганда GAS6, который связан с лекарственной устойчивостью [53].

КОМПЛЕКСЫ КЛЕТОК СО СТВОЛОВЫМИ СВОЙСТВАМИ В СОСТАВЕ АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

В литературе встречается немного информации об изучении стволовых свойств отдельных клеток. Наряду с этим широко описываются комплексы клеток, обнаруживаемых в асците, которые также имеют признаки стволовости. Действительно, среди клеточного компонента злокачественного асцита при РЯ принято выделять одиночные опухолевые клетки, клеточные агрегаты и клеточные сфероиды [54].

Более того, образование истинных сфероидов рассматривают как признак стволовости. Процесс сфероидообразования легко наблюдать при культивировании клеток *in vitro*. У пациентов же не всегда возможно установить, образовались ли они из одной отделившейся клетки вследствие ее пролиферации, образовались за счет агрегации отдельных клеток или же произошло «отшнуровывание» комплексов клеток от первичной опухоли.

S.A. Varat и соавт. (2005) выделили два опухолевых клон (A2 и A4-T) CD44⁺ стволово-подобных клеток рака яичников, способных к образованию сфероидов в асцитической жидкости. При дальнейшем культивировании данных клеточных линий NESTIN и NANOG активно экспрессировались в моно слоях A2 и A4-T, при этом было отмечено снижение уровня экспрессии в сфероидах, сформированных клетками данных линий. Описанное явление предоставило авторам основания считать, что образование сфероидов само по себе представляет событие дифференцировки. Кроме того, в сфероидах показана экспрессия маркеров, которые могут указывать на дифференцировку в покровный эпителий яичников (цитокератин 18 и виментин), гранулезу (цитокератин 18 и E-кадгерин) или герминальные клетки (щелочная фосфатаза и др.). Дифференцировка в герминальные клетки была аберрантной [55].

В отличие от результатов, полученных при изучении CD44⁺/CD24⁻ стволовых клеток рака молочной железы, данные H. Jiang и соавт. (2012) показывают, что в асците трансформация стволовых опухолевых клеток происходит с формированием опухолевого субклона, называемого SP-клетками (side population cells). Данная клеточная популяция является более дифференцированной и иммунофенотипически не соответствует клеткам первичного рака (не SP-клетки), что, вероятно, связано с процессом эпителиаль-

но-мезенхимального перехода [27]. Кроме того, авторы показали, что отсортированные SP-клетки рака яичников демонстрируют более низкий инвазивный потенциал. В отличие от них, не-SP клетки рака яичников, предположительно, обладают более высокими миграционными и инвазивными свойствами. Авторами высказано обоснованное предположение, что стволовые SP-клетки могут быть ответственны за процессы взаимодействия опухоли и опухолевого микроокружения, что в том числе определяется их «боковой/раевой» локализацией в опухолевом очаге [28].

Остается ряд вопросов, в том числе одинаков ли метастатический потенциал у единичных клеток и сфероидов?

МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ СФЕРОИДОВ В АСЦИТЕ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

Одна из гипотез предполагает, что многоклеточные сфероиды возникают из одиночных клеток, агрегирующихся в брюшной полости [56]. Можно предположить, что не все клетки имеют возможность агрегировать и, возможно, агрегируют лишь клетки с определенными свойствами. Например, известно, что экспрессия CD44 через гомофильные взаимодействия опосредует агрегацию опухолевых клеток и поликлональное метастазирование в моделях рака молочной железы, полученных от пациентов [57]. E-кадгерин, как молекула межклеточной адгезии, по-видимому, играет решающую роль в формировании сфероидов. Действительно, более высокая экспрессия E-кадгерина, как правило, была ассоциирована с более плотными и компактными сфероидами [58]. Показано, что MUC16 и β 1-интегрин также вовлечены в формирование сфероидов [59]. Роль эндогенного FN1 в процессе метастазирования ранее была продемонстрирована на экспериментальных моделях рака яичников. Используемая модель *in vitro*, H.A. Kenny и соавт. [60] и M.P. Iwanicki и соавт. [61], показала, что FN1, либо секретируемый мезотелиальными клетками, либо самими клетками РЯ, необходим для того, чтобы позволить трехмерным структурам, образованным опухолевыми клетками яичников, выжить в отсутствие закрепления и в неподходящей метаболической среде.

Альтернативный механизм сфероидообразования, рассматриваемый в исследовании ряда авторов, заключается в том, что клетки отделяются от первичной опухоли целыми группами (пластами клеток), впоследствии образуя сфероиды [62–64]. Авторы сообщают, что сфероиды преимущественно формируются в результате многоклеточной отслой-

ки от первичной опухоли и ответственны за развитие перитонеального канцероматоза. Кроме того, показано, что отделяющиеся сфероиды после имплантации и пролиферации опухолевых клеток формируют морфологические структуры, соответствующие или близкие паттернам, первичной опухоли, при этом обладая иммунофенотипической гетерогенностью.

Доля опухолевых клеток в сфероидах плохо изучена. Действительно, сфероиды асцита пациентов обычно описываются как гетерогенные клеточные комплексы, состоящие из небольшого количества опухолевых клеток и различных типов неопухолевых клеток [65–68]. Кроме того, доля раковых клеток во всем асците варьирует у разных пациентов и, как сообщается, составляет от 1% [69] до примерно 8% [52] от общего количества клеточного компонента злокачественного асцита.

Роль фибробластов и макрофагов в формировании опухолевых сфероидов достаточно подробно

описана в обзоре М. Rakina и соавт., в котором также обсуждены специфические функции фибробластов, макрофагов и Т-клеток в распространении и имплантации опухоли по брюшине [70].

На рис. 1 мы представили собственную схему формирования опухолевых сфероидов, входящих в состав злокачественного асцита при раке яичника. Исходя из данных литературы и собственных исследований, можно предположить два основных механизма формирования опухолевых сфероидов. Первый обусловлен пролиферацией одиночных стволовых клеток с последующим образованием сферической структуры. Второй механизм предполагает отрыв клеточного пласта от первичной опухоли, несущий в своем составе стволовые клетки. Впоследствии к сфероиду присоединяются опухолевые фибробласты, M2-макрофаги, а также происходит адгезия к сформировавшейся структуре нестволовых клеток с последующей диссеминацией по брюшной полости.

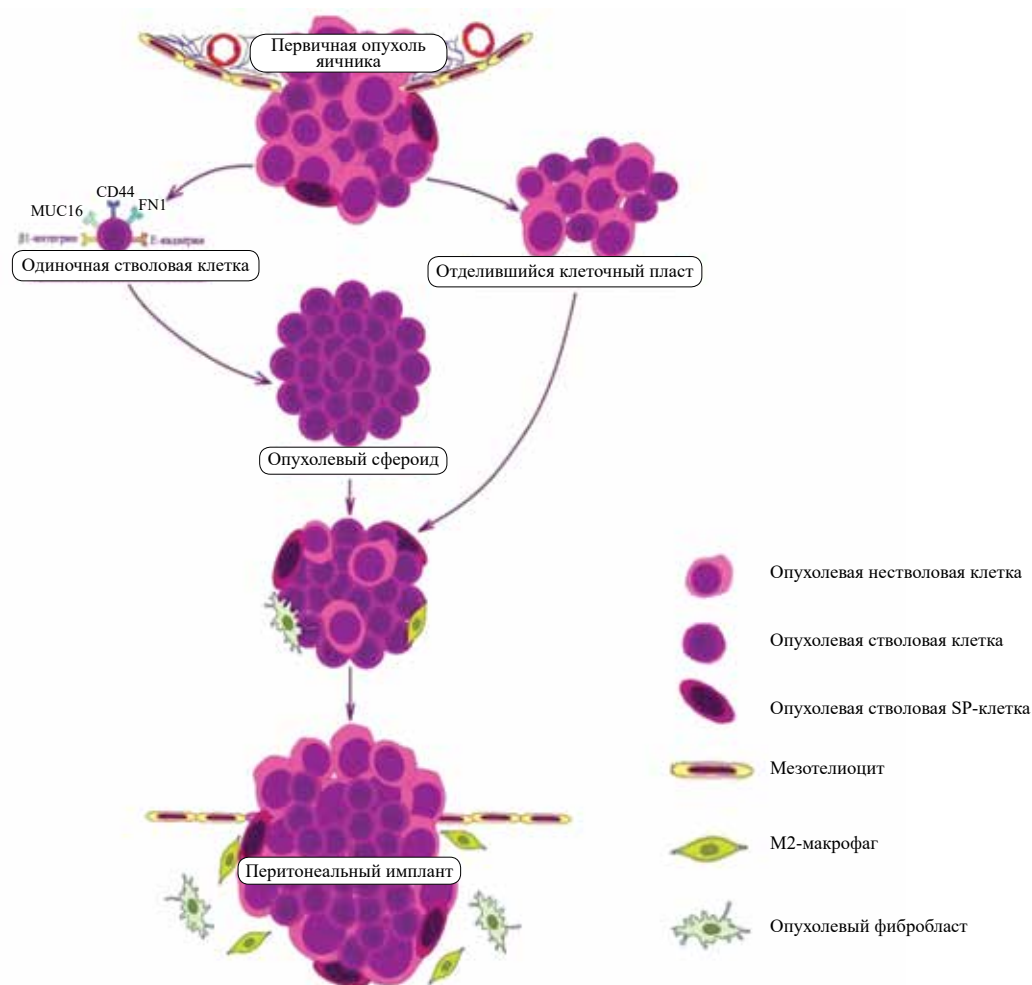


Рис. 1. Современные представления о формировании опухолевых сфероидов, входящих в состав злокачественного асцита при раке яичника

ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК РАКА ЯИЧНИКА, СТРАТЕГИИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Опухолевые стволовые клетки характеризуются свойством экскретировать цитотоксические вещества из своей цитоплазмы, по этому признаку возможно провести их идентификацию. Это свойство было использовано при изолировании ОСК методом разделения клеток с помощью флуоресценции (FACS). В экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo* клетки инкубировали с красителем и разделяли на различные фракции с помощью FACS на основе их способности удерживать краситель. Показано, что клетки, выделявшие большую часть красителя, обладали более выраженными признаками стволовости в сравнении с остальными клетками. Этот метод был впервые использован для выделения опухоль-инициирующих клеток при остром миелоидном лейкозе [71]. Описана устойчивость к цисплатину, топотекану и доцетакселу опухолевых клеток, формирующих сфероиды [72].

Довольно перспективным подходом к терапии рака яичника может являться стимуляция дифференцировки ОСК. Химиотерапевтические режимы, направленные на ОСК, могут оказаться неэффективными, поскольку возможность пролиферации и дедифференцировки дочерних ОСК может заместить популяцию уничтоженных, чувствительных к терапии ОСК. На сегодняшний день существуют разработанные подходы «дифференцирующей» терапии, например, с использованием транс-ретиноевой кислоты при лечении острого промиелоцитарного лейкоза [73]. Аналогичные стратегии с использованием костных морфогенетических белков оказались эффективны в экспериментальной терапии глиом, приводя к уменьшению количества опухолевых стволовых клеток [74].

Существуют исследования на мышинных моделях, где лечение фасудилом латеральной остеосаркомы, вызванной подсадкой клеточной линии с ингибированным геном *c-Myc* (остеосаркома-имитирующие клетки), привело к дедифференцировке части стволовых опухолевых клеток, обладающих способностью к трилинейной дифференцировке (в остециты, хондроциты и адипоциты). Часть резистентных опухолевых клеток со стволовыми свойствами трансформировалась под действием терапии в адипоциты, тем самым усилив опухолевый патоморфоз [75]. В современной литературе нет данных о дифференцирующих агентах для стволовых клеток рака яичника, но показано, что ингибирующее вещество MIS или его миметик SP600125 таргетно подавляют

CD44+CD24+EpCAM+ ОСК в клеточных линиях рака яичника, полученных из клеток асцита [27].

Точкой воздействия для системной терапии рака яичника, нацеленной на подавление стволовых свойств, могут являться различные сигнальные пути, регулирующие стволовость. Так, например, группой исследователей *in vitro* был продемонстрирован один из механизмов развития химиорезистентности сфероидов, полученных из культуры опухолевых клеток при злокачественном асците, заключающийся в переходе данных клеточных структур в состояние «покоя» (переход клеток в фазу G0 клеточного цикла) путем снижением синтеза В-протеинкиназы вследствие ингибирования гена *AKT* (alpha serine/threonine-protein kinase), что приводило к повышению экспрессии p130/RBL2 и p27Kip1 и снижению уровня SKP2. Впоследствии было показано, что после адгезии сфероида на «оптимальной» для имплантации поверхности происходит активация АКТ-сигнального пути, тем самым запуская процесс инвазии и пролиферации опухолевых клеток [76]. В настоящее время два ингибитора АКТ, капивасертиб и ипатасертиб, проходят клинические испытания III фазы для лечения рака [77].

Стратегия, основанная на разрушении или предотвращении образования сфероидов, также выглядит довольно привлекательной. Ингибирование еще одного известного сигнального пути Hedgehog с помощью циклопамина приводило к индукции 10-кратного снижения образования сфероидов в клеточных линиях рака яичников [78]. Известно, что нектин-4 пептид 10 (N4-P10) приводит к быстрому нарушению сфероидообразования рака яичников [78]. В исследовании S. Rafehi и соавт. показано, что образование сфероидов из клеток, выделенных из асцита больных раком яичника, нарушалось под воздействием SB-431542. Это делало клетки восприимчивыми к карбоплатин-индуцированной клеточной гибели [79].

Еще одной возможной точкой приложения терапии может являться взаимодействие опухолевых и неопухолевых клеток в составе сфероидов. Паракринная активация WNT во время взаимодействия ОСК и M2 макрофагов представляет собой петлю положительной обратной связи, которая, вероятно, способствует формированию более агрессивного фенотипа опухолевых клеток [38], что делает путь WNT потенциальной мишенью для подавления ОСК. Кроме того, исследования показали, что катумаксмаб уничтожает CD133+/EpCAM+ ОСК путем активации Т-клеток в асците в случаях распространенного рака яичников [80].

На рис. 2 мы схематично представлено несколько стратегий преодоления химиорезистентности опухолевых стволовых клеток при раке яичников.



Рис. 2. Стратегии преодоления химиорезистентности опухолевых стволовых клеток при раке яичников

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создание будущих стратегий лечения рака яичников будет опираться на изучение сигнальных путей в стволовых клетках рака яичников, механизмов образования сфероидов, а также вкладе иммунных клеток в приобретение стволовых свойств клетками опухоли. Стоит также подчеркнуть возможность интеграции использования прогностических биомаркеров, основанных на определении опухолевых стволовых клеток, в существующие подходы для прогнозирования исходов рака яичника для индивидуализации химиотерапии текущими схемами лечения.

Учитывая, что опухолевые стволовые клетки могут опосредовать химиорезистентность рака яичника, оценка стволовых свойств опухолевых клеток в асците позволит оперативно предсказывать эффективность существующей терапии у больных. Однако главной трудностью остается идентификация опухолевых стволовых клеток. Многочисленные исследования показывают, что субпопуляции клеток рака яичников экспрессируют маркеры стволовости на очень разных уровнях в различных комбинациях и ни один из этих маркеров не является обязательным. Эти данные подтверждают феномен опухолевой пластичности, который стал изучаться совсем недавно, и требуют дальнейших исследований в клинической практике.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Motoshara T., Masuda K., Morotti M., Zheng Y., El-Sahhar S., Chong K.Y. et al. An evolving story of the metastatic voyage of ovarian cancer cells: Cellular and molecular orchestration of the adipose-rich metastatic microenvironment. *Oncogene*. 2019;38(16):2885–2898. DOI: 10.1038/s41388-018-0637-x.
2. Ahmed N., Abubaker K., Findlay J.K. Ovarian cancer stem cells: Molecular concepts and relevance as therapeutic targets. *Mol. Asp. Med.* 2014;39:110–125. DOI: 10.1016/j.mam.2013.06.002.
3. Horst D., Kriegl L., Engel J., Kirchner T., Jung A. Prognostic significance of the cancer stem cell markers CD133, CD44, and CD166 in colorectal cancer. *Cancer Investigation*. 2009;27(8):844–850. DOI: 10.1080/07357900902744502.
4. Yan Y., Zuo X., Wei D. Concise Review: Emerging Role of CD44 in Cancer Stem Cells: A Promising Biomarker and Therapeutic Target. *Stem Cells Translational Medicine*. 2015;4(9):1033–1043. DOI: 10.5966/sctm.2015-0048.
5. Lee Y.J., Wu C.C., Li J.W., Ou C.C., Hsu S.C., Tseng H.H. et al. A rational approach for cancer stem-like cell isolation and characterization using CD44 and prominin-1 (CD133) as selection markers. *Oncotarget*. 2016;7(48):78499–78515. DOI: 10.18632/oncotarget.12100.
6. Gao M.Q., Choi Y.P., Kang S., Youn J.H., Cho N.H. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene*. 2010;29(18):2672–2680. DOI: 10.1038/ncr.2010.35.
7. Zhang S., Balch C., Chan M.W., Lai H.C., Matei D., Schilder J.M. et al. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res.* 2008;68(11):4311–4320. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0364.
8. Li Z., Block M.S., Vierkant R.A., Fogarty Z.C., Winham S.J., Visscher D.W. et al. The inflammatory microenvironment in epithelial ovarian cancer: a role for TLR4 and MyD88 and related proteins. *Tumour Biology: the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2016;37(10):13279–13286. DOI: 10.1007/s13277-016-5163-2.
9. Burns K., Clatworthy J., Martin L., Martinon F., Plumpton C., Maschera B. et al. Tollip, a new component of the IL-1RI pathway, links IRAK to the IL-1 receptor. *Nature Cell Biology*. 2000;2(6):346–351. DOI: 10.1038/35014038.
10. López J., Valdez-Morales F.J., Benítez-Bribiesca L., Cerbón M., Carrancá A.G. Normal and cancer stem cells of the human female reproductive system. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2013;11:53. DOI: 10.1186/1477-7827-11-53.
11. Spizzo G., Went P., Dirnhofer S., Obrist P., Moch H., Baeuerle P.A. et al. Overexpression of epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) is an independent prognostic marker for reduced survival of patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 2006;103(2):483–488. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.03.035.
12. Chang B., Liu G., Xue F., Rosen D.G., Xiao L., Wang X. et al. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Modern Pathology: an Official Journal of the United States and Canadian Academy of*

- Pathology*. 2009;22(6):817–823. DOI: 10.1038/modpathol.2009.35.
13. Deng S., Yang X., Lassus H., Liang S., Kaur S., Ye Q. et al. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One*. 2010;5(4):e10277. DOI: 10.1371/journal.pone.0010277.
 14. Cioffi M., D'Alterio C., Camerlingo R., Tirino V., Consales C., Riccio A. et al. Identification of a distinct population of CD133(+)CXCR4(+) cancer stem cells in ovarian cancer. *Sci. Report*. 2015;5:10357. DOI: 10.1038/srep10357.
 15. Kajiyama H., Shibata K., Terauchi M., Ino K., Nawa A., Kikkawa F. Involvement of SDF-1alpha/CXCR4 axis in the enhanced peritoneal metastasis of epithelial ovarian carcinoma. *International Journal of Cancer*. 2008;122(1):91–99. DOI: 10.1002/ijc.23083.
 16. Krohn A., Song Y.H., Muehlberg F., Droll L., Beckmann C., Alt E. CXCR4 receptor positive spheroid forming cells are responsible for tumor invasion *in vitro*. *Cancer Letters*. 2009;280(1):65–71. DOI: 10.1016/j.canlet.2009.02.005.
 17. Rodda D.J., Chew J.L., Lim L.H., Loh Y.H., Wang B., Ng H.H. et al. Transcriptional regulation of nanog by OCT4 and SOX2. *J. Biol. Chem*. 2005;280(26):247317. DOI: 10.1074/jbc.M502573200.
 18. Alemohammad H., Asadzadeh Z., Motafakker Azad R., Hemmat N., Najafzadeh B., Vasefifar P. et al. Signaling pathways and microRNAs, the orchestrators of NANOG activity during cancer induction. *Life Sci*. 2020;260:118337. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118337.
 19. Lin F.K., Chui Y.L. Generation of induced pluripotent stem cells from mouse cancer cells. *Cancer Biother. Radiopharm*. 2012;27(10):694–700. DOI: 10.1089/cbr.2012.1227.
 20. Kaufhold S., Garbán H., Bonavida B. Yin Yang 1 is associated with cancer stem cell transcription factors (SOX2, OCT4, BMI1) and clinical implication. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2016;35:84. DOI: 10.1186/s13046-016-0359-2.
 21. Stevanovic M., Zuffardi O., Collignon J., Lovell-Badge R., Goodfellow P. The cDNA sequence and chromosomal location of the human SOX2 gene. *Mamm. Genome*. 1994;5(10):640–642. DOI: 10.1007/BF00411460.
 22. Peng S., Maihle N.J., Huang Y. Pluripotency factors Lin28 and Oct4 identify a sub-population of stem cell-like cells in ovarian cancer. *Oncogene*. 2010;29(14):2153–2159. DOI: 10.1038/ncr.2009.500.
 23. Baba T., Convery P.A., Matsumura N., Whitaker R.S., Kondoh E., Perry T. et al. Epigenetic regulation of CD133 and tumorigenicity of CD133+ ovarian cancer cells. *Oncogene*. 2009;28(2):209–218. DOI: 10.1038/ncr.2008.374.
 24. Curley M.D., Therrien V.A., Cummings C.L., Sergeant P.A., Koulouris C.R., Friel A.M. et al. CD133 expression defines a tumor initiating cell population in primary human ovarian cancer. *Stem Cells*. 2009;27(12):2875–2883. DOI: 10.1002/stem.236.
 25. Silva I.A., Bai S., McLean K., Yang K., Griffith K., Thomas D. et al. Aldehyde dehydrogenase in combination with CD133 defines angiogenic ovarian cancer stem cells that portend poor patient survival. *Cancer Res*. 2011;71(11):3991–4001. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3175.
 26. Wei X., Dombkowski D., Meirelles K., Pieretti-Vanmareck R., Szotek P.P., Chang H.L. et al. Mullerian inhibiting substance preferentially inhibits stem/progenitors in human ovarian cancer cell lines compared with chemotherapeutics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2010;107(44):18874–18879. DOI: 10.1073/pnas.1012667107.
 27. Jiang H., Lin X., Liu Y., Gong W., Ma X., Yu Y. et al. Transformation of epithelial ovarian cancer stemlike cells into mesenchymal lineage via EMT results in cellular heterogeneity and supports tumor engraftment. *Mol. Med*. 2012;18(1):1197–1208. DOI: 10.2119/molmed.2012.00075.
 28. Motohara T., Masuko S., Ishimoto T., Yae T., Onishi N., Muraguchi T. et al. Transient depletion of p53 followed by transduction of c-Myc and K-Ras converts ovarian stem-like cells into tumor-initiating cells. *Carcinogenesis*. 2011;32(11):1597–1606. DOI: 10.1093/carcin/bgr183.
 29. Gao M.Q., Choi Y.P., Kang S., Youn J.H., Cho N.H. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene*. 2010;29(18):2672–2680. DOI: 10.1038/ncr.2010.35.
 30. Кайгородова Е.В., Федулова Н.В., Очиров М.О., Дьяков Д.А., Молчанов С.В., Часовских Н.Ю. Различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(1):50–58. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-50-58.
 31. Кайгородова Е.В., Очиров М.О., Молчанов С.В., Рогачев Р.Р., Дьяков Д.Д., Чернышова А.Л. и др. Различные популяции ЕрСам-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(2):44–53. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-44-53.
 32. Wang Z., Yang L., Huang Z., Li X., Xiao J., Qu Y. et al. Identification of prognosis biomarkers for high-grade serous ovarian cancer based on stemness. *Front. Genet*. 2022;13:861954. DOI: 10.3389/fgene.2022.861954.
 33. Bai S., Ingram P., Chen Y.C., Deng N., Pearson A., Niknafs Y.S. et al. EGFL6 regulates the asymmetric division, maintenance, and metastasis of ALDH+ ovarian cancer cells. *Cancer Res*. 2016;76(21):6396–6409. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0225.
 34. Wang K., Wang Y., Wang Y., Liu S., Wang C., Zhang S. et al. EIF5A2 enhances stemness of epithelial ovarian cancer cells via a E2F1/KLF4 axis. *Stem Cell Res. Ther*. 2021;12(1):186. DOI: 10.1186/s13287-021-02256-2.
 35. Giordano M., Decio A., Battistini C., Baronio M., Bianchi F., Villa A. et al. L1CAM promotes ovarian cancer stemness and tumor initiation via FGFR1/SRC/STAT3 signaling. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2021;40(1):319. DOI: 10.1186/s13046-021-02117-z.
 36. Zhang Y., Wang Y., Zhao G., Tanner E.J., Adli M., Matei D. FOXK2 promotes ovarian cancer stemness by regulating the unfolded protein response pathway. *J. Clin. Invest*. 2022;132(10):151591. DOI: 10.1172/JCI151591.
 37. Schwitalla S., Fingerle A.A., Cammareri P., Nebelsiek T., Göktuna S.I., Ziegler P.K. et al. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. *Cell*. 2013;152(1-2):25–38. DOI: 10.1016/j.cell.2012.12.012.

38. Raghavan S., Mehta P., Xie Y., Lei Y.L., Mehta G. Ovarian cancer stem cells and macrophages reciprocally interact through the WNT pathway to promote pro-tumoral and malignant phenotypes in 3D engineered microenvironments. *J. Immunother. Cancer*. 2019;7(1):190. DOI: 10.1186/s40425-019-0666-1.
39. Zhang S., Balch C., Chan M.W., Lai H.C., Matei D., Schiller J.M. et al. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res*. 2008;68(11):4311–4320. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0364.
40. Lau W., Peng W.C., Gros P., Clevers H. The R-spondin/Lgr5/Rnf43 module: regulator of Wnt signal strength. *Genes Dev*. 2014;28(4):305–316. DOI: 10.1101/gad.235473.113.
41. Генинг С.О., Абакумова Т.В., Антонеева И.И., Ризванов А.А., Генинг Т.П., Гуфурбаева Д.У. Стволово-подобные опухолевые клетки и провоспалительные цитокины в асцитической жидкости пациенток с раком яичников. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021;66(5):297–303. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-5-297-303.
42. Meirelles K., Benedict L.A., Dombkowski D., Pepin D., Pfeffer F.I., Teixeira J. et al. Human ovarian cancer stem/progenitor cells are stimulated by doxorubicin but inhibited by Mullerian inhibiting substance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(7):2358–2363. DOI: 10.1073/pnas.1120733109.
43. Bourguignon L.Y., Peyrollier K., Xia W., Gilad E. Hyaluronan-CD44 interaction activates stem cell marker Nanog, Stat-3-mediated MDR1 gene expression, and ankyrin-regulated multidrug efflux in breast and ovarian tumor cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008;283(25):17635–17651. DOI: 10.1074/jbc.M800109200.
44. Xia M., Overman M.J., Rashid A., Chatterjee D., Wang H., Katz M.H. et al. Expression and clinical significance of epidermal growth factor receptor and insulin-like growth factor receptor 1 in patients with ampullary adenocarcinoma. *Human Pathology*. 2015;46(9):1315–1322. DOI: 10.1016/j.humpath.2015.05.012.
45. Garson K., Vanderhyden B.C. Epithelial ovarian cancer stem cells: underlying complexity of a simple paradigm. *Reproduction*. 2015;149(2):59–70. DOI: 10.1530/REP-14-0234.
46. Jäger M., Schoberth A., Ruf P., Hess J., Hennig M., Schmalfeldt B. et al. Immunomonitoring results of a phase II/III study of malignant ascites patients treated with the trifunctional antibody catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3). *Cancer Res*. 2012;72(1):24–32. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2235.
47. Akhter M.Z., Sharawat S.K., Kumar V., Kochat V., Equbal Z., Ramakrishnan M. et al. Aggressive serous epithelial ovarian cancer is potentially propagated by EpCAM+CD45+ phenotype. *Oncogene*. 2018;37(16):2089–2103. DOI: 10.1038/s41388-017-0106-y.
48. Wicha M.S., Liu S., Dontu G. Cancer stem cells: an old idea – a paradigm shift. *Cancer Res*. 2006;66(4):1883–1890. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3153.
49. Кайгородова Е.В., Ковалев О.В., Чернышова А.Л., Вторушин С.В., Шпилёва О.В. Гетерогенность EpCAM-положительных клеток в асцитической жидкости low-grade серозной карциномы яичников: клинический случай. *Онкологии женской репродуктивной системы*. 2021;17(4):90–95. DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-4-90-95.
50. Козик А.В., Кайгородова Е.В., Грищенко М.Ю., Вторушин С.В., Чернышова А.Л. EpCAM+CD45+ клетки в асцитической жидкости больных новообразованиями яичников: связь с уровнями онкомаркеров и степенью злокачественности. *Сибирский онкологический журнал*. 2022;21(5):44–51. DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-5-44-51.
51. Kaigorodova E.V., Kozik A.V., Zavaruev I.S. Grishchenko M.Y. Hybrid/atypical forms of circulating tumor cells: current state of the art. *Biochemistry Moscow*. 2022;87(4):380–390. DOI: 10.1134/S0006297922040071.
52. Izar B., Tirosh I., Stover E.H., Wakiro I., Cuoco M.S., Alter I. et al. A single-cell landscape of high-grade serous ovarian cancer. *Nature Medicine*. 2020;26(8):1271–1279. DOI: 10.1038/s41591-020-0926-0.
53. Wu X., Liu X., Koul S., Lee C.Y., Zhang Z., Halmos B. AXL kinase as a novel target for cancer therapy. *Oncotarget*. 2014;5(20):9546–9563. DOI: 10.18632/oncotarget.2542.
54. Shield K., Ackland M.L., Ahmed N., Rice G.E. Multicellular spheroids in ovarian cancer metastases: Biology and pathology. *Gynecologic Oncology*. 2009;113(1):143–148. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.11.032.
55. Bapat S.A., Mali A.M., Koppikar C.B., Kurrey N.K. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*. 2005;65(8):3025–3029. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3931.
56. Shield K., Ackland M.L., Ahmed N., Rice G.E. Multicellular spheroids in ovarian cancer metastases: biology and pathology. *Gynecol. Oncol.* 2009;113(1):143–148. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.11.032.
57. Liu X., Taftat R., Kawaguchi M., Chang Y.F., Chen W., Entenberg D. et al. Homophilic CD44 interactions mediate tumor cell aggregation and polyclonal metastasis in patient-derived breast cancer models. *Cancer Discov*. 2019;9(1):96–113. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0065.
58. Xu S., Yang Y., Dong L., Qiu W., Yang L., Wang X. et al. Construction and characteristics of an E-cadherin-related three-dimensional suspension growth model of ovarian cancer. *Scientific Reports*. 2014;4:5646. DOI: 10.1038/srep05646.
59. Sodek K.L., Ringuette M.J., Brown T.J. Compact spheroid formation by ovarian cancer cells is associated with contractile behavior and an invasive phenotype. *International Journal of Cancer*. 2009;124(9):2060–2070. DOI: 10.1002/ijc.24188.
60. Kenny H.A., Chiang C.Y., White E.A., Schryver E.M., Habis M., Romero I.L. et al. Mesothelial cells promote early ovarian cancer metastasis through fibronectin secretion. *The Journal of Clinical Investigation*. 2014;124(10):4614–4628. DOI: 10.1172/JCI74778.
61. Iwanicki M.P., Chen H.Y., Iavarone C., Zervantonakis I.K., Muranen T., Novak M. et al. Mutant p53 regulates ovarian cancer transformed phenotypes through autocrine matrix deposition. *JCI Insight*. 2016;1(10):e86829. DOI: 10.1172/jci.insight.86829.
62. Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *Am. J. Pathol.* 2010;177(3):1053–1064. DOI: 10.2353/ajpath.2010.100105.
63. Elloul S., Elstrand M.B., Nesland J.M., Tropé C.G., Kvalheim G., Goldberg I. et al. Snail, slug, and smad-interacting protein 1 as novel parameters of disease aggressive-

- ness in metastatic ovarian and breast carcinoma. *Cancer*. 2005;103(8):1631–1643. DOI: 10.1002/cncr.20946.
64. Veatch A.L., Carson L.F., Ramakrishnan S. Differential expression of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in ascites and solid human ovarian tumor cells. *International Journal of Cancer*. 1994;58(3):393–399. DOI: 10.1002/ijc.2910580315.
 65. Latifi A., Luwor R.B., Bilandzic M., Nazaretian S., Stenvers K., Pyman J. et al. Isolation and characterization of tumor cells from the ascites of ovarian cancer patients: molecular phenotype of chemoresistant ovarian tumors. *PloS One*. 2012;7(10):e46858. DOI: 10.1371/journal.pone.0046858.
 66. Fritz J.L., Collins O., Saxena P., Buensuceso A., Ramos Valdes Y., Francis K.E. et al. A novel role for NUA1 in promoting ovarian cancer metastasis through regulation of fibronectin production in spheroids. *Cancers*. 2020;12(5):1250. DOI: 10.3390/cancers12051250.
 67. Ojasalu K., Brehm C., Hartung K., Nischak M., Finkernagel F., Rexin P. et al. Upregulation of mesothelial genes in ovarian carcinoma cells is associated with an unfavorable clinical outcome and the promotion of cancer cell adhesion. *Molecular Oncology*. 2020;14(9):2142–2162. DOI: 10.1002/1878-0261.12749.
 68. Reinartz S., Lieber S., Pesek J., Brandt D.T., Asafova A., Finkernagel F. et al. Cell type-selective pathways and clinical associations of lysophosphatidic acid biosynthesis and signaling in the ovarian cancer microenvironment. *Molecular Oncology*. 2019;13(2):185–201. DOI: 10.1002/1878-0261.12396.
 69. Kipps E., Tan D.S., Kaye S.B. Meeting the challenge of ascites in ovarian cancer: new avenues for therapy and research. *Nature reviews. Cancer*. 2013;13(4):273–282. DOI: 10.1038/nrc3432.
 70. Rakina M., Kazakova A., Villert A., Kolomiets L., Larionova I. Spheroid formation and peritoneal metastasis in ovarian cancer: the role of stromal and immune components. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(11):6215. DOI: 10.3390/ijms23116215.
 71. Dick J.E., Bhatia M., Gan O., Kapp U., Wang J.C. Assay of human stem cells by repopulation of NOD/SCID mice. *Stem Cells*. 1997;15Suppl.1:199–203;discussion 204–197. DOI: 10.1002/stem.5530150826.
 72. Wang L., Mezencev R., Bowen N.J., Matyunina L.V., McDonald J.F. Isolation and characterization of stem-like cells from a human ovarian cancer cell line. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2012;363(1-2):257–268. DOI: 10.1007/s11010-011-1178-6.
 73. De Thé H. Differentiation therapy revisited. *Nat. Rev. Cancer*. 2018;18(2):117–127 DOI: 10.1038/nrc.2017.103.
 74. Nayak S., Mahenthiran A., Yang Y., McClendon M., Mania-Farnell B., James C.D. et al. Bone morphogenetic protein 4 targeting glioma stem-like cells for malignant glioma treatment: latest advances and implications for clinical application. *Cancers (Basel)*. 2020;12(2):516. DOI: 10.3390/cancers12020516.
 75. Arima Y., Nobusue H., Saya H. Targeting of cancer stem cells by differentiation therapy. *Cancer Sci*. 2020;111(8):2689–2695. DOI: 10.1111/cas.14504.
 76. Correa R.J., Peart T., Valdes Y.R., DiMattia G.E., Shepherd T.G. Modulation of AKT activity is associated with reversible dormancy in ascites-derived epithelial ovarian cancer spheroids. *Carcinogenesis*. 2012;33(1):49–58. DOI: 10.1093/carcin/bgr241.
 77. Hua H., Zhang H., Chen J., Wang J., Liu J., Jiang Y. Targeting Akt in cancer for precision therapy. *Journal of Hematology & Oncology*. 2021;4(1):128. DOI: 10.1186/s13045-021-01137-8.
 78. Emami K.H., Nguyen C., Ma H., Kim D.H., Jeong K.W., Eguchi M. et al. A small molecule inhibitor of beta-catenin/CREB-binding protein transcription [corrected]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(34):12682–12687. DOI: 10.1073/pnas.0404875101.
 79. Rafahi S., Ramos Valdes Y., Bertrand M., McGee J., Préfontaine M., Sugimoto A. et al. TGFβ signaling regulates epithelial-mesenchymal plasticity in ovarian cancer ascites-derived spheroids. *Endocrine-Related Cancer*. 2016;23(3):147–159. DOI: 10.1530/ERC-15-0383.
 80. Jäger M., Schoberth A., Ruf P., Hess J., Hennig M., Schmalfeldt B. et al. Immunomonitoring results of a phase II/III study of malignant ascites patients treated with the trifunctional antibody catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3). *Cancer Research*. 2012;72(1):24–32. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2235.

Информация об авторах

Ковалев Олег Игоревич – аспирант, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, Oleg.kovalev8284@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6826-725X>

Вторушин Сергей Владимирович – руководитель отделения общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; д-р мед. наук, профессор, кафедра патологической анатомии, СибГМУ; г. Томск, wtorushin@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1195-4008>

Кайгородова Евгения Викторовна – д-р мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск, zlobinae@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4378-6915>

(✉) Вторушин Сергей Владимирович, wtorushin@rambler.ru

Поступила в редакцию 08.02.2023;
одобрена после рецензирования 15.02.2023;
принята к публикации 27.02.2023

УДК 616.98:578.834.1]-036.21-06:616.36-002.17-02

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-134-144>

Факторы, влияющие на развитие фиброза печени, у пациентов, перенесших COVID-19

Кручинина М.В.^{1,2}, Першина Н.Е.¹, Светлова И.О.^{1,2}, Кручинина Э.В.²

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)
Россия, 630089, г. Новосибирск, Б. Богаткова 175/1

² Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

РЕЗЮМЕ

Цель обзора – осветить основные факторы, влияющие на развитие фиброза печени, и возможные механизмы повреждения печени у пациентов, перенесших COVID-19. Проведен поиск с использованием ключевых слов в текстовых базах данных Scopus, Web of Science, PubMed по литературным источникам последних 3 лет о факторах, ассоциированных с фиброгенезом, при коронавирусной инфекции.

Представлены основные механизмы повреждения печени при COVID-19: прямое воздействие на гепатоциты, холангиоциты, гипоксическое, иммуноопосредованное, лекарственно-индуцированное повреждение. Проведен анализ значимости факторов развития фиброза у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, включая хронические диффузные заболевания печени, на фоне которых протекает COVID-19: неалкогольная жировая болезнь печени, алкоголь-ассоциированная болезнь печени, хронические вирусные гепатиты В, С, цирроз печени.

Поражение печени при коронавирусной инфекции развивается по нескольким механизмам. Развитие COVID-19 на фоне диффузной патологии печени различного генеза ассоциировано с прогрессированием этих заболеваний (усиление фиброгенеза), худшим прогнозом.

Ключевые слова: факторы, фиброз печени, COVID-19

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках темы госзадания «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» (№ 122031700094-5).

Для цитирования: Кручинина М.В., Першина Н.Е., Светлова И.О., Кручинина Э.В. Факторы, влияющие на развитие фиброза печени, у пациентов, перенесших COVID-19. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):134–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-134-144>.

Factors affecting the development of liver fibrosis in patients who experienced COVID-19

Kruchinina M.V.^{1,2}, Pershina N.E.¹, Svetlova I.O.^{1,2}, Kruchinina E.V.²

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

² Novosibirsk State Medical University
52, Krasny Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the review is to highlight the main factors affecting the development of liver fibrosis and possible mechanisms of liver damage in patients who have experienced COVID-19. A search was carried out using keywords in the Scopus, Web of Science, and PubMed databases in literary sources of the last three years on factors associated with fibrogenesis in novel coronavirus infection.

The review presents the main mechanisms of liver damage in COVID-19: direct effects on hepatocytes and cholangiocytes, hypoxia, and immune-mediated and drug-induced damage. We analyzed the significance of factors affecting fibrosis development in patients with COVID-19: chronic diffuse liver diseases, against which COVID-19 occurs, such as non-alcoholic fatty liver disease, alcohol-associated liver disease, chronic hepatitis B, C, and cirrhosis of the liver.

Damage to the liver in coronavirus infection develops by several mechanisms. The development of COVID-19 against the background of diffuse liver pathology of various genesis is associated with progression of these diseases (increased fibrogenesis) and a poorer prognosis.

Keywords: factors, liver fibrosis, COVID-19

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

Source of financing. The study was carried out within the topic of the state assignment “Epidemiological monitoring of the population health and study of molecular genetic and biological mechanisms of development of common internal diseases in Siberia to improve their diagnosis, prevention, and treatment” (No. 122031700094-5).

For citation: Kruchinina M.V., Pershina N.E., Svetlova I.O., Kruchinina E.V. Factors affecting the development of liver fibrosis in patients who experienced COVID-19. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):134–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-134-144>.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, в конце 2019 г. в Китайской Народной Республике произошла вспышка новой коронавирусной инфекции с эпицентром в г. Ухань (провинция Хубэй). Всемирная организация здравоохранения 11.02.2020 определила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом, – COVID-19 (Coronavirus disease 2019) [1]. За несколько месяцев коронавирусная инфекция охватила весь мир и продолжает распространяться. Согласно данным из доступных источников на начало марта 2022 г., известно о 436 520 897 подтвержденных случаях заболевания в мире, из них в России – 16 398 036.

Риску заражения вирусом SARS-CoV-2 подвержены люди всех возрастов и состояния здоровья.

Были определены факторы риска тяжелых заболеваний и смертности. К ним относятся пожилой возраст, сопутствующая хроническая патология, в частности сахарный диабет, рак, ожирение, сердечно-легочные и хронические почечные заболевания, а также особенности проживания (например, жители учреждений длительного ухода за больными) [2].

SARS-CoV-2 представляет оболочечный вирус с одноцепочечной РНК позитивной полярности, относящийся к семейству Coronaviridae, роду *Betacoronavirus*, подроду *Sarbecovirus*. Название связано со строением вируса: из суперкапсида выдаются большие шиповидные отростки в виде булав, которые напоминают корону. Нуклеокапсид представляет собой гибкую спираль, состоящую из геномной плюс-нити РНК и большого количества молекул нуклеопротеина N. В суперкапсид встроены гликопро-

теиновые тримерные шипы (гликопротеин S), мембранный протеин М, малый оболочечный протеин Е, гемагглютининая эстераза (HE) (рис. 1) [1, 3].

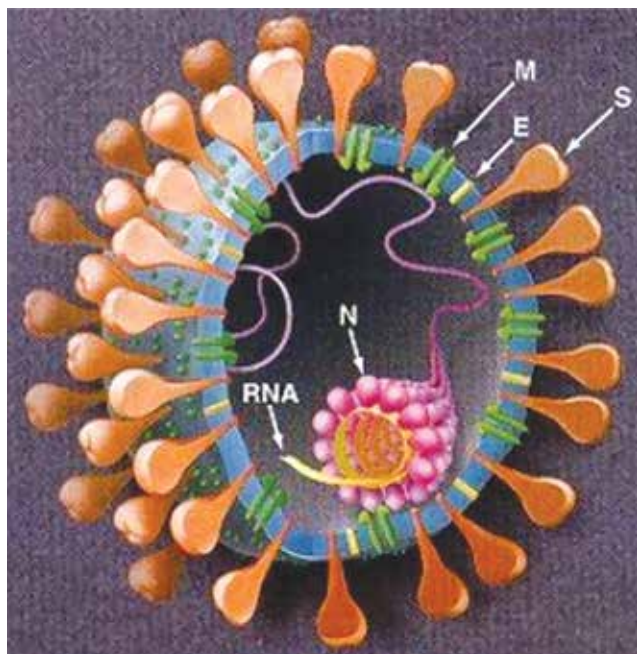


Рис. 1. Модель структуры коронавируса, показывающая расположение шипов (S), гликопротеинов мембраны (M) и оболочки (E). РНК защищена спиральным капсидом из мономеров белка (N) [4]

Входными воротами инфекции являются эпителий верхних дыхательных путей и эпителиоциты желудка и кишечника [1]. В клинической картине наряду с лихорадкой и симптомами острого респираторного заболевания (заложенность носа, боль в горле, сухой кашель, anosmia, миалгии) отмечаются также поражения сердечно-сосудистой системы, нарушения гемостаза, присутствуют проявления поражения желудочно-кишечного тракта (потеря аппетита, рвота, тошнота, диарея) [5].

При оценке течения заболевания у 74 больных с COVID-19, имевших гастроэнтерологические жалобы, было показано, что тяжелые и критические формы инфекции встречались у них достоверно чаще (в 22,97 и 31,08% случаев соответственно), чем у пациентов, у которых эти симптомы отсутствовали (8,14 и 20,45% больных) [6].

Печень – второй по частоте поражения орган при COVID-19 после легких [7]. С увеличением числа случаев и дальнейшими исследованиями продемонстрировано, что биохимические показатели, такие как сывороточная аланин-аминотрансфераза (АЛТ), аспартат-аминотрансфераза (АСТ), гамма-глутамил-трансфераза (ГГТ) и щелочная фосфатаза значительно

повышены у многих пациентов с COVID-19, что свидетельствует о гепатоцеллюлярном и холангиоцеллюлярном повреждении [8].

Хотя печеночная недостаточность, по-видимому, не возникает при отсутствии ранее существовавшего заболевания печени, поражение печени при COVID-19 может коррелировать с общей тяжестью заболевания и служить прогностическим фактором для развития острого респираторного дистресс-синдрома [9].

Цель настоящего обзора – осветить основные факторы, влияющие на развитие фиброза печени, и возможные механизмы повреждения печени у пациентов, перенесших COVID-19.

ПРОЦЕСС ИНВАЗИИ COVID-19

Ключевым фактором вирулентности является взаимодействие рецептор-связывающего домена белка S, расположенного на внешней мембране SARS-CoV-2, с рецептором ангиотензин-превращающего фермента 2 (АПФ2), активируемого трансмембранными сериновыми протеазами (TMPRSS2, Transmembrane protease, serine 2, ТСП 2) человека [10]. Рецептор ACE2 (АПФ2), важная часть ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, является воротами для проникновения SARS-CoV-2 в клетки хозяина. Ангиотензин-превращающий фермент 2 располагается в цитоплазматической мембране многих типов клеток человека, в том числе в альвеолярных клетках II типа в легких и энтероцитах тонкого кишечника, эндотелиальных клетках артерий и вен, клетках гладкой мускулатуры артерий, макрофагов. Также АПФ2 и ТСП2 обнаружены в клетках тканей органов дыхания, пищевода, кишечника, сердца, надпочечников, мочевого пузыря, головного мозга и других [1].

Так как основным путем передачи является воздушно-капельный, чаще всего поражаются дыхательные пути. Поэтому при большом количестве репликаций вируса SARS-CoV-2 и накоплении различных провоспалительных цитокинов и хемокинов альвеолярные эпителиальные клетки повреждаются и целостность воздушно-кровяного барьера нарушается. Вирус диффундирует из поврежденных альвеол в капилляры и распространяется в органы и ткани [11]. Так как печень имеет двойной и обильный кровоток, она легко подвергается воздействию COVID-19. Возможен другой путь попадания SARS-CoV-2 в печень. После проникновения SARS-CoV-2 в кишечный тракт он может повреждать эпителий слизистой оболочки кишечника и сосудистый барьер и через воротную вену попадать в печень. Затем SARS-CoV-2 может попасть в желчь по пути желч-

ных капилляров после того, как вирус инфицирует гепатоциты [8].

МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ COVID-19

В настоящее время рассматривается несколько механизмов повреждающего воздействия новой коронавирусной инфекции на печень, такие как прямое воздействие SARS-CoV-2 на печень (прямая цитотоксичность вследствие активной репликации вируса в клетках печени), иммуноопосредованное повреждение печени в контексте гипервоспалительного синдрома с цитокиновым штормом, гипоксия (связанная с поражением легких), полиорганная недостаточность, использование гепатотоксических лекарственных средств, сосудистые изменения из-за коагулопатии, эндотелита или правожелудочковой сердечной недостаточности, обострение основного заболевания печени, хотя конечная причина, скорее всего, является многофакторной [9].

Поражение печени при COVID-19 проявляется как умеренное повышение в сыворотке крови уровней активности АСТ и АЛТ, сопровождаемое умеренным повышением уровня общего билирубина [10, 12, 13]. Ж.Б. Ибраева и соавт., проанализировав 79 историй болезней пациентов, умерших от коронавирусной инфекции, выяснили, что показатели активности трансаминаз АЛТ и АСТ, превышающих норму в 4 раза, наблюдались у 28 и 16% соответственно. Уровень общего билирубина у 96,0% пациентов оставался в пределах нормы [14].

Прямое воздействие COVID-19 на печень. X. Chai и соавт. обнаружили низкую экспрессию ACE2 в гепатоцитах (2,6%), со средним уровнем экспрессии в 20 раз меньше, чем уровень экспрессии в холангиоцитах [15]. Хотя уровень экспрессии ACE2 в печени очень низок, распределение рецептора ACE2 не соответствует уровню инфицирования органа [8]. Показано, что вирус может напрямую связываться с ACE2-позитивными холангиоцитами, но не обязательно с гепатоцитами [15].

Y. Wang и соавт. провели биопсию печени у двух умерших пациентов с COVID-19 с повышенным уровнем активности трансаминаз. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии, иммуногистохимии и патологоанатомических исследований они обнаружили большое количество частиц вируса SARS-CoV-2 в цитоплазме клеток печени этих пациентов [16]. Авторы предположили, что повреждение печени, вызванное инфекцией SARS-CoV-2, в большей степени ассоциировано с системой желчевыводящих путей, в меньшей степени – с воздействием вируса на ACE2 гепатоцитов. Также

в посмертных биопсиях отмечаются массивный печеночный апоптоз и двуядерные гепатоциты на гистологических препаратах, набухание митохондрий и расширение эндоплазматического ретикулаума при трансмиссионной электронной микроскопии [2]. Эти результаты свидетельствуют, что поражения печени у пациентов с атипичной пневмонией и SARS-CoV-2 могут быть вызваны дисфункцией холангиоцитов и другими причинами, такими как медикаментозное и системное воспалительное повреждение [15].

Гипоксическое повреждение. Печень имеет высокую метаболическую активность и активное кровоснабжение, что делает ее особенно уязвимой к нарушениям кровообращения [17]. Печень достаточно хорошо защищена от ишемического повреждения с помощью двойной системы кровообращения (почти 25% сердечного выброса, который получает печень, распределяется между воротной веной и печеночной артерией), имеет высоко проницаемые синусоиды (позволяют увеличить диффузию кислорода к гепатоцитам), а также способна реагировать на снижение сердечного кровотока путем высвобождения аденозина и расширением печеночного сосудистого русла для увеличения печеночного кровотока [18].

Как известно, COVID-19 чаще поражает легкие, поэтому может вызвать развитие дыхательной недостаточности (ДН). Гипоксемия – главный гемодинамический фактор в развитии гипоксического гепатита при ДН. При ДН отмечается очень низкий уровень парциального давления кислорода. Сердечный выброс и печеночный кровоток при данном состоянии в пределах нормы или даже увеличены [19]. Помимо гипоксии, коронавирусная инфекция может вызывать ряд осложнений, таких как синдром системного воспалительного ответа и полиорганное повреждение, что может привести к реперфузионной дисфункции [19, 20]. Эти два процесса приводят к снижению содержания кислорода и накоплению липидов в гепатоцитах [21], что ведет к гибели клеток. Последующее увеличение количества активных форм кислорода и продуктов их перекисного окисления может действовать как вторичный посредник, дополнительно усиливая высвобождение множества провоспалительных факторов и повреждение печени [17].

Кроме того, имеются данные, что вирус SARS-CoV-2 способен выделять неструктурные белки orf1ab, ORF10 и ORF3a, легко проникающие через клеточную мембрану эритроцита и вытесняющие из порфиринового ядра бета-цепи молекулы гемоглобина атом двухвалентного железа. Один атом железа способен транспортировать четыре молекулы кислорода. Таким образом, происходит разрушение гемоглобина внутри эритроцита. Выделяющийся

ион железа способствует дальнейшему окислению органических молекул. Возникает гемолитическая и микроцитарная анемия. Авторы связывают возникновение дыхательной недостаточности прежде всего с возникшим дефицитом гемоглобина и окислительным повреждением, инициируемым ионами железа, гемолизом [22]. Такое воздействие может привести к усилению воспалительных процессов в легких, развитию окислительного стресса, гипоксемии, гипоксии, симптомов острого респираторного дистресс-синдрома и полиорганной кислородной недостаточности [23].

Иммуноопосредованное повреждение печени. Спектр потенциальных патофизиологических механизмов поражения печени при COVID-19 обширен, в том числе включает иммуноопосредованное повреждение печени из-за тяжелой воспалительной реакции [9]. Возникновение полиорганной недостаточности у тяжелобольных пациентов COVID-19 в основном связано с внезапным началом воспалительного «шторма».

Так называемый воспалительный (цитокиновый) шторм, или синдром системной воспалительной реакции, тесно связан с активацией как гуморального, так и клеточного иммунитета, который запускается инфекцией COVID-19 [12]. Под термином «цитокиновый шторм» понимают иммунопатологическое состояние, характеризующееся повышенным содержанием провоспалительных цитокинов в крови, таких как фактор некроза опухоли (ФНО), интерлейкин (IL) 2, IL-6, IL-7, IL-18, гранулоцитарно-колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерферон гамма и ферритин, нарушенной иммунной защитой, развитием жизнеугрожающих системных реакций организма человека [17, 24].

SARS-CoV-2 связывается с эпителиальными клетками легких и вызывает множественные провоспалительные сигналы через Toll-подобные рецепторы, а также активацию цитотоксических Т-клеток. После заражения SARS-CoV-2 цитотоксические Т-клетки быстро активируются, вырабатывая GM-CSF, IL-6 и другие провоспалительные факторы. Позже GM-CSF активирует CD14⁺/CD16⁺ воспалительные моноциты, которые вырабатывают больше IL-6 и других провоспалительных факторов. Активированные Т-лимфоциты атакуют инфицированные клетки организма, приводя к их апоптозу и некрозу, пока Т-лимфоциты не истощаются [7].

Лекарственно-индуцированное повреждение печени. Поражение печени, возникающее у части пациентов при коронавирусной инфекции, зависит от возраста, географического региона, тяжести протекания

COVID-19 в целом и ряда других обстоятельств. Печень является основным органом метаболизма и детоксикации; таким образом, поддержание здоровой функции печени имеет решающее значение для эффективности и переносимости разных схем лечения COVID-19 [25].

Для борьбы с новой коронавирусной инфекцией было опробовано множество лекарственных средств. Некоторые препараты или их комбинации могут вызывать обострение хронических заболеваний печени и лекарственную гепатотоксичность, а также взаимодействовать с другими препаратами, усиливая их токсическое воздействие на печень.

В более ранних клинических рекомендациях для этиотропного лечения COVID-19 рекомендовали использовать лопинавир/ритонавир, рибавирин, хлорохин, гидроксихлорохин. В настоящее время рекомендовано назначать такие препараты, как фавипиравир, молнупиравир, ремдесивир, умифеновир и интерферон альфа. Помимо противовирусных препаратов используются жаропонижающие, антибиотики, глюкокортикостероиды, генно-инженерные биологические препараты [1].

Показано, что повышение уровня активности сывороточных ферментов во время лечения гидроксихлорохином было низким и аналогичными таковым у пациентов, получавших плацебо [26]. Но в одном из описанных случаев указано, что у пациентки с тяжелой пневмонией COVID-19, у которой был использован гидроксихлорохин, отмечено 10-кратное увеличение уровней активности трансаминаз; эти уровни быстро регрессировали после отмены препарата [27]. Тоцилизумаб может быть причиной повышения трансаминаз и острого повреждения печени у пациентов с COVID-19 [28]. Механизм лекарственной гепатотоксичности в основном включает дисфункцию митохондрий, окислительный стресс, стресс эндоплазматического ретикулума, липидную дистрофию и инсулинорезистентность [8, 29].

Фавипиравир – синтетический противовирусный препарат, селективный ингибитор РНК-полимеразы, активный в отношении РНК-содержащих вирусов. Так, Л.А. Балыкова и соавт. в исследовании, включавшем 200 мужчин и женщин в возрасте 18–80 лет с COVID-19, изучали гепатотоксичность фавипиравира. В группу исследуемого препарата включены 53 (50,96%) мужчины и 51 (49,04%) женщина, в группу стандартной терапии – 47 (49,02%) мужчин и 55 (50,98%) женщин. В обеих группах отмечено повышение как АЛТ (17,3 и 18,6% для основной и контрольной группы соответственно), так и АСТ (12,5 и 12,7% соответственно). Таким образом, фавипиравир сам по себе не приводит к повышению

активности трансаминаз, а их повышение связано, скорее всего, с другими факторами [1, 30].

Лопинавир/ритонавир – комбинированный противовирусный препарат, ингибитор протеазы вируса иммунодефицита человека. Данный препарат в основном метаболизируется в печени, главным образом через цитохром (CYP) P450. Этот путь приводит к образованию токсичного промежуточного продукта, который может вызвать лекарственное повреждение печени [29]. Повышение активности аминотрансфераз в сыворотке крови от умеренного до тяжелого (более чем в 5 раз выше верхнего предела нормы) встречается у 3–10% пациентов, принимавших лопинавир/ритонавир [12]. Также противовирусной активностью в отношении SARS-CoV-2 обладает ремдесивир (RDV), первоначально использовавшийся для лечения болезни Эбола. Исследования показали, что использование RDV связано с повышением активности АСТ и АЛТ [29]. В большинстве случаев повышение активности ферментов не отражало тяжелое повреждение печени [31]. Однако случаи острой печеночной недостаточности, предположительно вызванной применением RDV, были зарегистрированы. Описаны два пациента, у которых наблюдалось значительное повышение уровня активности трансаминаз между 3-ми и 10-ми сут терапии ремдесивиром, сопровождающееся коагулопатией и энцефалопатией [31]. Поэтому пациентам со сниженной функцией печени гепатотоксичные препараты следует применять с осторожностью.

S. Gao и соавт. провели ретроспективное многоцентровое исследование, которое включало 4 010 пациентов, получавших лечение в связи с коронавирусной инфекцией в период с 19 декабря 2019 г. по 26 апреля 2020 г. У 395 пациентов (9,85%) развилось острое повреждение печени во время госпитализации. Острое повреждение печени диагностировалось при повышении активности АЛТ или АСТ $\geq 3 \times$ верхняя граница нормы (ULN), щелочной фосфатазы или общего билирубина $\geq 2 \times$ ULN. Медикаментозное лечение госпитализированных пациентов с COVID-19 в основном включало противовирусные препараты, антибактериальные, противогрибковые препараты, гидроксихлорохин/хлорохин, кортикостероиды, традиционную китайскую медицину (ТКМ), иммунотерапию и диетологические препараты. Из пациентов, у которых развилось острое повреждение печени, 293 (12,71%) человека лечились антибиотиками, а 25 (35,71%) – противогрибковыми препаратами. Что касается противовирусных препаратов, то 52 (18,18%), 200 (19,92%), 252 (7,23%), 88 (23,78%) и 80 (19,42%) пациентов получали лечение рибавирином, кортикостероидами, ТКМ, парентеральное и

энтеральное питание соответственно. Между пациентами, которые использовали, и теми, кто не использовал эти препараты, наблюдалась достоверная разница в частоте развития лекарственной гепатопатии ($p < 0,05$). Пациенты, которые получали гидроксихлорохин/хлорохин 362 (95,26%) и ТКМ 3234 (92,77%), реже имели острое повреждение печени [25].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ПАТОГЕНЕЗ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

Фиброз печени (ФП) – это накопление в печеночной ткани основных видов внеклеточного (экстрацеллюлярного) матрикса (коллагена, неколлагеновых гликопротеинов, гликозамингликанов, протеогликанов, эластина). Развитие септального и перисинусоидального фиброза является универсальным механизмом прогрессирования хронического гепатита и цирроза печени [32].

В качестве триггеров развития фиброза печени выступают вирусы гепатита В и С, иммунные и метаболические нарушения в печени, окислительный стресс, сопровождающийся активацией свободнорадикального окисления липидов, различные гепатотоксины и гипоксия [32]. Также фиброзные изменения печени возникают при таких заболеваниях, как первичный склерозирующий холангит, наследственный гемохроматоз, дефицит α -1 антитрипсина, болезни Вильсона, первичном билиарном циррозе, хронической сердечно-сосудистой недостаточности [33].

В эпоху пандемии новой коронавирусной инфекции триггерами развития и прогрессирования фиброза печени могут быть гипоксия, возникновение цитокинового шторма, воздействие лекарственных препаратов, а также непосредственное влияние SARS-CoV-2 на клетки гепатоцитов. Это, в свою очередь, приводит к повреждению гепатоцитов, из которых начинают выделяться различные вещества, включающие перекиси и протеазы. В результате эти биологически активные вещества активируют макрофаги. Активированные макрофаги, в свою очередь, начинают секретировать биологически активные вещества, вызывающие активацию звездчатых клеток. К основным индукторам их активности относят провоспалительные цитокины (IL-1), ФНО α , перекиси, оксид азота, эндотелин, но главная роль в активации звездчатых клеток принадлежит тромбоцитарноактивирующему фактору (PDGF), активатору плазминогена, трансформирующему фактору роста (TGF β 1). Под их воздействием звездчатые клетки выходят из состояния покоя и претерпевают ряд превращений. Наряду с этим увеличивается количество рецепторов к цитокинам, стимулирующим пролиферацию и фиброгенез [34].

На первом этапе покоящаяся звездчатая клетка под действием перечисленных выше продуктов макрофагов и эндотелия утрачивает депо ретиноидов и начинает секретировать TGF β 1, который играет ключевую роль в развитии последующей аутоактивации звездчатых клеток. Под его воздействием звездчатые клетки не только продолжают «активировать сами себя», но и приобретают способность мигрировать в участки воспаления.

Следующий этап сопровождается превращением звездчатых клеток в миофибробласты – клетки вытянутой формы, содержащие фибриллы α -актина (что придает им некоторую способность к сокращению). Эти клетки продолжают секретировать TGF β 1, а также способны к выработке внеклеточного матрикса печени. Миофибробласты приобретают способность к активному делению в участках воспаления. Фиброз печени – это обратимый процесс, но только при условии своевременного удаления этиологического и (или) патогенетического фактора [34].

ХРОНИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПЕЧЕНИ И КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

Обследуемые, имеющие хронические заболевания печени, особенно цирроз печени, более восприимчивы к новой коронавирусной инфекции из-за ослабленного иммунитета [35]. Поэтому вполне вероятно, что они в большей степени подвержены к более тяжелому течению COVID-19 с потенциалом прогрессирования фиброза печени. Наиболее распространенными заболеваниями являются неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), алкогольная болезнь печени (АБП), хронические вирусные гепатиты В и С (ХГВ, ХГС) и как исход данных заболеваний – цирроз печени.

Неалкогольная жировая болезнь печени. Неалкогольная жировая болезнь печени – хроническое заболевание печени метаболического генеза у лиц с отсутствием экзогенных факторов токсического поражения, обусловленное накоплением липидов в составляющих печеночную дольку клеточных элементах. По гистологическим признакам выделяют стеатоз, стеатогепатит (НАСГ) и цирроз печени в исходе НАЖБП. Распространенность НАЖБП в общей популяции в мире колеблется в пределах 6,3–33,0%, выявляется во всех возрастных категориях, но значительно чаще у лиц с ожирением (до 62–93%) [36].

Уровень экспрессии ACE2 в жировой ткани выше, чем в легочной ткани. Этот вывод может объяснять уязвимость жировой ткани к инвазии COVID-19 [37]. Ретроспективное исследование, проведенное M.F. Fondavila и соавт., показало, что в печени пациентов с ожирением факторы проникновения SARS-

CoV-2 по-разному зависят от СД 2-го типа и НАЖБП. В то время как у женщин с ожирением, страдающих СД 2-го типа, уровень ACE2 и TMPRSS2 неожиданно ниже, чем у женщин с ожирением и нормогликемией, у пациентов с ожирением, страдающих стеатогепатитом, экспрессия этих генов заметно выше. Следовательно, поздние стадии НАЖБП могут predisposing к COVID-19 [38].

Стоит отметить, что риск развития тяжелого COVID-19 значительно выше у пациентов с НАЖБП, у которых был диагностирован стеатоз печени по результатам компьютерной томографии (отношение шансов (ОШ) 4,32; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,94–9,59) или с промежуточным и высоким уровнем фиброза по тесту FIB-4 (ОШ 5,73; 95%-й ДИ 1,84–17,9), независимо от метаболических сопутствующих заболеваний, по сравнению с пациентами, имеющими НАЖБП с низким индексом FIB-4, или лицами без НАЖБП [39].

Однако проведенное двухвыборочное рандомизированное исследование (TSMR) показало, что НАЖБП (ОШ = 0,97; $p = 0,61$), уровень активности АЛТ (ОШ = 1,03; $p = 0,47$), степень стеатоза (ОШ = 1,08; $p = 0,41$), степень активности НАЖБП (ОШ = 1,02; $p = 0,39$) и стадия фиброза (ОШ = 1,01; $p = 0,87$) не были связаны с тяжелым течением COVID-19. Среди всех сопутствующих НАЖБП факторов риск тяжелой формы COVID-19 был ассоциирован только с индексом массы тела (ИМТ) (ОШ = 1,73; $p = 7,65 \times 10^{-9}$), окружностью талии (ОШ = 1,76; $p = 2,58 \times 10^{-5}$) и окружностью бедер (ОШ = 1,33; $p = 7,26 \times 10^{-3}$).

В настоящее время представляется вероятным, что общее ожирение (индексируемое по ИМТ, окружности талии и бедер), а не НАЖБП, играет причинную роль в развитии тяжелых симптомов COVID-19. Потенциальный механизм, лежащий в основе повышенного риска развития тяжелой формы COVID-19 при увеличении ИМТ, остается неясным. Предварительные гипотезы, объясняющие этот феномен, включали более низкий кардиореспираторный резерв и иммунную дисрегуляцию у пациентов с высоким ИМТ, которые усугубляют симптомы COVID-19. В целом контроль массы тела может быть наиболее важным модифицируемым фактором риска для предотвращения развития тяжелой формы COVID-19 [40].

Алкоголь-ассоциированная болезнь печени. Потребление алкоголя является одним из ведущих факторов риска развития патологии внутренних органов. С алкоголь-ассоциированными заболеваниями связано почти 10% смертей в мире среди населения в возрасте 15–49 лет [41]. По данным Национального

научного центра наркологии в Москве, потребление алкоголя на фоне пандемии COVID-19 выросло. Алкогольная болезнь печени независимо ассоциируется с 1,8-кратным повышенным риском смертности у пациентов с COVID-19 [39].

Существует множество причин, по которым употребление алкоголя может predispose к ухудшению исходов COVID-19. Во-первых, потребление алкоголя и сопутствующие заболевания печени нарушают работу врожденной и адаптивной иммунной системы, влияя на функционирование иммунных клеток, важных для защиты от вирусных инфекций [42].

Во-вторых, хроническое потребление алкоголя ассоциируется с повышенной восприимчивостью к острому респираторному дистресс-синдрому [43]. Это может быть связано с прямым воздействием алкоголя на иммунную функцию в дополнение к дисфункции альвеолярного эпителия и снижению концентрации легочных антиоксидантов у лиц с хроническим злоупотреблением алкоголем [43].

В-третьих, пациенты с чрезмерным потреблением алкоголя часто имеют другие сопутствующие заболевания, включая метаболический синдром, хроническую болезнь почек и табакокурение, которые были независимо связаны с тяжелыми исходами COVID-19 [43].

Коинфекция SARS-CoV-2 и вирусного гепатита В. В настоящее время вирус гепатита В (HBV) остается основной причиной цирроза, печеночной недостаточности и гепатоцеллюлярной карциномы [44]. L. Chen и соавт. показали, что из 326 подтвержденных пациентов с COVID-19, из которых 20 (6,1%) с коинфекцией вирусного гепатита В (ВГВ), не было различий в продолжительности пребывания в стационаре между двумя группами. Коинфекция ВГВ, по данным авторов, не повлияла на течение и прогноз COVID-19 [45].

R. Yu и соавт. наблюдали за 67 пациентами, которые были разделены на группы с HBsAg+ ($n = 7$) и HBsAg- ($n = 60$) с оценкой уровня активности АСТ, маркеров ВГВ (HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb и HBV-ДНК) при поступлении и выписке из стационара. Статистически значимых различий между группами пациентов с положительным и отрицательным HBsAg не обнаружено. Авторы предположили, что инфекция SARS-CoV-2 не ассоциирована с реактивацией HBV у обследованных. Однако наличие HBV также не повлияло на тяжесть течения SARS-CoV-2 [46].

С вирусологической точки зрения, коинфекция с ВГВ не увеличивала цикл распространения вируса или инкубационный период инфекции SARS-CoV-2. С клинической точки зрения, коинфекция HBV не

увеличивала тяжесть заболеваний или продолжительность госпитализации пациентов с COVID-19 [46]. Также ВГВ может вызывать «иммунное истощение», при котором стимулированные Т-клетки не дают такого сильного цитокинового ответа на инфекцию SARS-CoV-2, что приводит к менее тяжелому течению заболевания [2].

Для пациентов с тяжелой формой COVID-19 и коинфекцией ВГВ существует риск реактивации HBV. Обычно это связано с иммуносупрессивной терапией, такой как антагонисты рецепторов IL-6 (тоцилизумаб и силтуксимаб), антагонисты рецепторов IL-1 (анакинра) и высокие дозы кортикостероидов. Данные препараты используют с целью контроля цитокинового шторма, тем самым уменьшая иммуноопосредованное мультиорганное повреждение [44].

J. Liu и соавт. в ретроспективном исследовании наблюдали за 21 пациентом с коинфекцией SARS-CoV-2 и ВГВ. 19 пациентов были протестированы на вирусную нагрузку ДНК HBV, по крайней мере, дважды во время госпитализации. У трех из 19 пациентов развилась реактивация ВГВ, которая проявилась в виде быстрого увеличения вирусной нагрузки ДНК HBV. Эти три пациента были отрицательны на антиген гепатита В и не получали никакого лечения против ВГВ до госпитализации. Во время госпитализации двое из трех пациентов получали метилпреднизолон, что может объяснить реактивацию, а один не получал кортикостероидов [47].

Коинфекция SARS-CoV-2 и вирусного гепатита С. Хронический вирусный гепатит С – хроническое воспалительное заболевание продолжительностью более 6 мес с преимущественным поражением ткани печени вследствие инфицирования вирусом гепатита С (ВГС). По оценочным данным, в мире у 1% населения (порядка 71 млн человек) выявляются антитела к ВГС (anti-HCV), среди которых 2/3 хронически инфицированы и 1/3 выздоровели самостоятельно или вследствие излечения [48].

B. Cerbu и соавт. провели исследование, в котором 1 057 пациентов были инфицированы HCV, у 126 (11,9%) подтвержден COVID-19. Из них 95 пациентов (75,4%) находились на лечении по схеме SOF/VEL или достигли устойчивого вирусологического ответа, в то время как у остальных 31 (24,6%) обнаружена активная репликация HCV. Доля тяжелых случаев COVID-19 в активной группе ВГС была значительно выше по сравнению с неактивной группой ВГС (32,2 против 7,3%, $p < 0,001$). Также было показано, что продолжительность пребывания в больнице и отделении интенсивной терапии по поводу COVID-19 была значительно выше у пациентов с активной инфекцией HCV [49]. В настоящее время

наблюдений за влиянием коронавирусной инфекции на течение вирусного гепатита С, а также его прогноз недостаточно.

Цирроз печени. Цирроз – это поздняя стадия фиброза печени, вызванная главным образом НАЖБП/НАСГ, алкогольной болезнью печени и хроническим вирусным гепатитом [39]. В исследовании, проведенном в Нью-Йорке, только у 0,4% пациентов с новой коронавирусной инфекцией имелся цирроз. Влияние цирроза на течение COVID-19 еще до конца не известно. Выявлено, что цирроз печени связан с повышенной смертностью у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом [50]. Известно, что уровень ACE2 повышается (97-кратное увеличение в паренхиме) при циррозе печени [51]. Поэтому пациенты с циррозом могут быть более уязвимы к инфекции SARS-CoV-2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, COVID-19 – заболевание, которое вызывает мультисистемное поражение. Повреждение печени может происходить несколькими путями: прямое воздействие SARS-CoV-2 на гепатоциты, иммуноопосредованное повреждение из-за тяжелой воспалительной реакции, гипоксия, использование лекарственных средств.

Особое внимание обращают на себя диффузные хронические заболевания печени, такие как неалкогольная болезнь печени, алкоголь-ассоциированная болезнь печени, вирусные гепатиты, цирроз печени. Коронавирусная инфекция, видимо, может способствовать прогрессированию перечисленных заболеваний, а также иметь худший исход при этих состояниях.

Данных о дальнейшем наблюдении за больными с хроническими заболеваниями печени, перенесших SARS-CoV-2, в настоящее время недостаточно для определенных выводов, что требует продолжения исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Версия 15 (22.02.2022). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2022. URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf (дата обращения: 10.06.2022).
2. Driggers K.E., Sadowski B.W., Shagla E., Kwok R.M. Care of the hepatology patient in the COVID-19 era. *Current Hepatology Reports*. 2022;21(2):9–20. DOI: 10.1007/s11901-021-00581-x.
3. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Миронов А.Ю., Забозлаев Ф.Г. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. М., 2020:48.
4. Holmes K.V., Enjuanes L. The SARS coronavirus: a post-genomic era. *Science*. 2003;300(5624):1377–1378. DOI: 10.1126/science.1086418.
5. Мнацаканян М.Г., Погромов А.П., Лишута А.С., Фомин В.В., Ташян О.В., Куприна И.В. и др. Механизмы повреждения печени при COVID-19. *Терапевтический архив*. 2021;93(4):427–430. DOI: 10.26442/00403660.2021.04.200733.
6. Jin X., Lian J.S., Hu J.H., Gao J., Zheng L., Zhang Y.M. et al. Epidemiological, clinical and virological characteristics of 74 cases of coronavirus-infected disease 2019 (COVID-19) with gastrointestinal symptoms. *Gut*. 2020;69(6):1002–1009. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-320926.
7. Idalgoaga F., Ayares G., Arab J.P., Diaz L.A. COVID-19 and indirect liver injury: a narrative synthesis of the evidence. *J. Clin. Transl. Hepatol*. 2021;9(5):760–768. DOI: 10.14218/JCTH.2020.00140.
8. Zhang X.T., Yu Y., Zhang C. Wang H., Zhao L., Wang H. et al. Mechanism of SARS-CoV-2 invasion into the liver and hepatic injury in patients with COVID-19. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis*. 2022;14(1):e2022003. DOI: 10.4084/MJHID.2022.003.
9. Nardo A.D., Schneeweiss-Gleixner M., Bakail M., Dixon E.D., Lax S.F., Trauner M. Pathophysiological mechanisms of liver injury in COVID-19. *Liver Int*. 2021;41(1):20–32. DOI: 10.1111/liv.14730.
10. Сабилов И.С., Муркамилов И.Т., Фомин В.В. Гепатобилиарная система и новая коронавирусная инфекция (COVID-19). *The Scientific Heritage*. 2020;49:49–58.
11. Xiaohong Y., Tingyuan L., Zhicheng H., Yifang P., Huawen L., Shicang Y. et al. A pathological report of three COVID-19 cases by minimal invasive autopsies. *Chinese Journal of Pathology*. 2020;49(5):411–417. DOI: 10.3760/cma.j.cn112151-20200312-00193.
12. Винокуров А.С., Никифорова М.В., Оганесян А.А., Винокурова О.О., Юдин А.Л., Юматова Е.А. COVID-19. Поражение печени – особенности визуализации и возможные причины. *Медицинская визуализация*. 2020;24(3):26–36. DOI: 10.24835/1607-0763-2020-3-26-36.
13. Ильченко Л.Ю., Никитин И.Г., Федоров И.Г. COVID-19 и поражение печени. *Архив внутренней медицины*. 2020;10(3):188–197. DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10-3-188-197.
14. Ибраева Ж.Б., Айткулуев Н.С., Макембаева Ж.И., Суранбаева Г.С., Мурзакулова А.Б., Анарбаева А.А. и др. Коронавирусная инфекция COVID-19 и поражение печени. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2021;9:17–21. DOI: 10.17513/mjpf.13266.
15. Chai X., Hu L., Zhang Y., Han W., Lu Z., Ke A. et al. Specific ACE2 expression in cholangiocytes may cause liver damage after 2019-nCoV infection. *BioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.02.03.931766.
16. Wang Y., Liu S., Liu H., Li W., Lin F., Jiang L. et al. SARS-CoV-2 infection of the liver directly contributes to hepatic impairment in patients with COVID-19. *Journal of Hepatology*. 2020;73:807–816. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.05.002.

17. Суркова Е.Ю., Мосина Л.М., Есина М.В. К вопросу о некоторых патогенетических особенностях поражения печени при COVID-19. *Современные проблемы науки и образования*. 2021;3. DOI: 10.17513/spno.30880.
18. Waseem N., Chen P.H. Hypoxic Hepatitis: A Review and Clinical Update. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2016;4(3):263–268. DOI: 10.14218/JCTH.2016.00022.
19. Сторожаков Г.И., Осканова Р.С., Ильченко Л.Ю., Косюра С.Д., Фёдоров И.Г. Гипоксический гепатит. *Архив внутренней медицины*. 2014;6(20):42–47. DOI: 10.20514/2226-6704-2014-0-6-42-47.
20. Петров В.И., Пономарева А.В., Ивахненко И.В., Развальяева О.В., Мешрки Б.А., Стаценко В.И. Этиопатогенетические аспекты повреждения печени у пациентов с COVID-19. *Вестник ВолгГМУ*. 2020;4(76):9–15. DOI: 10.19163/1994-9480-2020-4(76)-9-15.
21. Feng G., Zheng K.I., Yan Q.Q., Rios R.S., Targher G., Byrne C.D. et al. COVID-19 and liver dysfunction: Current insights and emergent therapeutic strategies. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2020;8(1):18–24. DOI: 10.14218/JCTH.2020.00018.
22. Wenzhong L., Hualan L. COVID-19: Attacks the 1-beta chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism. *ChemRxiv*. 2020. DOI: 10.26434/chemrxiv.11938173.v5.
23. Сандлер Ю.Г., Винницка Е.В., Хайменова Т.Ю., Бордин Д.С. Клинические аспекты повреждения печени при COVID-19. *Эффективная фармакотерапия*. 2020;16(15):18–23. DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-15-18-23.
24. Потапнев М.П. Цитокиновый шторм: причины и последствия. *Иммунология*. 2021;42(2):175–188. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-2-175-188.
25. Gao S., Yang Q., Wang X., Hu W., Lu Y., Yang K. et al. Association between drug treatments and the incidence of liver injury in hospitalized patients with COVID-19. *Front Pharmacol.* 2022;13:799338. DOI: 10.3389/fphar.2022.799338.
26. LiverTox: Clinical and research information on drug-induced liver injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012–Hydroxychloroquine. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/> (дата обращения: 15.04.2021).
27. Falcao M.B., Pamplona de Goes Cavalcanti L., Filgueiras Filho N.M., Antunes de Brito C.A. Case report: hepatotoxicity associated with the use of hydroxychloroquine in a patient with COVID-19. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020;102(6):1214–1216. DOI: 10.4269/ajtmh.20-0276.
28. Muhovic D., Bojovic J., Bulatovic A., Vukcevic B., Ratkovic M., Lazovic R. et al. First case of drug-induced liver injury associated with the use of tocilizumab in a patient with COVID-19. *Liver International*. 2020;40(8):1901–1905. DOI: 10.1111/liv.14516.
29. Satsangi S., Gupta N., Kodan P. Current and new drugs for COVID-19 treatment and its effects on the liver. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2021;9(3):436–446. DOI: 10.14218/JCTH.2020.00174.
30. Балыкова Л.А., Грановская М.В., Заславская К.Я., Симкина Е.Н., Агафьина А.С., Иванова А.Ю. и др. Новые возможности направленной противовирусной терапии COVID-19: результаты многоцентрового клинического исследования эффективности и безопасности применения препарата Арепливир. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2020;9(3):16–29. DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-3-16-29.
31. Carothers C., Birrer K., Vo M. Acetylcysteine for the treatment of suspected remdesivir-associated acute liver failure in COVID-19: A case series. *Pharmacotherapy*. 2020;40(11):1166–1171. DOI: 10.1002/phar.2464.
32. Циммерман Я.С. Фиброз печени: патогенез, методы диагностики, перспективы лечения. *Клиническая фармакология и терапия*. 2017;26(1):54–58.
33. Павлов Ч.С., Шульпекова Ю.О., Золотаревский В.Б., Ивашкин В.Т. Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2005;2:13–20.
34. Губергриц Н.Б., Лукашевич Г.М., Фоменко П.Г., Беляева Н.В. Фиброз печени: от фатализма к оптимизму. М.: Прима Принт, 2015:48.
35. Vranić L., Radovan A., Poropat G., Mikolašević I., Milić S. Non-alcoholic fatty liver disease and COVID-19-two pandemics hitting at the same time. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(10):1057. DOI: 10.3390/medicina57101057.
36. Лазебник Л.Б., Голованова Е.В., Туркина С.В., Райхельсон К.Л., Оковитый С.В., Драпкина О.М. и др. Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации для терапевтов, третья версия. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021;185(1):4–52. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52.
37. Metaweia M.I., Yousif W.I., Moheb I. COVID 19 and liver: An A–Z literature review. *J. Digestive and Liver Disease*. 2021;53(2):146–152. DOI: 10.1016/j.dld.2020.09.010.
38. Fondevila M.F., Mercado-Gomez M., Rodriguez A., Gonzalez-Rellan M.J., Iruzubieta P., Valentí V. et al. Obese patients with NASH have increased hepatic expression of SARS-CoV-2 critical entry points. *Journal of Hepatology*. 2021;74(2):469–471. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.09.027.
39. Martinez M.A., Franco S. Impact of COVID-19 in liver disease progression. *Hepatology Communications*. 2021;5(7):1138–1150. DOI: 10.1002/hep4.1745.
40. Li J., Tian A., Zhu H., Chen L., Wen J., Liu W. et al. Mendelian randomization analysis reveals no causal relationship between nonalcoholic fatty liver disease and severe COVID-19. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2022;20(7):1553–1560.e78. DOI: 10.1016/j.cgh.2022.01.045.
41. Лазебник Л.Б., Голованова Е.В., Еремина Е.Ю., Кривошеев А.Б., Сас Е.И., Тарасова Л.В. и др. Алкогольная болезнь печени (АБП) у взрослых. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020;174(2):4–28. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-174-2-4-28.
42. Szabo G., Saha B. Alcohol's effect on host Defense. *Alcohol Res.* 2015;37(2):159–170.
43. Moon M., Curtis B., Mandrekar P., Ashwani K., Singal A.K., Verna E.C. et al. Alcohol-associated liver disease before and after COVID-19 – an overview and call for ongoing investigation. *Hepatol. Commun.* 2021;5(9):1616–1621. DOI: 10.1002/hep4.1747.

44. Xiang T.D., Zheng X. Interaction between hepatitis B virus and SARS-CoV-2 infections. *World J. Gastroenterol.* 2021;27(9):782–793. DOI: 10.3748/wjg.v27.i9.782.
45. Chen L., Huang S., Yang J., Cheng X., Shang Z., Lu H. et al. Clinical characteristics in patients with SARS-CoV-2/HBV co-infection. *J. Viral Hepat.* 2020;27(12):1504–1507. DOI: 10.1111/jvh.13362.
46. Yu R., Tan S., Dan Y., Lu Y., Zhang J., Tan Z. et al. Effect of SARS-CoV-2 coinfection was not apparent on the dynamics of chronic hepatitis B infection. *Virology.* 2021;553:131–134. DOI: 10.1016/j.virol.2020.11.012.
47. Liu J., Wang T., Cai Q., Sun L., Huang D., Zhou G. et al. Longitudinal changes of liver function and hepatitis B reactivation in COVID 19 patients with preexisting chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology Research.* 2020;50(11):1211–1221. DOI: 10.1111/hepr.13553.
48. Хронический вирусный гепатит С. Клинические рекомендации. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2021. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/516_2 (дата обращения: 10.06.2022).
49. Cerbu B., Pantea S., Bratosin F., Vidican, I., Turaiche M., Frent S. et al. Liver Impairment and Hematological Changes in Patients with Chronic Hepatitis C and COVID-19: A Retrospective Study after One Year of Pandemic. *Medicina.* 2021;57(6):597. DOI: 10.3390/medicina57060597.
50. Пинчук Т.В., Орлова Н.В., Суранова Т.Г., Бонкало Т.И. Механизмы поражения печени при COVID-19. *Медицинский алфавит.* 2020;19:39–46. DOI: 10.33667/2078-5631-2020-19-39-46.
51. Lizardo-Thiebaud M., Cervantes-Alvarez E., Limon-de la Rosa N., Tejeda-Dominguez F., Palacios-Jimenez M., Méndez-Guerrero O. et al. Direct or collateral liver damage in SARS-CoV-2-Infected patients. *Semin. Liver Dis.* 2020;40(3):321–330. DOI: 10.1055/s-0040-1715108.

Информация об авторах

Кручинина Маргарита Витальевна – д-р мед. наук, доцент, зав. лабораторией гастроэнтерологии, вед. науч. сотрудник, лаборатория гастроэнтерологии, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН; профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней, НГМУ, г. Новосибирск, kruchmargo@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0077-3823>

Першина Наталия Евгеньевна – ординатор, лаборатория гастроэнтерологии, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, 16041997nata@mail.ru

Светлова Ирина Олеговна – канд. мед. наук, доцент, кафедра терапии, гематологии и трансфузиологии, НГМУ; врач-гастроэнтеролог, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, iosvetlova@yandex.ru

Кручинина Элина Владимировна – клинический ординатор, НГМУ, г. Новосибирск, linakruchininaaa1998@gmail.com

(✉) **Кручинина Маргарита Витальевна**, kruchmargo@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.07.2022;
одобрена после рецензирования 05.09.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 618.146-006.6

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-145-155>

Современные представления о цервикальном канцерогенезе

Наумова Л.А., Стародумова В.А.

Сургутский государственный университет (СурГУ)

Россия, 628412, Ханты-Мансийский автономный округ (ХМАО) – Югра, г. Сургут, ул. Ленина, 1

РЕЗЮМЕ

Рассматриваются современные представления о цервикальном канцерогенезе как многостадийном процессе мультифакторного генеза. В настоящее время представления о патогенезе рака шейки матки (РШМ) базируются не только на понимании роли в этом процессе вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска и накоплении обусловленных им генетических изменений, но и формировании сложного интерактома ВПЧ, или сети межмолекулярных взаимодействий онкобелков ВПЧ с белками клетки-хозяина. Также в процессе канцерогенеза принимают участие эпигенетические модификации широкого спектра и, прежде всего, нарушения регуляторной функции микроРНК. Важное место в представлениях о цервикальном канцерогенезе занимает сформулированная в последние годы концепция раковых стволовых клеток (CSCs), с которой тесно связано объяснение рецидивов заболевания и устойчивости к лечению, а также понимание новых подходов к лечению. Перспективным объектом для исследования становится также цервиковагинальный микробиом и цервикальное микроокружение, ответственные за естественный клиренс ВПЧ, регрессию эпителиальных повреждений и моделирование иммунного ответа.

Цель обзора – изложение актуальной информации о важнейших механизмах цервикального канцерогенеза, а также новых подходах к лечению РШМ, базирующихся в частности на использовании знаний о регуляторных микроРНК, маркерах CSCs и состоянии цервиковагинальной микробиоты.

Ключевые слова: цервикальный канцерогенез, геномика рака шейки матки, микроРНК, раковые стволовые клетки, микробиота

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: Наумова Л.А., Стародумова В.А. Современные представления о цервикальном канцерогенезе. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):145–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-145-155>.

Modern concepts in cervical carcinogenesis

Naumova L.A., Starodumova V.A.

Surgut State University

1, Lenina Str., Surgut, Khanty-Mansiysk Autonomous Area – Yugra, 628412, Russian Federation

ABSTRACT

The article discusses modern ideas about cervical carcinogenesis as a multi-stage process of multifactorial genesis. Currently, ideas about the pathogenesis of cervical cancer (CC) are based not only on understanding the role of high-risk oncogenic human papillomavirus (HPV) in this process and accumulation of genetic changes caused

✉ Наумова Людмила Алексеевна, naumoval@yandex.ru

by it, but also on formation of a complex HPV interactome, or a network of intermolecular interactions of HPV oncoproteins with host cell proteins. Carcinogenesis also involves a wide range of epigenetic events and, above all, impairment of the regulatory function of miRNAs. An important role in cervical carcinogenesis is attributed to the concept of cancer stem cells (CSCs) formulated in recent years, which is closely related to the explanation of disease recurrence and treatment resistance, as well as to new approaches to treatment. The cervicovaginal microbiome and cervical microenvironment, which are responsible for natural clearance of HPV, regression of epithelial lesions, and modeling of the immune response, are becoming promising objects for research.

The aim of the review was to present up-to-date information on the most important mechanisms of cervical carcinogenesis, as well as on new approaches to the treatment of CC, based, in particular, on the use of knowledge about regulatory miRNAs, CSC markers, and the state of the cervicovaginal microbiota.

Keywords: cervical carcinogenesis, cervical cancer genomics, miRNA, cancer stem cells, microbiota

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

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

For citation: Naumova L.A., Starodumova V.A. Modern concepts in cervical carcinogenesis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):145–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-145-155>.

ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире рак шейки матки (РШМ) относится к одному из самых распространенных злокачественных гинекологических заболеваний, при котором показатели заболеваемости и смертности имеют тенденцию к ухудшению. В 2020 г. в мире выявлено более 600 тыс. новых случаев заболевания РШМ и зарегистрировано 342 тыс. смертельных исходов [1]. РШМ занимает 4-е место в структуре онкологических заболеваний у женщин после рака молочной железы, колоректального рака и рака легких [2–4] и является второй причиной смерти от рака у женщин в возрасте от 20 до 39 лет [1, 5–7]. В экономически слабых странах при высокой распространенности (2-е место в структуре онкологической заболеваемости у женщин) и поздней диагностике 5-летняя выживаемость больных РШМ составляет менее 50% [2–4]. Несмотря на существующие программы скрининга (ВПЧ (вирус папилломы человека)-тесты, цитологические методы исследования, кольпоскопия) и вакцинации, ведущие к снижению смертности от РШМ, растет необходимость в скрининге предрака и РШМ на ранних стадиях. Скрининг позволяет использовать органосохраняющие методы лечения, обеспечивающие поддержание фертильности [5, 6, 8].

Представления о цервикальном канцерогенезе тесно связаны с современным пониманием особенностей переходной зоны между эндо- и экзоцервиксом, которая известна как плоско-столбчатое соединение шейки матки (squamo-columnar junction – SCJ) и характеризуется наличием цервикальных стволовых клеток (SCs) [2, 4, 5, 9]. Открытие SCs дает понимание не только механизмов физиологической и ре-

паративной регенерации эпителия шейки матки, но и истоков онкогенеза – появления раковых стволовых клеток (CSCs) [2, 4, 5, 9, 10]. Раковые стволовые клетки определяют злокачественные потенции опухолевого процесса – скорость развития и метастазирования, степень регрессии на фоне лечения [4, 5, 9, 11].

Хотя особое значение в опухолевой трансформации отводится персистирующей ВПЧ-инфекции высокого онкогенного риска (hr HPV) [1, 5], РШМ является многофакторным заболеванием, обусловленным не только накоплением генетических, но и широкого спектра эпигенетических изменений – нарушением процессов метилирования ДНК, модификацией гистонов и некодирующих РНК (нкРНК) [6, 12–15]. Онкогенные потенции инфекционного процесса, обусловленного ВПЧ, определяются большим количеством дополнительных факторов. К ним относятся: влияние гормонов, множественные половые партнеры, ожирение, курение, алкоголизм, плохое питание, иммуносупрессивное цервикальное микроокружение, аномальная вагинальная микробиота, коинфекции с *Chlamydia trachomatis* или вирусом иммунодефицита человека [1, 5, 7, 16–19].

Lactobacillus spp. являются основными представителями микробной вагинальной флоры и формируют первую линию защиты от патогенной микрофлоры, при инфицировании ВПЧ и по мере нарастания тяжести цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) диагностируется преобладание все более токсичной флоры – *Fusobacterium*, *Sneathia* и *Streptococcus* [5, 16, 20]. Накапливается все больше данных о важнейшей роли цервикального микробиома (ЦВМ) в динамике событий при ВПЧ-инфицировании – естественном клиренсе

ВПЧ, регрессии CIN и моделируемом ЦВМ иммунном ответе [1, 5, 7, 16].

Решающее значение для разработки эффективной терапии РШМ приобретает изучение молекулярных механизмов его патогенеза, основанное на методах системной биологии (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика РШМ), позволяющих получать наибольший объем информации о прогностических и важных для лечения биомаркерах РШМ [3, 21].

ОНКОГЕННЫЕ ШТАММЫ ВПЧ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

В настоящее время описано и секвенировано более 200 генотипов ВПЧ и животных, из них примерно 30 типов поражают аногенитальный тракт, 15 из этих типов (типы ВПЧ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 и 82) классифицированы как hr HPV, ассоциирующиеся с CIN II–III и cancer *in situ*, или поражением высокой степени (HSIL) и инвазивным РШМ. ВПЧ16 и ВПЧ18 вызывают около 70% плоскоклеточного рака и более 90% аденокарцином [2, 12–14, 22, 23].

Вместе с тем доказано, что почти у 90% инфицированных ВПЧ через 6–18 мес после заражения вирус уже не обнаруживается (транзиторная инфекция), у одной десятой доли инфицированных женщин инфекция сохраняется (персистирующая инфекция) и могут развиваться предопухолевые поражения шейки матки [2, 14, 22] с прогрессированием до инвазивного РШМ в 0,3–1,2% случаев. Вопрос о возможности полной элиминации вируса, его латентном пребывании в базальных клетках с сохранением потенциала реактивации остается открытым. Персистирующая ВПЧ-инфекция диагностируется при наличии ДНК вируса того же типа при повторном исследовании через 6–12 мес [2, 22, 23].

Жизненный цикл вирусов папилломы человека, проникающих через микроабразии в базальные клетки эпителия экзоцервикса, тесно связан с дифференцировкой эпителиоцитов, зависит от ряда клеточных факторов и последовательно экспрессируемых вирусных белков, подробно описан в многочисленных обзорах [4, 5, 12, 14, 15]. В инфицированных клетках вирус может существовать в эписомальной, интегрированной или смешанной (эписомальной и интегрированной) форме [14, 24].

Интеграция ДНК вируса в геном клетки хозяина может иметь различные сигнатуры (описано более 3,5 тыс. точек разрыва) и вызывать амплификации онкогенов, инактивацию генов-онкосупрессоров, межхромосомные или внутрихромосомные перестрой-

ки и генетическую нестабильность [14, 24]. Изменения чаще определяются в генах *PIK3CA*, *TP53*, *KRAS* и *PTEN*, нередко – в *STK11*, *POU5F1B*, *FHIT*, *KLF12*, *KLF5*, *LRP1B*, *LEPREL1* и др. [3, 6, 24, 25]. Интеграция вирусной ДНК в геном хозяина сопровождается разрушением вирусного гена *E2*, регулирующего онкобелки E6 и E7, что ведет к их сверхэкспрессии [14].

При интеграции вирусный геном встраивается в геном клеток-хозяина в местах повреждения, или двухцепочечных разрывов ДНК, благодаря деактивации с помощью онкобелков E6 и E7 нормального ответа на повреждение ДНК (DDR – DNA-damage responses), который складывается из активации ATR и P53 [3, 12]. Белок E7 действует на протеинкиназу ATR и инактивирует Rb, нарушая ингибиторы клеточного цикла – p21, p27. E6 ингибирует репарацию ДНК и обуславливает неконтролируемую пролиферацию инфицированных клеток через нарушение процесса апоптоза – убиквитин-протеасомную деградацию белка-онкосупрессора p53 и связывание с прокаспазой-8, а также подавляет ответ многих генов на интерферон [3, 12, 14]. Белок E6 активирует путь PI3K/Akt, способствует деградации транскрипционного репрессора NFκB и индуцирует активацию hTERT (человеческая теломеразная обратная транскриптаза), приводя к иммортализации трансформированных клеток [3, 5, 12, 14].

В настоящее время установлено существование сложного интерактома ВПЧ, или сети межмолекулярных взаимодействий E6 и E7 с белками клетки-хозяина [12, 14, 15]. Белки E6 и E7 могут модулировать профиль экспрессии генов, протеом клетки-хозяина и внутриклеточные сигнальные пути, включая MAPK-, Wnt-, Akt-, Notch-, mTORC- и STAT-зависимые каскады, что ведет к изменению фенотипа эпителиальных клеток [12, 14].

Интеграция вирусной ДНК в геном базальных клеток зоны трансформации, обладающих стволоподобными свойствами, приводит к их трансформации в CSCs [2, 5, 15], популяция которых поддерживается активацией онкобелками сигнальных путей Wnt/β-catenin, Notch и Hedgehog [3, 12, 14], Oct3/4, Nanog, SOX2 [26]. При исследовании РШМ (секвенирование всего экзона), проведенном в рамках проекта «Атлас генома рака» (TCGA), выявлено огромное количество мутаций. Так, 192 пары образцов «опухоль – контроль» в совокупности содержали 43 324 соматические мутации; 11 образцов, включающие более 600 мутаций на образец, были определены как «гипермутанты» [25].

Интегративная кластеризация образцов РШМ с использованием данных анализа генома (ДНК), транскриптома (мРНК), метилирования ДНК, экс-

прессии микроРНК (miRNA) и вариаций числа копий (CNV) генов выявила выраженную молекулярную неоднородность РШМ. В частности, были выделены три кластера РШМ: кластеры плоскоклеточного РШМ с высокой и низкой экспрессией генов кератина и кластер, включающий преимущественно аденокарциномы. С выделенными тремя кластерами ассоциировались особенности гистологии РШМ, типов ВПЧ, статуса интеграции ВПЧ, UCEC-подобный статус, уровень мутагенеза АРОВЕС, оценка эпителио-мезенхимального перехода (ЭМП) и мРНК, экспрессия KRAS, ERBB3, HLA-A. Выделенные кластеры дифференцированно различались не только по экспрессии генов ороговения SPRR и TMPRSS, но и генов, отвечающих за различные метаболические пути в клетке – *SMGs*, *ARID1A*, *NFE2L2* и *PIK3CA* [25, 27].

Впервые при РШМ были идентифицированы мутации ERBB3, CASP8, HLA-A, SHKBP1 и TGFBR2, а ERBB3 (HER3) сразу был определен как терапевтическая мишень в силу aberrантной передачи сигналов между мутантным HER3 и активированным HER2. Мутации HLA-A, HLA-B, NFE2L2, MAPK1, CASP-8, SHKBP1 и TGFBR2 были обнаружены исключительно при плоскоклеточном РШМ [25]. Выявленные амплификации CD274 (PD-L1) и PDCD1LG2 (PD-L2), достоверно коррелирующие с экспрессией ключевых генов цитолитических эффекторов иммунитета – гранзима А и перфорина, не исключают эффективности иммунотерапии при некоторых видах РШМ [25].

Определены также 1 026 эпигенетически молчащих генов, среди которых были цинк-зависимые металлопротеиназы ADAM, ADAMTS (моделирующие экстрацеллюлярный матрикс) и гены коллагена (COL), которые при РШМ были метилированы в большей степени, чем в контрольных образцах [25].

В гене *PIK3CA* имели место в основном активирующие мутации спирального домена E542K и E545K, в которых основная схема замещения нуклеотидов была связана с мутагенезом АРОВЕС – семейством цимитидиндеаминаз, играющих ключевую роль в дезаминировании цитидина до уридина в ДНК и РНК и контролирующих различные биологические процессы (эмбриогенез, врожденный иммунитет, регуляция экспрессии белков). В настоящее время мутагенез АРОВЕС, обуславливающий опухолевые мутации за счет aberrантного механизма редактирования ДНК, рассматривается как молекулярный драйвер цервикального канцерогенеза [23, 25]. При HPV-негативном РШМ отмечена более низкая частота мутагенеза АРОВЕС и высокий показатель экспрессии miRNAs, отвечающих за ЭМП [27].

В целом выявлены различия в процессе цервикального канцерогенеза при его ассоциированности

и отсутствию последнего с ВПЧ по трем важнейшим характеристикам – генам-драйверам опухолевого процесса, выраженности нестабильности генома и митотическим канцерогенным путям [28]. Именно особенности молекулярных механизмов и генетических нарушений, лежащие в основе канцерогенеза в каждом конкретном случае, обуславливают различные исходы РШМ [28, 29].

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МОДИФИКАЦИИ В ЦЕРВИКАЛЬНОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Исследования последних лет показывают, что интеграции вирусного генома в геном клетки-хозяина для развития РШМ недостаточно [12–14]. Цервикальный канцерогенез – многостадийный процесс, связанный не только с накоплением генетических изменений, но, прежде всего, с аккумуляцией широкого спектра эпигенетических модификаций вирусного генома и генома клеток-хозяев. Эти модификации связаны с нарушениями процессов метилирования ДНК, модификацией гистонов и нРНК [12–15, 30]. Эпигенетические изменения относятся к обратимым модификациям функции генов, являются естественными механизмами клеточной адаптации и возникают под воздействием широкого спектра факторов – возраста, образа жизни, гормонального фона, хронического воспаления, клеточного стресса. Указанные факторы формируют в свою очередь клеточное микроокружение со сложной сетью взаимодействия цитокинов, хемокинов, свободных радикалов, источников роста и ферментов, что определяет влияние на критические сигнальные пути, участвующие в поддержании клеточного гомеостаза [12–14, 17, 18, 30, 31].

При РШМ наблюдается преимущественно метилирование цитозина (замена атома водорода метильной группой) в мотиве CpG, катализируемое ферментами ДНК-метилтрансферазами (DNMTs). Метилирование промоторной области гена обычно приводит к его молчанию, деметилирование – к увеличению экспрессии, возможна и обратная ситуация – экспрессия онкогенов, обусловленная деметилированием их промоторов (показано на примере серин/треонинкиназы 31 (*STK31*)), а также варьирование эффектов метилирования ДНК в зависимости от этнической принадлежности [13, 14].

Онкопротеины E6 и E7 могут индуцировать экспрессию DNMTs и гистон-модифицирующих ферментов, включая гистоновые деацетилазы (HDACs), ацетилтрансферазы (HATs), метилтрансферазы (HMTs) и деметилазы, а также изменять активность ремоделирующих хроматин комплекс-ассоциированных белков и белков, ассоциированных с процессингом микроРНК (miRNAs) [13]. Онкобе-

лок E6 активирует экспрессию *DNMT1* через деградацию p53 и высвобождение транскрипционных факторов Sp1, связывающихся с промотором гена *DNMT1*, онкобелок E7 – через образование стабильного комплекса с pRB и высвобождение фактора транскрипции E2F [12–14]. При РШМ часто метилируемые генами оказываются *CADMI*, *CDHI*, *DAPK1*, *EPB41L3*, *FAM1A4*, *MAL*, *PAX1* и *hTER* [13]. На ранней стадии цервикального канцерогенеза часто метилируются ген рецептора ретиноевой кислоты β (*RAR\beta*), связанный с дифференцировкой клеток, и ген ингибирующего фактора Wnt- β , продукт которого ингибирует сигнальный путь Wnt- β -катенин [14].

Геном ВПЧ также подвергается эпигенетической модификации – в течение жизненного цикла вируса изменяется метилирование поздних онкобелков L1 и L2 и регуляторной области LCR [12, 13]. Гиперметилирование LCR препятствует регулированию белком E2 экспрессии вирусных онкогенов E6 и E7, обуславливая ее сверхэкспрессию [14].

Посттрансляционные модификации гистонов (ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, сумоилирование и убиквитинирование), влияя на структурное состояние и транскрипционную активность хроматина, имеют решающее значение в регуляции клеточного цикла, клеточной дифференцировки, поддержании SCs и эпигенетической наследуемости транскрипционных программ [14]. В нормальных клетках баланс HDACs и HATS обеспечивает контроль пролиферации и гибели клеток, онкопротеины E6 и E7 нарушают этот баланс, обуславливая неконтролируемую пролиферацию раковых клеток [12, 14]. Ингибирование HDACs, снижающих уровень ацетилирования гистонов и обуславливающих молчание генов-онкосупрессоров, становится перспективным подходом в терапии рака. Так, ингибитор HDAC all-trans retinoic acid (ATRA) в сочетании с субэроиланилид-гидроксамовой кислотой (SAHA) увеличивает содержание ацетилированных гистонов в промоторной области генов-онкосупрессоров *RAR\beta2*, E-кадгерина и β -катенина, деацетилирование промоторов которых при РШМ снижено или отсутствует. Комбинация вальпроевой кислоты (VPA) и ATRA демонстрирует дополнительные противоопухолевые эффекты, за счет реактивации экспрессии *RAR\beta2*, E-кадгерина, P21CIP1 и P53 и снижения уровня экспрессии гена *STAT3* (активирует транскрипцию генов, отвечающих за пролиферацию). Такие результаты не исключают использование ингибиторов HDAC и агонистов *RAR\beta2* в качестве нового подхода к лечению РШМ [14].

Благодаря достижениям в области биотехнологии и высокопроизводительного секвенирования стала

понятна ведущая роль в канцерогенезе aberrантной экспрессии нкРНК – одноцепочечных РНК-транскриптов, к которым относятся miRNAs, длинные нкРНК (lncRNAs) и круговые нкРНК (circRNAs). Особое значение в этом процессе отводится miRNAs, которые могут участвовать в регуляции как важнейших биологических процессов (пролиферация, дифференцировка, апоптоз), так и регуляции молекулярных путей канцерогенеза (клеточный цикл, Wnt- β -катенин-путь, P53, E6-p53, E7-pRb, PI3K-Akt, Notch) [3, 12–15, 30, 32–34]. Дисрегуляция miRNAs может быть следствием геномных мутаций, аномальной модификации метилирования ДНК геномных локусов miRNAs или однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), а также нарушения регуляции белков, участвующих в биогенезе miRNAs [15, 32, 35].

По влиянию на протоонкогены и онкосупрессоры miRNAs соответственно делят на онкомиRNAs и miRNAs-супрессоры опухолевого роста (TSMIR); содержание последних значительно снижается при большинстве видов рака [15]. MiRNAs могут также влиять на репликацию вирусной ДНК, в свою очередь онкопротеины E6 и E7 через индукцию сверхэкспрессии DNMTs могут катализировать aberrантное метилирование генов, кодирующих miRNAs [32]. Непрерывная экспрессия E6/E7 связана со снижением внутриклеточных концентраций miR-23a, miR-23b, miR-206, miR-143, miR-15 и miR-16, все из которых связаны с противоопухолевой активностью [12, 14].

Почти каждой стадии развития РШМ соответствует своя сигнатура miRNAs, которая теоретически может иметь большое значение для диагностики, лечения и мониторинга процесса [15, 33, 36]. Так, при LSIL установлена повышенная экспрессия miR-16, miR-21, miR-34a и miR-143, при HSIL – повышенная экспрессия miR-21, при снижении экспрессии miR-143 [36], а также повышенная экспрессия miR-205-5p, miR-130a-3p, miR-3136-3p и подавление miR-381-3p и miR-4531, при этом паттерны экспрессии miRNA не зависели от инфекции hr-HPV [33]. В качестве маркеров инвазивного РШМ описаны miR-499 и miR-18a, в качестве онкосупрессоров – miR-125, подавляющая VEGF, миграцию и инвазию опухолевых клеток (уже используется в качестве TSMIR при лечении РШМ), и miR-375, действующая посредством регуляции MELK и усиления апоптоза [15].

Подавляющая регуляция let-7c, miR-124, miR-126, miR-143 и miR-145 регулирует экспрессию онкогенов. Дестабилизация p53 онкобелком E6 ведет к подавлению экспрессии miR-34a, влияющей на несколько компонентов клеточного цикла, включая CDK4, циклин E2, E2F-1, рецептор MET фактора роста гепатоцитов и Bcl-2 [14]. Полезными для диагно-

стики инвазивного РШМ отмечены сверхэкспрессия miR-21 и пониженная регуляция miR-29 [15]. Активация экспрессии miR-31, miR-9 и сверхэкспрессия miRNA-21 под влиянием E6/E7 ассоциируются с прогрессированием РШМ и плохим прогнозом [14].

В настоящее время выявлено несколько сотен miRNAs, дифференцированно экспрессирующихся при РШМ [15, 34, 36]. Участие в канцерогенезе нкРНК значительно усложняет понимание молекулярной биологии рака, вместе с тем делает эти транскрипты предметом многочисленных исследований, направленных на выявление их ценности в качестве диагностических и прогностических маркеров [14]. Но использование их в диагностике пока не увенчалось успехом в силу методологических проблем и выраженной изменчивости состава miRNAs у разных больных при одном и том же типе рака. В лечении на основе miRNAs также необходимо преодолеть проблему их деградации нуклеазами, неточности доставки к клеткам-мишеням и побочных эффектов в виде активации иммунных реакций [15].

РАКОВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

В соответствии с гипотезой раковых стволовых клеток (CSCs) опухоль характеризуется особой иерархией клеток, в которой небольшая часть субпопуляции, получившая название CSCs, обладает свойствами стволовости – способностью к асимметричному делению, самообновлению, онкогенезу, устойчивостью к химио- и лучевой терапии благодаря наличию систем детоксикации или выведения [4, 5, 8, 9, 30, 37]. В результате асимметричного деления CSCs одна дочерняя клетка остается стволовой, вторая, утрачивая стволовость, дает потомство, формирующее основную часть опухолевых клеток различной степени дифференцировки [9]. Парадигма CSCs позволяет подойти к пониманию генеза рака, в том числе РШМ, объяснению механизмов его метастазирования, рецидивов и устойчивости к химио- и лучевой терапии [4, 9, 11, 30, 38].

Существует несколько теорий происхождения CSCs. Мутации, ведущие к появлению CSCs, могут происходить как в SCs, так и в уже трансформированных (опухолевых) клетках, обуславливая отбор клеток с высокой онкогенной активностью [5, 30]. Не исключается наличие субпопуляции резидентных CSCs, обеспечивающих развитие и поддержание исходной опухоли и находящихся в спящем состоянии в нишах CSCs [4, 5, 8, 30], а также циркулирующих в крови и диссеминирующих CSCs, ответственных за метастазирование. Ниша CSCs – микроокружение клеток, которое формируется экстрацеллюлярным матриксом и стромальными клетками (фибробласта-

ми, макрофагами и др.) и которое посредством межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий с участием большого количества разнообразных сигнальных молекул (цитокинов, miRNAs, гормонов) определяет регуляцию dormantного состояния CSCs, активацию CSCs в ответ на стресс (гипоксия, химиотерапия), пролиферацию и дифференцировку их потомства [4, 39]. Раковые клетки способны стохастически переходить между этими состояниями, что также поддерживает иерархию дифференцировки и происходит, в частности, на фоне лечения [9].

Существование CSCs обуславливает гетерогенность большинства опухолей, включая РШМ, что выражается как в межопухолевой гетерогенности – различной агрессивности и разных клинических исходах при одном и том же типе опухоли, так и внутриопухолевой гетерогенности – биологических и молекулярных различиях между опухолевыми клетками в одной и той же опухоли у одного пациента. Опухоль представляет смесь CSCs, имеющих смешанные мезенхимально-эпителиальные фенотипы, и опухолевых нестволовых клеток, которые, подвергаясь ЭМП, могут приобретать свойства стволовости [4, 9]. ЭМП, характеризующийся индукцией транскрипционных факторов SNAIL, SNAIL2, TWIST1 и BMI1, считается основным источником появления CSCs [4, 5]. CSCs способны к трансдифференцировке в эндотелиальные клетки сосудов, а также другие ассоциированные с опухолью стромальные клетки, что тоже может способствовать гетерогенности опухоли [4, 9].

CIN и последующие события цервикального канцерогенеза развиваются в клетках переходной зоны между эндо- и экзоцервиксом, которая известна как плоско-столбчатое соединение (SCJ) шейки матки, или зона трансформации [4, 5]. Клетки зоны SCJ демонстрируют уникальную морфологию и специфичные для них маркеры – кератин 7 (Krt7), передний градиент 2 (AGR2), CD63, матриксную металлопротеиназу 7 (MMP7) и гуанин-дезаминазу (GDA). Сохранение генетического профиля SCJ в клетках CIN и РШМ указывает на происхождение многочисленных подтипов РШМ из клеток SCJ и позволяет предполагать, что зона SCJ может быть нишей цервикальных CSCs [4, 9, 26].

Существующие методы лечения (химио- и лучевая терапия) устраняют только нестволовые опухолевые клетки, CSCs выживают в защищающих их нишах и ведут к рецидиву заболевания [4, 5, 8, 9, 39], что позволяет их рассматривать как «бьющееся сердце» злокачественной опухоли [39] и наиболее вероятную мишень для лечебного воздействия [8, 9, 39]. Молекулярные механизмы, определяющие судьбу CSCs, межклеточные связи и молекулярный

профиль ниши цервикальных CSC, пока во многом не ясны, не разработаны также лабораторные протоколы, позволяющие выделять CSCs в достаточных количествах, что делает их идентификацию сложной задачей [9, 11].

В настоящее время не существует набора универсальных маркеров для идентификации и выделения CSCs. Основным источником для изучения CSCs является так называемая *side population* (побочная популяция) – небольшая (до 20%) субпопуляция клеток внутри опухолевой массы, проявляющая свойства CSCs [4, 5]. Идентификация мультипотентных CSCs может базироваться на способности этих клеток выделять флуоресцентный краситель Hoechst и формировать при определенных условиях сфероиды – клетки эпителиально-мезенхимального фенотипа. Существующий способ выделения CSCs базируется на определении экспрессии поверхностных маркеров с помощью флуоресцентно-активированной клеточной сортировки (FACS), конфокальной микроскопии, иммуногистохимии, обратной транскрипции (RT)-количественной ПЦР, а также последующего тестирования онкогенной эффективности полученных клеток в эксперименте на животных и анализа полученной опухолевой субпопуляции [5].

При общности экспрессии целого ряда цитокератинов (СК-5, 8, 13, 17, 18 и 19) CSCs и SCs шейки матки только СК-19 и СК-17 рассматриваются как возможные маркеры CSCs, так как их высокая экспрессия при РШМ ассоциируется с высокой злокачественностью и метастазированием, а *side population* клеток, экспрессирующих СК-19 и СК-17, демонстрирует высокую онкогенность [5, 11]. В качестве предполагаемого маркера CSCs рассматривается также Nr63 – ключевой белок сигнального пути Sonic-Hg, вероятно, отвечающий за стволовость посредством индукции Bmi-1 – белка, необходимого для пролиферации SCs [11].

К общим маркерам CSCs при раках различной органной локализации относятся высокая экспрессия CD44, CD90, CD44 и CD133, CD271, CD49f, ALL+ [4, 5, 26], а также OCT4, NANOG, β -катенина и альдегиддегидрогеназы (ALDH1). ALDH1 связана с детоксикацией химических веществ путем окисления альдегидов и защитой от высоких концентраций активных форм кислорода. Экспрессия ALDH1 коррелирует с высокой опухолевой активностью и радиорезистентностью [3–5, 11, 26]. Устойчивость CSCs к гибели обеспечивается активной репарацией повреждений ДНК через фосфорилирование ATM и CHK1/CHK2 или активацию антиапоптотических сигнальных путей – WNT/ β -катенин, PI3K/Akt и Notch [4]. Разработка методов лечения, предотвра-

щающих репарацию ДНК в раковых клетках или направленных на антиапоптотические белки семейства Bcl-2, оказалась сложнее, чем ожидалось; исследования ингибиторов PARPi (поли(АДФ-рибоза)-полимеразы), участвующей в репарации ДНК, касаются в основном рака яичников [15].

SOX2-положительная популяция клеток при РШМ демонстрирует радиоустойчивость и экспрессирует более высокие уровни генов, связанных со стволовостью (OCT4 и ALDH1) и ЭМП, что подтверждает маркерность SOX2 для цервикальных CSCs. Как ключевой фактор транскрипции SOX2 играет важную роль в судьбе SCs и, возможно, участвует в инициации опухолевого процесса [9, 26, 40].

Устойчивость CSCs к лечению и возникновение рецидивов связывают с повышенной активностью в CSCs белков-переносчиков лекарств, включая MDR1 (ABCB1), ABCC1 (MRP1) и ABCG2. ABCG2 – АТФ-связывающий кассетный транспортер, блокирующий абсорбцию, выкачивающий из клеток широкий спектр химических соединений и играющий важную роль в развитии множественной лекарственной устойчивости при ряде типов рака [4, 5, 9, 11, 26]. Активность ABCG2 также ассоциируется с увеличением экспрессии HIF-2 α – транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией 2, который, в свою очередь, связан с экспрессией Oct4 – фактора транскрипции и поддержания состояния стволовости CSCs [11]. При РШМ важную роль в регуляции экспрессии некоторых эндогенных антиоксидантов и детоксикационных ферментов играет транскрипционный фактор Nrf2 [9].

Как потенциальный маркер CSCs рассматривается также остеопонтин (OPN) – хемокиноподобный белок внеклеточного матрикса, который секретируется опухолевыми и стромальными клетками. Сверхэкспрессия OPN при РШМ коррелирует с резистентностью к гипоксическому повреждению клеток при облучении и плохой выживаемостью. OPN также индуцирует опухолевый ангиогенез путем модулирования HIF1 α -зависимой экспрессии VEGF в ответ на гипоксию, регулирует CD44-опосредованное фосфорилирование p38, влияет на ядерный фактор каппа-би (NF- κ B) активированных В-клеток и NF- κ B-зависимую экспрессию фурина, которые участвуют в ответе на ВПЧ. Способность к самообновлению CSCs, опосредованная OPN, может быть подавлена снижением экспрессии NF- κ B [9].

Увеличивается количество данных об эпигенетическом программировании стволовости, в частности, об участии miRNAs в регуляции клеточного цикла как SCs, так и CSCs путем прямого или косвенного влияния на различные его компоненты (RB,

p53, p21, LATS2, PTEN, Cyclins, CDKs и CDKIs) [4, 30], при этом выявлены различия в уровне транскрипции отдельных miRNAs в резидентных SCs и CSCs [30]. В CSCs различных опухолей выявлено снижение экспрессии обладающего онкосупрессивными свойствами семейства микроРНК let-7, которое ведет к сверхэкспрессии онкогенов MYC, RAS, HMGA2 и BLIMP. Члены семейства let-7 также негативно регулируют PTEN, обуславливают инактивацию PI3K/АКТ/MTOR-пути и подавляют ЭМП [30].

Терапевтические стратегии, нацеленные на CSC-сигнальные пути и нишу CSCs, находятся в стадии разработки [4]. Как компонент лечения РШМ уже используются ингибиторы DNMT, представляющие собой анти-CSC-соединения. Потенциально эффективным может стать использование системы двойного таргетинга с последовательным высвобождением из системы препаратов, подавляющих пролиферирующие опухолевые клетки. Затем результативным может быть применение препаратов (антител), действующих на CSCs; нацеливание на молекулярные механизмы, поддерживающие состояние покоя CSCs на неопределенный срок или устраняющие субпопуляцию таких клеток, в частности абляция цитозольной фосфолипазы A2 альфа (CPLA2a). Последняя является ключевым медиатором воспаления и патофизиологии рака, заметно улучшающим чувствительность CSCs к химиопрепаратам путем подавления передачи сигналов β -катенина; эффективным подходом может стать нацеливание на CSCs с помощью наночастиц [4].

ЭПИТЕЛИО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД

Смертность при РШМ в значительной степени определяется рецидивами опухолевого процесса. При этом важнейшую роль в инвазии, метастазировании и метастатическом рецидивировании опухоли играет ЭМП [4, 41]. Он характеризуется трансдифференцировкой, или приобретением эпителиальной клеткой мезенхимального фенотипа вследствие утраты экспрессии эпителиальных (Е-кадгерин, β -катенин, окклюдин, клаудин, плакофиллин, цитокератины, десмоплакины) и увеличения экспрессии мезенхимальных маркеров (N-кадгерин, виментин, фибронектин) [30, 41–43].

ЭМП может инициироваться дисрегуляцией различных сигнальных путей – транскрипционных регуляторов онкогенов и онкосупрессоров, miRNAs и факторов роста [30, 41]. К транскрипционным регуляторам ЭМП при РШМ относятся Snail/Slug/Smug; Zeb1/Zeb2; Twist1/Twist2; E47; среди ФР – TGF, EGF; онкогены – HVP16; E6/E7; Sam68; AEG1; FTS,

онкосупрессоры – Klotho; SFRPs и широкий спектр miRNAs – miR200, семейство miR-155 и miR361-5p [25, 41], а также целый ряд других молекулярных факторов – β 1-integrin receptors, MMPs7/9, IL-6, TNF α и др. [41]. ЭМП определяется также регуляторной функцией хемокиновой сети, в частности, уровнем CXCL6. При РШМ установлено снижение уровня miR-101-5p, в норме подавляющей прогрессирование рака через ингибирование CXCL6, способствующего ЭМП [32]. Twist1/Twist2 являются основным регулятором ЭМП при РШМ, отвечают за активацию путей АКТ и β -катенина и сохранение CSCs [41]. CSCs, подвергающиеся ЭМП, могут входить в состояние покоя, уклоняясь от традиционных методов лечения, нацеленных на активно делящиеся клетки [4].

В кластере ЭМП при РШМ выявлена высокая иммунореактивность стромы с высокой экспрессией кавеолина-1, MYH11 и RAB11, а также дисрегуляция YAP и ZEB1, которая может быть связана с более низкими уровнями экспрессии miR -200A-3p в данном кластере. Эти данные свидетельствуют о потенциальной роли YAP и реактивности стромы в регулировании ЕМТ и прогрессировании РШМ [25]. Понимание молекулярных aberrаций характерных для ЭМП и базовой клеточной сигнализации ЭМП важны для разработки лечения, ведущего к снижению смертности от РШМ [4, 41].

ВАГИНАЛЬНАЯ МИКРОБИОТА И ЦЕРВИКАЛЬНОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ

В последние годы накапливаются данные о значительной роли цервиковагинального микробиома (ЦВМ) в динамике событий при ВПЧ – естественном клиренсе ВПЧ, регрессии CIN и моделируемом ЦВМ иммунном ответе [7, 16, 19]. Защитную роль нормальной вагинальной микробиоты связывают с определенными видами лактобацилл – *Lactobacillus (L.) crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, *L. iners*, вырабатывающими ряд антимикробных соединений и молочную кислоту, обеспечивающих низкий pH влагалища ($\leq 4,5$), необходимый для подавления колонизации патогенными видами (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* и *G. Vaginalis*) и поддержания влагалищного гомеостаза [2, 7, 16, 19, 22, 44–46].

При дисбиозе, или бактериальном вагинозе, лактобактерии истощаются и замещаются полимикробным консорциумом микроаэрофильных и анаэробных бактерий [2, 7, 22, 44, 47]. Инфицирование ВПЧ чаще сочетается с нелактобацилярным доминированием в ЦВМ – преобладанием *Atopobium*, *Mycoplasma hominis*, *Haemophilus*, *Gardnerella*, *Sneathia* и *Megasphaera*, *Prevotella*. Развитие CIN обусловлено присутствием *Sneathia*,

Atopobium, *Parvimonas*, *Fusobacterium*, *Anaerococcus*, *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma* spp., *Pseudomonas* spp. [7, 19, 22], РШМ – с нарастанием аэробной флоры, присутствием *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* spp. [20]. Высокий риск инфицирования hrHPV и развития CIN ассоциируется с малочисленностью *L. crispatus*, продуцирующими пептидогликаны, которые активируют клетки Лангерганса, являющиеся важнейшими антиген-представляющими клетками в эпителии шейки матки. *In vivo* установлена сильная связь между активностью клеток Лангерганса и клиренсом ВПЧ, а *L. crispatus* оказался самым распространенным видом *Lactobacillus* у лиц с естественным клиренсом ВПЧ [7, 5, 46]. Клиренс ВПЧ ассоциируется также с *L. gasseri* [22].

Вагинальный дисбиоз сопровождается альтерацией эпителиального барьера вследствие продукции анаэробами сиалидазы, изменяет иммунную и метаболическую сигнализацию, поддерживая продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, активируя ряд сигнальных клеточных путей, в частности путь NF-κB. Он индуцирует нестабильность генома клеток эпителия, ангиогенез, нарушения пролиферации и апоптоза [16, 22, 46]; играет активную роль в прогрессировании опухолевого процесса как при РШМ, так и раке эндометрия и яичников, в том числе через участие в модуляции метаболизма эстрогенов [22].

Всесторонний анализ позволил выявить сигнатуры, связанные с развитием опухолевого процесса и составом цервикальной микрофлоры, а также особенности цервикального микроокружения (иммунные медиаторы, pH влагалища), которые могут способствовать персистенции ВПЧ, развитию предраковых поражений и прогрессированию рака [16, 19, 22, 47–50]. В ряде работ продемонстрирована критическая роль ЦВМ в модуляции цервикальных иммунных ответов и даже восприимчивости хозяина к ВИЧ [7]. Потенции LSIL (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) и HSIL тесно коррелируют с функциональным состоянием иммунной системы, в частности Т- и В-лимфоцитами, дендритными клетками, НК-клетками и макрофагами [6, 46]. Истощение Т-клеток, помогающее опухоли избежать иммунной системы хозяина, фенотипически характеризуется коэкспрессией иммунных ингибирующих рецепторов, или иммунных контрольных точек, постепенной утратой пролиферации, секреции цитокинов и цитолитической активности.

При РШМ наиболее перспективными иммунными контрольными точками являются PD-1 (запрограммированный белок клеточной смерти 1)

и CTLA-4 (цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген-4) [6]. При HSIL иммунное микроокружение характеризуется отсутствием интраэпителиальных CD3+, CD4+, и CD8+ Т-клеточных инфильтратов и клеток Лангерганса по сравнению с нормальным эпителием и увеличением количества CD25+FoxP3+ регуляторных Т-клеток (Tregs) и CD163+ M2-макрофагов. Спонтанная же регрессия HSIL ассоциируется с низким количеством Treg, нарастающим количеством внутриэпителиальных CD8+ Т-клеток и высоким соотношением CD4+/CD25+ Т-клеток [46].

L. crispatus могут подавлять рост анаэробов и активировать клетки Лангерганса, понижая уровень факторов, связанных с нарушением эпителиального барьера (сиалидаза и биопленка анаэробов) и подавлением иммунитета через влияние на Treg, Th2, Th17-клетки, IL-10, IL-17 и TGFβ. При этом повышается экспрессия биомаркеров активированных клеток Лангерганса – антигенсвязывающего лангерина и TLR9, антигенпрезентирующих CD1a и MHC-I, костимуляторных молекул CD80/86 и CD40, а также CMI-ассоциированных молекул (цитотоксические Т-лимфоциты, Th1, IFNγ, TNFα) [7].

В целом действие ЦВМ на цервикальный канцерогенез представляет собой сложный и до конца пока не ясный процесс, связанный, вероятно, с обеспечением различных ферментативных механизмов и метаболических путей, участвующих в защите эпителия, удалении токсинов, стимулировании и регулировании иммунной системы, что делает ЦВМ мишенью для разработки инновационных терапевтических подходов на основе использования микробных продуктов в качестве активаторов иммунитета, в частности при ВПЧ-инфекции [7, 16, 44, 46].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, современные знания в области биологии рака свидетельствуют, что несмотря на тесную связь РШМ с hr HPV, важнейшую роль в цервикальном канцерогенезе играют разнообразные эпигенетические события, регулирующие клеточный цикл, определяющие стабильность хромосом, активацию теломер и апоптоза, функционально тесно связанные с состоянием цервикальной микрофлоры и иммунной системы. Расширение представлений о важнейших механизмах цервикального канцерогенеза определяет как разнообразие диагностических и прогностических маркеров, так и потенциально возможных путей лечения РШМ, в частности базирующихся на использовании знаний о регуляторных микроРНК, маркерах CSCs и состоянии цервикальной микрофлоры.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Wilailak S., Kengsakul M., Kehoe S. Worldwide initiatives to eliminate cervical cancer. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2021;155(1):102–106. DOI: 10.1002/ijgo.13879.
- Bhatla N., Aoki D., Sharma D.N., Sankaranarayanan R. Cancer of the cervix uteri. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2018;143(2):22–36. DOI: 10.1002/ijgo.12611.
- Lin M., Ye M., Zhu X. Recent advances on the molecular mechanism of cervical carcinogenesis based on systems biology technologies. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2019;17:241–250. DOI: 10.1016/j.csbj.2019.02.001.
- Fiore R.D., Suleiman S., Drago-Ferrante R., Subbannayya Y., Pentimalli F., Giordano A. et al. Cancer Stem Cells and Their Possible Implications in Cervical Cancer: A Short Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(9):5167. DOI: 10.3390/ijms23095167.
- Mendoza-Almanza G., Ortiz-Sánchez E., Rocha-Zavaleta L., Rivas-Santiago C., Esparza-Ibarra E., Olmos J. Cervical cancer stem cells and other leading factors associated with cervical cancer development. *Oncol. Lett.* 2019;18(4):3423–3432. DOI: 10.3892/ol.2019.10718.
- Guo L., Hua K. Cervical cancer: emerging immune landscape and treatment. *Onco. Targets Ther.* 2020;12(13):8037–8047. DOI: 10.2147/OTT.S264312.
- Dai W., Du H., Li S., Wu R. Cervicovaginal microbiome factors in clearance of human papillomavirus Infection. *Front. Oncol.* 2021;11:722639. DOI: 10.3389/fonc.2021.722639.
- Chhabra R. Cervical cancer stem cells: opportunities and challenges. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2015;141(11):1889–1897. DOI: 10.1007/s00432-014-1905-y.
- Huang R., Rofstad E.K. Cancer stem cells (CSCs), cervical CSCs and targeted therapies. *Oncotarget.* 2017;8(21):35351–35367. DOI: 10.18632/oncotarget.10169
- Zhao Z., Wang Y., Wu Y., Li D., Zhang T., Ma Y. et al. Single-cell analysis defines the lineage plasticity of stem cells in cervix epithelium. *Cell Regen.* 2021;10(1):36. DOI: 10.1186/s13619-021-00096-2.
- Ortiz-Sánchez E., Santiago-López L., Cruz-Domínguez V.B., Toledo-Guzmán M.E., Hernandez-Gueto D., Muñiz-Hernández S. et al. Characterization of cervical cancer stem cell-like cells: phenotyping, stemness, and human papilloma virus co-receptor expression. *Oncotarget.* 2016;7(22):31943–31954. DOI: 10.18632/oncotarget.8218.
- Senapati R., Senapati N.N., Dwibedi B. Molecular mechanisms of HPV mediated neoplastic progression. *Infect. Agent. Cancer.* 2016;11(1):59. DOI: 10.1186/s13027-016-0107-4.
- Soto D., Song C., McLaughlin-Drubin M.E. Epigenetic alterations in human papillomavirus-associated cancers. *Virus-es.* 2017;9(9):248. DOI: 10.3390/v9090248.
- Da Silva M.L.R., De Albuquerque B.H.D.R., Allyrio T.A.M.F., De Almeida V.D., Cobucci R.N.O., Bezerra F.L. et al. The role of HPV-induced epigenetic changes in cervical carcinogenesis (Review). *Biomed. Rep.* 2021;15(1):60. DOI: 10.3892/br.2021.1436.
- Bañuelos-Villegas E.G., Pérez-yPérez M.F., Alvarez-Salas L.M. Cervical cancer, papillomavirus, and miRNA dysfunction. *Front. Mol. Biosci.* 2021;8:758337. DOI: 10.3389/fmolb.2021.758337.
- Castanheira C.P., Sallas M.L., Nunes R.A.L., Lorenzi N.P.C., Termini L. Microbiome and cervical cancer. *Pathobiology.* 2021;88(2):187–197. DOI: 10.1159/000511477.
- Lee S.A., Baik S., Chung S.H. Functional roles of female sex hormones and their nuclear receptors in cervical cancer. *Essays Biochem.* 2021;65(6):941–950. DOI: 10.1042/EBC20200175.
- Baik S., Mehta F.F., Unsal E., Park Y., Chung S.H. Estrogen inhibits epithelial progesterone receptor-dependent progestin therapy efficacy in a mouse model of cervical cancer. *Am. J. Pathol.* 2022;192(2):353–360. DOI: 10.1016/j.ajpath.2021.10.008.
- Klein C., Gonzalez D., Samwel K., Kahesa C., Mwaiselage J., Aluthge N. et al. Relationship between the Cervical Microbiome, HIV Status, and Precancerous Lesions. *mBio.* 2019;10(1):e02785-18. DOI: 10.1128/mBio.02785-18.
- Manzanares-Leal G.L., Coronel-Martínez J.A., Rodríguez-Morales M., Rangel-Cuevas I., Bustamante-Montes L.P., Sandoval-Trujillo H. et al. Preliminary identification of the aerobic cervicovaginal microbiota in Mexican women with cervical cancer as the first step towards metagenomic studies. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2022;12:838491. DOI: 10.3389/fcimb.2022.838491.
- Martinez-Rodriguez F., Limones-Gonzalez J.E., Mendoza-Almanza B., Esparza-Ibarra E.I., Gallegos-Flores P.I., Ayla-Lujan J.A. et al. Understanding cervical cancer through proteomics. *Cells.* 2021;10(8):1854. DOI: 10.3390/cells10081854.
- Łaniewski P., İlhan Z.E., Herbst-Kralovetz M.M. The microbiome and gynaecological cancer development, prevention and therapy. *Nat. Rev. Urol.* 2020;17(4):232–250. DOI: 10.1038/s41585-020-0286-z.
- Revathidevi S., Murugan A.K., Nakaoka H., Inoue I., Munirajan A.K. APOBEC: A molecular driver in cervical cancer pathogenesis. *Cancer Lett.* 2021;496:104–116. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.10.004.
- Kamal M., Lameiras S., Deloger M., Morel A., Vacher S., Lecerf C. et al. Human papilloma virus (HPV) integration signature in Cervical Cancer: identification of MACROD2 gene as HPV hot spot integration site. *Br. J. Cancer.* 2021;124(4):777–785. DOI: 10.1038/s41416-020-01153-4.
- Salvesen H.B. The cancer genome atlas research network. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. *Nature.* 2017;543(7645):378–384. DOI: 10.1038/nature21386.
- Organista-Nava J., Gómez-Gómez Y., Garibay-Cerdenares O.L., Leyva-Vázquez M.A., Illades-Aguir B. Cervical cancer stem cell-associated genes: prognostic implications in cervical cancer. *Oncol. Lett.* 2019;18(1):7–14. DOI: 10.3892/ol.2019.10307.
- Кечерюкова М.М., Снежко А.В., Вереникина Е.В., Меньшенинина А.П., Адамян М.Л., Арджа А.Ю. и др. Комплексная молекулярная характеристика рака шейки матки: маркеры метастазирования. *Современные проблемы науки и образования.* 2020;2. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29769> (дата обращения: 23.09.2021).
- Yu X., Xu J., Xu D., Bi X., Wang H., Lu Y. et al. Comprehensive analysis of the carcinogenic process, tumor microenvironment, and drug response in HPV-positive cancers. *Front. Oncol.* 2022;12:842060. DOI: 10.3389/fonc.2022.842060.

29. Olusola P., Banerjee H.N., Philley J.V., Santanu Dasgupta S. Human papilloma virus-associated cervical cancer and health disparities. *Cells*. 2019;8(6):622. DOI: 10.3390/cells8060622.
30. Mens M.M.J., Ghanbari M. Cell cycle regulation of stem cells by microRNAs. *Stem. Cell Rev. Rep.* 2018;14(3):309–322. DOI: 10.1007/s12015-018-9808-y.
31. Li Y., Tollefsbol T.O. Age-related epigenetic drift and phenotypic plasticity loss: implications in prevention of age-related human diseases. *Epigenomics*. 2016;8(12):1637–1651. DOI: 10.2217/epi-2016-0078.
32. Shen S., Zhang S., Liu P., Wang J., Du H. Potential role of microRNAs in the treatment and diagnosis of cervical cancer. *Cancer Genet.* 2020;248–249:25–30. DOI: 10.1016/j.cancergen.2020.09.003.
33. Causin R.L., Silva L.S., Evangelista A.F., Leal L.F., Souza K.C.B., Pessôa-Pereira D. et al. MicroRNA biomarkers of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in liquid biopsy. *Biomed Res. Int.* 2021;2021:6650966. DOI: 10.1155/2021/6650966.
34. Zheng M., Hou L., Ma Y., Zhou L., Wang F., Cheng B. et al. Exosomal let-7d-3p and miR-30d-5p as diagnostic biomarkers for non-invasive screening of cervical cancer and its precursors. *Mol. Cancer*. 2019;18(1):76. DOI: 10.1186/s12943-019-0999-x.
35. Babion I., Jaspers A., van Splunter A.P., van der Hoorn I.A.E., Wilting S.M., Steenbergen R.D.M. miR-9-5p exerts a dual role in cervical cancer and targets transcription factor TWIST1. *Cells*. 2019;9(1):65. DOI: 10.3390/cells9010065.
36. Babion I., Miok V., Jaspers A., Huseinovic A., Steenbergen R.D.M., van Wieringen W.N., Wilting S.M. Identification of deregulated pathways, key regulators, and novel miRNA-mRNA interactions in HPV-mediated transformation. *Cancers (Basel)*. 2020;12(3):700. DOI: 10.3390/cancers12030700.
37. Zhao Z., Wang Y., Wu Y., Li D., Zhang T., Ma Y. et al. Single-cell analysis defines the lineage plasticity of stem cells in cervix epithelium. *Cell Regen.* 2021;10(1):36. DOI: 10.1186/s13619-021-00096-2.
38. Lim J.R., Mouawad J., Gorton O.K., Bubb W.A., Kwan A.H. Cancer stem cell characteristics and their potential as therapeutic targets. *Med. Oncol.* 2021;38(7):76. DOI: 10.1007/s12032-021-01524-8.
39. Oshimori N. Cancer stem cells and their niche in the progression of squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2020;111(11):3985–3992. DOI: 10.1111/cas.14639.
40. Sudhalkar N., Rathod N.P., Mathews A., Chopra S., Sriram H., Shrivastava S.K. et al. Potential role of cancer stem cells as biomarkers and therapeutic targets in cervical cancer. *Stem. Cell Rev. Rep.* 2018;14(3):309–322. DOI: 10.1007/s12015-018-9808-y.
41. Campo L., Zhang C., Breuer E.-K. EMT-inducing molecular factors in gynecological cancer. *Biomed. Res. Int.* 2015;2015:420891. DOI: 10.1155/2015/420891.
42. Gonzalez D.M., Medici D. Signaling mechanisms of the epithelial–mesenchymal transition. *Science Signaling*. 2014;7(344):re8. DOI: 10.1126/scisignal.2005189.
43. Ye X., Weinberg R.A. Epithelial–mesenchymal plasticity: a central regulator of cancer progression. *Trends Cell Biol.* 2015;25(11):675–686. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.012.
44. Tango C.N., Seo S.S., Kwon M. et al. Taxonomic and functional differences in cervical microbiome associated with cervical cancer development. *Sci Rep.* 2020;10(1):9720. DOI: 10.1038/s41598-020-66607-4.
45. Kaelin E.A., Skidmore P.T., Łaniewski P., Holland L.A., Chase D.M., Herbst-Kralovetz M.M. et al. Cervicovaginal DNA virome alterations are associated with genital inflammation and microbiota composition. *mSystems*. 2022;7(2):e0006422. DOI: 10.1128/msystems.00064-22.
46. Muntinga C.L.P., Vos van Steenwijk P.J., Bekkers R.L.M., van Esch E.M.G. Importance of the immune microenvironment in the spontaneous regression of cervical squamous intraepithelial lesions (CSIL) and implications for immunotherapy. *J. Clin. Med.* 2022;11(5):1432. DOI: 10.3390/jcm11051432.
47. Lin W., Zhang Q., Chen Y., Dong B., Xue H., Lei H. et al. Changes of the vaginal microbiota in HPV infection and cervical intraepithelial neoplasia: a cross-sectional analysis. *Sci. Rep.* 2022;12(1):2812. DOI: 10.1038/s41598-022-06731-5.
48. Bokulich N.A., Łaniewski P., Adamov A., Chase D.M., Caporaso J.G., Herbst-Kralovetz M.M. Multi-omics data integration reveals metabolome as the top predictor of the cervicovaginal microenvironment. *PLoS Comput. Biol.* 2022;18(2):e1009876. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1009876.
49. Curty G., de Carvalho P.S., Soares M.A. The role of the cervicovaginal microbiome on the genesis and as a biomarker of premalignant cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;21(1):222. DOI: 10.3390/ijms21010222.
50. Yang L., Yang Y., Meng M., Wang W., He S., Zhao Y. et al. Identification of prognosis-related genes in the cervical cancer immune microenvironment. *Gene*. 2021;766:145119. DOI: 10.1016/j.gene.2020.145119.

Информация об авторах

Наумова Людмила Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии и общей патологии, Медицинский институт, СурГУ, ХМАО – Югра, г. Сургут, naumoval@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1145-3710>

Стародумова Валентина Анатольевна – аспирант, кафедра патофизиологии и общей патологии, Медицинский институт, СурГУ, ХМАО – Югра, г. Сургут, starodumovav@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8362-0608>

(✉) **Наумова Людмила Алексеевна**, naumoval@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.06.2022;
одобрена после рецензирования 30.08.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.132.2-089.86-06-055.2

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-156-164>

Хирургическая реваскуляризация у женщин: фокус на факторы, ухудшающие прогноз

Серебрякова В.Н., Кавешников В.С., Кузьмичкина М.А.

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

РЕЗЮМЕ

В прошедшие годы отмечается рост количества женщин, перенесших операцию коронарного шунтирования (КШ). Хотя данные о влиянии пола на исходы операции неоднозначны, в ряде публикаций сообщается о менее благоприятных результатах КШ у женщин. Целью данной работы явился анализ литературы в отношении факторов, ухудшающих краткосрочный и долгосрочный прогнозы у женщин, подвергнутых хирургической реваскуляризации миокарда.

Гендерные различия в ранних исходах КШ в значительной мере объясняются особенностями распределения между полами исходных клинических характеристик. У женщин, по сравнению с мужчинами, КШ осуществляется в более старшем возрасте, и они имеют более отягощенный профиль факторов риска (ФР) сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), коморбидной нагруженности, структурно-функциональной патологии сердца и поражения коронарных артерий (КА). В отдельных случаях у женщин реже, чем у мужчин, осуществляется полная реваскуляризация миокарда, чаще используются венозные шунты, реже в качестве кондуита используется левая маммарная артерия. Кроме исходных клинических характеристик менее благоприятному отдаленному прогнозу после КШ у женщин могут способствовать более высокая частота периоперационного инфаркта миокарда (ИМ), более высокая распространенность тревоги и депрессии, менее высокий уровень качества жизни и социальной адаптации, а также меньшая вовлеченность женщин в реабилитационные программы по сравнению с мужчинами.

Существует потребность в дополнительном информировании врачей относительно особенностей течения ССЗ и анатомо-хирургических аспектов КШ у женщин. Также необходимо повышение осведомленности пациентов в вопросах коррекции ФР, привлечение их к участию в обучающих технологиях. Рекомендации по диагностике и лечению ССЗ целесообразно разрабатывать с учетом пола. Также необходимы дальнейшие исследования, направленные на разработку и практическое внедрение поло-специфических моделей прогнозирования хирургического риска. Долгосрочное наблюдение целесообразно у женщин с недавним ИМ и сахарным диабетом в анамнезе. Существенное значение имеет компенсация коморбидных состояний. Для улучшения клинических результатов КШ у женщин необходимо дальнейшее развитие подходов, способствующих осуществлению более полной реваскуляризации, а также снижению частоты периоперационных осложнений, таких как ИМ и пневмония. Больше ответов на вопросы относительно гендерных различий в отдаленных исходах КШ может быть получено при анализе дальнейших исследований с участием большего числа пациентов женского пола.

Ключевые слова: коронарное шунтирование, женский пол, женщины, осложнения, предикторы, прогноз

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Для цитирования: Серебрякова В.Н., Кавешников В.С., Кузьмичкина М.А. Хирургическая реваскуляризация у женщин: фокус на факторы, ухудшающие прогноз. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):156–164. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-156-164>.

Surgical revascularization in women: focus on factors worsening the prognosis

Serebryakova V.N., Kaveshnikov V.S., Kuzmichkina M.A.

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

ABSTRACT

In recent years, there has been an increase in the number of women undergoing coronary artery bypass grafting (CABG). Although the evidence of gender effects on outcomes is controversial, a number of publications have reported less favorable outcomes of CABG in women. The aim of this paper was to review the literature regarding factors that worsen short- and long-term prognosis in women undergoing surgical myocardial revascularization.

Gender differences in early outcomes of CABG are largely explained by gender distribution of baseline clinical characteristics. Women, compared to men, undergo CABG at an older age and have a worse profile of cardiovascular disease (CVD) risk factors (RF), comorbidity burden, structural and functional cardiac pathology, and coronary lesions. In women, complete myocardial revascularization is less frequent than in men, venous shunts are used more frequently, and the left internal mammary artery is less frequently used as a conduit. In addition to the baseline characteristics, higher incidence of perioperative myocardial infarction (MI), higher prevalence of anxiety and depression, lower quality of life and social adaptation after CABG, and lower involvement of women in rehabilitation programs, compared to men, may contribute to a less favorable long-term prognosis after CABG in women.

There is a need for more information for physicians about the specifics of CVDs and anatomical and surgical aspects of CABG in women. It is also necessary to raise patients' awareness of RF correction and to involve them in educational technologies. Recommendations for diagnosis and treatment of CVDs should be developed taking into account gender. Further research is also required to develop and implement sex-specific models for predicting surgical risks. Long-term follow-up is appropriate in women with recent MI and a history of diabetes mellitus. To further improve clinical outcomes of CABG in women, development of approaches that facilitate more complete revascularization and reduce the incidence of perioperative complications, such as MI and pneumonia, is needed. More answers to questions regarding gender differences in long-term outcomes of CABG may be obtained by analyzing further studies involving a larger number of female patients.

Keywords: coronary artery bypass grafting, female sex, women, complications, predictors, prognosis

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

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

For citation: Serebryakova V.N., Kaveshnikov V.S., Kuzmichkina M.A. Surgical revascularization in women: focus on factors worsening the prognosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):156–164. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-156-164>.

ВВЕДЕНИЕ

Общеизвестно, что сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из ведущих причин смерти, в частности среди женщин, и продолжают быть предметом пристального внимания ученых. Понимание потенциального влияния пола на развитие не только самих ССЗ, но и их осложнений имеет в настоящее время первостепенное значение для

устранения гендерных различий в подходах к диагностике и лечению данной группы заболеваний. Характерной особенностью ишемической болезни сердца (ИБС) является то, что данная патология имеет клинические проявления преимущественно у пациентов в возрасте старше 40 лет. Развитие многих хронических заболеваний (мультиморбидность) с возрастом объясняется инволюционными процессами, а детерминированная возможность их сочетания

(коморбидность) остается весьма актуальной проблемой для научных изысканий как среди мужчин, так и среди женщин [1–3].

Одним из наиболее эффективных методов улучшения отдаленного прогноза и качества жизни (КЖ) больных с тяжелой формой ИБС является коронарное шунтирование (КШ) [4]. Ежегодно в мире выполняется около 1 млн КШ среди пациентов с хронической ИБС. Обращают на себя внимание неоднократные сообщения о менее благоприятном ближайшем и отдаленном прогнозе после перенесенного КШ у женщин [5–7]. Предикторы, влияющие на ближайший и отдаленный исход операции, активно изучаются на протяжении последних десятилетий. Вместе с тем факторы, объясняющие гендерную разницу в исходе оперативного лечения ИБС, на сегодняшний день окончательно не определены. Целью данной работы явился анализ литературы на предмет факторов, объясняющих гендерные различия ближайшего и отдаленного прогноза после перенесенной операции КШ.

Согласно научным данным, смертность от ИБС среди женщин выше, чем у мужчин и составляет 23 и 21% соответственно [8]. По данным общества торакальных хирургов США, в ходе исследования у 344 913 пациентов, перенесших КШ, установлена более высокая частота операционной смертности среди женщин (4,5% vs 2,6% у мужчин, $p < 0,001$) [9]. Результаты других исследований также подтверждают данную точку зрения. Так, в крупном метаанализе отмечено, что послеоперационная смертность была существенно выше у женщин, чем у мужчин (относительный риск (ОР) = 1,77; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,67–1,88) [10].

При выполнении операции КШ в условиях искусственного кровообращения (ИК) госпитальная летальность среди женщин также выше по сравнению с прооперированными мужчинами. М. Alam и соавт. выявили более высокую смертность среди женщин по сравнению с мужчинами не только в краткосрочной, но и в средне- и долгосрочной перспективе после КШ [10]. Менее благоприятный отдаленный прогноз у женщин после КШ подтверждают и другие работы [6, 11–13]. В то же время анализ случаев КШ в период с 2003 по 2015 г. показал, что 30-дневная выживаемость у женщин (средний возраст 67 лет) была ниже, а вот долгосрочная выживаемость, напротив, была выше, чем у прооперированных мужчин (средний возраст 64 года) [14]. J.F. ter Woort и соавт. отмечают менее высокие показатели отдаленной смертности (120 дней) у женщин после КШ, выполненного без использования ИК, по сравнению с традиционной методикой реваскуляризации. У мужчин подобной разницы не выявлено [15]. Схожая

закономерность ранее выявлена в работе S.P. Fu и соавт. [16].

Несмотря на то, что разработаны критерии отбора пациентов на оперативное вмешательство, госпитальные осложнения сохраняют свою актуальность в кардиохирургической практике. Наиболее частыми осложнениями в данном аспекте являются периперационный инфаркт миокарда (ИМ), неврологические и инфекционные осложнения, системный воспалительный ответ, а также развитие почечной недостаточности и различных аритмий [17–20]. В ряде исследований отмечается, что госпитальная летальность и более высокая доля грозных осложнений (ИМ, инсульт, острое повреждение почек с развитием почечной недостаточности) после вмешательства характерны в большей степени для женского пола [21–23]. У женщин чаще рецидивирует стенокардия, отмечается более высокая частота интраоперационного ИМ, острой сердечной недостаточности или декомпенсации хронической соответственно [24, 25]. В отдаленном периоде после КШ у женщин чаще, чем у мужчин наблюдались повторные госпитализации по поводу ИМ и застойной сердечной недостаточности, но выживаемость не отличалась от мужчин [26].

Вместе с тем в доступной литературе встречаются данные, не подтверждающие прогностическую роль гендерного фактора. Так, в исследовании C.R. Nerman и соавт. [27] при оценке непосредственных результатов кардиохирургических операций не выявлено гендерного влияния на развитие комплексной конечной точки (инфекция, инсульт, острая почечная недостаточность, летальный исход). Среди сопоставимых по возрасту пациентов моложе 65 лет смертность в зависимости от пола не демонстрировала статистически значимых различий [28]. Другие авторы отмечают, что периперационная смертность среди женщин была не выше, чем у мужчин, а различия в непосредственных результатах КШ касались только инфекционных раневых, неврологических осложнений, частоты рестернотомий и длительности стационарного лечения [29]. В ряде работ показано, что гендерный эффект не оказывал существенного влияния и на долгосрочный прогноз [30, 31]. Таким образом, данные о влиянии пола на ближайший и отдаленный прогноз после КШ неоднозначны: в части исследований прогностические показатели у женщин не отличаются от таковых у мужчин, в других – демонстрируют менее благоприятные тенденции.

Из факторов, потенциально влияющих на гендерные различия исходов КШ, прежде всего, рассмотрим влияние возраста. По результатам многочисленных исследований установлено, что мужчины в 3 раза чаще подвергаются КШ, чем женщины, что

обусловлено более ранним дебютом ИБС [9]. Однако ситуация меняется с возрастом: среди пациентов – кандидатов на КШ в возрасте старше 65 лет отмечается преобладание женщин [32]. По данным отечественных и зарубежных исследователей, женщины поступают на оперативное лечение ИБС в более старшем возрасте, чем мужчины [33–35]. Также примечательно, что максимальные гендерные различия по частоте развития ИМ и других сердечно-сосудистых осложнений в большинстве исследований выявляются в относительно раннем возрасте и значительно снижаются после 65 лет.

Исследование, проведенное в Германии, показало наличие взаимосвязи между полом, возрастом и ранней смертностью после хирургического вмешательства на коронарной артерии (КА). Выявлено, что в группе молодых женщин в возрасте до 50 лет послеоперационная смертность была в 2,4 раза выше, чем у мужчин, в то время как у 80-летних женщин смертность была сходна с мужчинами такого же возраста [36]. В другой работе, однако, наибольшая гендерная разница в отношении ранней смертности после КШ (180 дней) отмечалась в возрастной группе 70–79 лет с более высокими показателями у женщин [5]. При этом разница между полами в отношении риска госпитальной смертности нивелировалась после поправки на гендерные различия в распределении предоперационных факторов риска (ФР). Аналогичная возрастная закономерность выявлена в работе американских коллег, показавших, что госпитальная смертность выше у женщин, чем у мужчин во всех возрастных группах, однако наиболее она выражена среди пациентов моложе 50 лет (3,4% против 1,1%) [37].

Аналогичные различия были отмечены среди пациентов в возрасте от 50–59 лет – вероятность смерти среди женщин была в 2,4 раза выше (2,6% против 1,1%) [37]. В более старших возрастных категориях данные различия были менее выражены ($p < 0,001$). Также не выявлено гендерных различий в отношении раннего прогноза после КШ среди лиц 70–84 лет в рамках обсервационного исследования, представленного турецкими кардиологами, с участием 223 пациентов [38]. Таким образом, выраженность гендерных различий в отношении ближайшего прогноза после КШ в значительной мере зависит от возраста. Сообщаемые возрастные пределы максимального гендерного эффекта неоднозначны, но вместе с тем отмечена тенденция к наиболее выраженным различиям в зависимости от пола среди относительно молодых пациентов и постепенным снижением по мере приближения к возрасту 80 лет и старше.

Характерной особенностью клинических проявлений ИБС у женщин является значительная тяжесть симптомов заболевания [39, 40]. Женщины, которым впоследствии проводится КШ, обращаются к хирургическому вмешательству с более выраженными симптомами ИБС, более высоким классом неотложности кардиохирургического вмешательства [6]. Не исключается возможность систематических задержек в распознавании и диагностике тяжести ИБС у женщин, влекущих за собой менее благоприятный исход КШ [6, 41]. Этому, в свою очередь, может способствовать ряд факторов: у женщин чаще выявляется атипичное течение ИБС, ниже чувствительность неинвазивных методов диагностики данного заболевания, реже выполняется диагностическая ангиография, реже выявляется стенозирующий коронарный атеросклероз, ИБС развивается на 7–10 лет позже, чем у мужчин [42]. Однако американскими исследователями показано, что если женщины поступают на КШ в достаточно ранние сроки, то это позволяет улучшить как непосредственные результаты операции, так и КЖ в более поздние сроки после нее [43].

Следует также отметить, что до 2013 г. использовалась классическая анатомическая шкала риска EuroSCORE (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation). Безусловно, данная шкала помогала в выборе оптимального метода реваскуляризации, так как она позволяла определить пациентов с высоким риском неблагоприятных событий после чрескожного вмешательства. Данная шкала имела существенный недостаток – она не учитывала клинические показатели и пол. Этот недостаток был исправлен при разработке новой шкалы – EuroSCORE II, что позволило оценивать хирургический риск КШ с учетом ассоциированной с полом сопутствующей патологии [13].

Менее благоприятные исходы КШ у женщин отчасти объясняются гендерными различиями в распространенности основных ФР ССЗ. Известно, что распространенность ФР, ведущих к развитию ССЗ, также неодинакова среди мужчин и женщин. Так, по данным эпидемиологического анализа, половые различия обнаруживаются как по показателям сердечно-сосудистой смертности, так и по распространенности ведущих ФР ССЗ – курение, ожирение, сахарный диабет (СД) [44]. У мужчин преобладающими ФР ИБС являются курение, возраст, артериальная гипертензия, высокий уровень липопротеидов низкой плотности, у женщин – возраст, избыточная масса тела, СД, высокий уровень триглицеридов соответственно. Женщины с высоким уровнем триглицеридов демонстрируют менее благоприятные показатели долгосрочной выживаемости (ОР 1,5; 95%-й

ДИ 1,1–2,1), по сравнению с мужчинами с высокими уровнями триглицеридов (ОР 1,1; 95%-й ДИ 0,9–1,3) [45]. В ряде работ сообщается о более высокой распространенности ожирения, СД и артериальной гипертензии у женщин, подвергающихся КШ [6, 46].

Более высокая частота осложнений после КШ у женщин в значительной мере объясняется более отягощенным, по сравнению с мужчинами, коморбидным фоном [33, 43, 47]. Важными факторами ранней смертности после операции КШ у женщин являются предшествующие ИМ и острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) [36]. Более высокая частота встречаемости ОНМК в анамнезе у женщин предсказуема, так как установлено, что среди них, по сравнению с мужчинами, в 1,5–2 раза чаще дебютом ССЗ является цереброваскулярное событие (инсульт и транзиторная ишемическая атака) [9, 48].

В исследовании V. Vaccarino и соавт. отмечено, что женщины, направляемые на КШ, в предоперационном периоде чаще имели в анамнезе нестабильную стенокардию и застойную сердечную недостаточность [35]. В нескольких исследованиях сообщалось о значительно более высокой распространенности у женщин сопутствующих заболеваний, таких как СД, хроническая болезнь почек, хронические заболевания легких [46]. По данным американской группы исследователей, среди женщин, которым было выполнено КШ, чаще встречалась нестабильная стенокардия и более высокий класс стенокардии, они чаще страдали застойной сердечной недостаточностью, хотя фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) значимо не различалась в зависимости от пола [35].

Полагают, что часть периоперационных рисков у женщин исходит из механизмов гормональной регуляции, различной у мужчин и женщин. До периода менопаузы у женщин защитную роль в предупреждении развития коронарного атеросклероза играет эстроген, реализующий кардиопротективный эффект через специфические эстрогеновые рецепторы [49]. С наступлением менопаузы потеря данного защитного компонента приводит к каскаду патологических процессов – ухудшению эндотелиальной функции, повышению системной резистентности сосудов, активации тромбоцитарного звена гемостаза, склонности к агрегации тромбоцитов [50, 51]. Дефицит эстрогена у женщин молодого возраста в 7 раз повышает риск ИБС. Эстроген-заместительная терапия в период постменопаузы не демонстрирует протективного действия. У оперируемых женщин наблюдаются более частые нарушения микроциркуляции, что связывают с гормональной недостаточностью и более высокой, по сравнению с мужчинами, распространенностью СД [52]. Также для лиц жен-

ского пола характерна гиперчувствительность сосудов к серотонину, что также рассматривается как причинный фактор развития неблагоприятных событий после КШ [53].

Важное место среди предикторов ближайшего и отдаленного прогноза после КШ занимают исходные параметры, отражающие структурно-функциональное состояние сердца и коронарного русла. Традиционно к предикторам ранних послеоперационных осложнений относятся ФВ ЛЖ < 50% и степень стенозирования крупных КА > 70% [9]. По сравнению с мужчинами, у женщин, подвергающихся КШ, чаще наблюдается низкая ФВ ЛЖ [35] и выявляются более выраженные изменения коронарного русла [36].

На прогноз после КШ могут влиять анатомические и операционные факторы. В частности, по сравнению с мужчинами КА у женщин имеют меньше диаметр и чаще бывают извитыми, что может затруднять осуществление более полной реваскуляризации. В своей работе O'Connor с соавт. установили, что диаметр передней нисходящей артерии менее 1,5 мм увеличивал риск внутрибольничной смертности [36]. Сообщается, что у женщин в ходе операции КШ накладывается меньше дистальных анастомозов, чаще используют венозные шунты, реже в качестве кондуита используется левая маммарная артерия. При этом различий между полами по отдаленной проходимости артериальных шунтов не отмечается, в то время как в отношении венозных шунтов у женщин сообщаются более низкие показатели. Причины данных закономерностей продолжают быть предметом дискуссий, в частности, активно обсуждаются анатомические аспекты, уже упомянутые выше. Еще одной особенностью, характерной для женской популяции пациентов, является недостаточное развитие коллатерального кровообращения при тяжелом стенозе или окклюзии КА, особенно при СД и в постменопаузе. Совокупность данных факторов может влиять как на длительность операции, так и на ее непосредственные результаты [5, 6, 39, 40, 52].

Среди факторов, осложняющих прогноз после хирургической реваскуляризации миокарда у женщин, нельзя не отметить психосоциальные переменные и КЖ. По сравнению с мужчинами, у женщин, перенесших КШ, отмечались как более выраженная депрессия, так и менее высокий уровень социальной адаптации. Поскольку среди оперируемых женщин отмечается более выраженная коморбидная нагрузка, у них наблюдаются более низкие показатели КЖ, по сравнению с мужчинами как исходно, так и через 6 мес после вмешательства [35, 54].

Суммируя вышесказанное, можно сделать вывод, что значительная доля гендерных различий в

отношении раннего прогноза после КШ объясняется различиями между мужчинами и женщинами в исходных клинических характеристиках, таких как возраст, распространенность ФР ССЗ и коморбидных состояний, структурно-функциональное состояние сердца, тяжесть поражения коронарного русла. Также на гендерный эффект могут оказывать влияние анатомические и операционные факторы, в отдельных случаях ограничивающие возможность осуществления у женщин полной реваскуляризации миокарда.

Как уже неоднократно отмечалось, гендерная разница госпитальных исходов КШ во многом объясняется различиями между полами в отношении исходных клинических характеристик. Однако ситуация меняется в более отдаленный период, в частности 3–6 мес после вмешательства. В это время, по данным ряда исследований, наблюдается расхождение кривых инцидента клинически значимых исходов с менее благоприятными тенденциями, наблюдаемыми в женской популяции [6, 10–12]. В данные сроки постепенно уменьшается влияние на дальнейший прогноз операционных факторов и наиболее важным вопросом с точки зрения отдаленных исходов КШ является эффективность вторичной профилактики ССЗ [45].

Одним из ключевых подходов к повышению эффективности вторичной профилактики ССЗ после операции КШ является кардиореабилитация. Участие в реабилитационных программах улучшает выживаемость независимо от возраста, пола, формы программы, интенсивности дозируемой физической нагрузки [45]. Вместе с тем, наряду с лицами пожилого возраста и низким социально-экономическим статусом, женщины относятся к специфической популяции, реже направляемой на кардиореабилитацию [55]. Субъективно женщины сравнительно хуже переносят операцию КШ [24], труднее самоорганизуются при лечении ИБС из-за утомляемости, тревожности, депрессии, необходимости уделять внимание домашним делам [56]. Другая проблема состоит в том, что в долгосрочном аспекте женщины меньше мужчин привержены физической активности. Так, через 3 мес после окончания кардиореабилитационной программы 35% женщин прекращают физические тренировки [57]. Данные особенности могут служить потенциальными барьерами, снижающими эффективность вторичной профилактики ССЗ у женщин после перенесенного КШ.

Таким образом, кроме исходных клинических и структурно-функциональных переменных на долгосрочный прогноз после КШ в значительной мере влияет эффективность вторичной профилактики

ССЗ. Менее благоприятное течение отдаленного послеоперационного периода в женской популяции может быть обусловлено более высокой частотой периоперационного ИМ, более высокой распространенностью тревоги и депрессии, более низким уровнем КЖ и социальной адаптации, меньшим, по сравнению с мужчинами, участием в реабилитационных программах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В прошедшие годы отмечается рост количества женщин, перенесших операцию КШ, при этом в ряде публикаций сообщается о менее благоприятных результатах КШ у женщин. В ходе данной работы проведен анализ литературы на предмет факторов, объясняющих такие гендерные различия. Установлено, что межполовые различия в ранних исходах КШ в значительной мере объясняются особенностями распределения между полами исходных клинических характеристик. По сравнению с мужчинами у женщин КШ осуществляется в более старшем возрасте, что во многом объясняет наблюдаемый у них более отягощенный профиль ФР ССЗ, коморбидной нагрузки, структурно-функциональной патологии сердца и поражения КА.

В отдельных случаях у женщин реже, чем у мужчин осуществляется полная реваскуляризация миокарда, чаще используются венозные шунты, реже в качестве кондуита используется левая маммарная артерия. Кроме исходных клинических характеристик менее благоприятному отдаленному прогнозу после КШ у женщин могут способствовать: более высокая частота периоперационного ИМ, более высокая распространенность тревоги и депрессии, менее высокий уровень КЖ и социальной адаптации после КШ, а также меньшая вовлеченность женщин в реабилитационные программы по сравнению с мужчинами.

Таким образом, существует потребность в дополнительном информировании врачей относительно особенностей течения ССЗ и анатомо-хирургических аспектов КШ у женщин. Также необходимо повышение осведомленности пациентов в вопросах коррекции ФР, привлечение их к участию в обучающих технологиях. Рекомендации по диагностике и лечению ССЗ целесообразно разрабатывать с учетом пола. Также необходимы дальнейшие исследования, направленные на разработку и практическое внедрение поло-специфических моделей прогнозирования хирургического риска. Долгосрочное наблюдение целесообразно у женщин с недавним ИМ и СД в анамнезе. Существенное значение имеет компенсация коморбидных состояний. Для дальнейшего улучшения клинических результатов КШ у женщин необхо-

димо развитие подходов, способствующих осуществлению более полной реваскуляризации, а также снижению частоты периоперационных осложнений, таких как ИМ и пневмония. Больше ответов на вопросы относительно гендерных различий в отдаленных исходах КШ может быть получено при анализе дальнейших исследований с участием большего числа пациентов женского пола.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бойцов С.А., Зайратьянц О.В., Андреев Е.М., Самородская И.В. Сравнение показателей смертности от ишемической болезни сердца среди мужчин и женщин старше 50 лет в России и США. *Российский кардиологический журнал*. 2017;22(6):100–107. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-6-100-107.
2. Prados-Torres A., Calderon-Larranaga A., Hancoco-Saavedra J., Poblador-Plou B., van den Akker M. Multimorbidity patterns: a systematic review. *J. Clin. Epidemiol.* 2014;67(3):254–66. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2013.09.021.
3. Гарганеева А.А., Тукиш О.В., Кужелева Е.А., Округин С.А., Кузьмичкина М.А. Портрет пациента с инфарктом миокарда за 30-летний период. *Клиническая медицина*. 2018;96(7):641–647. DOI: 10.18821/0023-2149-2018-96-7-641-647.
4. Gaughan J., Kobel C. Coronary artery bypass grafts and diagnosis related groups: patient classification and hospital reimbursement in 10 European countries. *Health. Econ. Rev.* 2014;4:4. DOI: 10.1186/s13561-014-0004-8.
5. Arif R., Farag M., Gertner V., Szabo G., Weymann A., Veres G., Ruhparwar A. et al. Female gender and differences in outcome after isolated coronary artery bypass graft surgery: Does age play a role? *PLoS. One.* 2016;11(2):e0145371. DOI: 10.1371/journal.pone.0145371.
6. Hassan A., Chiasson M., Buth K., Hirsch G. Women have worse long-term outcomes after coronary artery bypass grafting than men. *Can. J. Cardiol.* 2005;21(9):757–762.
7. Den Ruijter H.M., Haitjema S., van der Meer M.G., van der Harst P., Rouleau J.L., Asselbergs F.W. et al. Long-term outcome in men and women after CABG; results from the IMAGINE trial. *Atherosclerosis*. 2015;241(1):284–288. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.02.039.
8. Crea F., Battipaglia I., Andreotti F. Sex differences in mechanisms, presentation and management of ischaemic heart disease. *Atherosclerosis*. 2015;241(1):157–168. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.04.802.
9. George J., Rapsomaniki E., Pujades-Rodriguez M., Shah A.D., Denaxas S., Herrett E. et al. How does cardiovascular disease first present in women and men? Incidence of 12 cardiovascular diseases in a contemporary cohort of 1,937,360 people. *Circulation*. 2015;132(14):1320–1328. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013797.
10. Alam M., Bhandali S.J., Kayani W.T., Ahmad W., Shahzad S.A., Jneid H. et al. Comparison by meta-analysis of mortality after isolated coronary artery bypass grafting in women versus men. *Am. J. Cardiol.* 2013;112(3):309–17. DOI: 10.1016/j.amjcard.2013.03.034.
11. Эфрос Л.А., Самородская И.В. Факторы, оказывающие влияние на отдаленную выживаемость после коронарного шунтирования (обзор). *Сибирский медицинский журнал (г. Томск)*. 2013;28(2):7–14.
12. Enger T.B., Pleym H., Stenseth R., Greiff G., Wahba A., Videm V. Reduced Long-Term Relative Survival in Females and Younger Adults Undergoing Cardiac Surgery: A Prospective Cohort Study. *PLoS. One.* 2016;11(9):0163754. DOI: 10.1371/journal.pone.0163754.
13. Johnston A., Mesana T.G., Lee D.S., Eddeen A.B., Sun L.Y. Sex Differences in Long-Term Survival After Major Cardiac Surgery: A Population-Based Cohort Study. *J. Am. Heart. Assoc.* 2019;8(17):e013260. DOI: 10.1161/JAHA.119.013260.
14. Nuru A., Weltzien J.A.H., Sandvik L., Tonnessen T., Bjornstad J.L. Short- and long-term survival after isolated coronary artery bypass grafting, the impact of gender and age. *Scand. Cardiovasc. J.* 2019;53(6):342–347. DOI: 10.1080/14017431.2019.1646430.
15. Ter Woort J.F., Hoff A.H.T., Haanschoten M.C., Houterman S., van Straten A.H.M., Soliman-Hamad M.A. Do women benefit more than men from off-pump coronary artery bypass grafting? *Neth. Heart. J.* 2019;27(12):629–635. DOI: 10.1007/s12471-019-01333-9.
16. Fu S.P., Zheng Z., Yuan X., Zhang S.J., Gao H.W., Li Y. et al. Impact of off-pump techniques on sex differences in early and late outcomes after isolated coronary artery bypass grafts. *Ann. Thorac. Surg.* 2009;87(4):1090–1096. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2009.01.039.
17. Григорьев Е.В., Гейзе А.В., Сизова И.Н., Плотников Г.П., Сумин А.Н., Иванов С.В. и др. Варианты подготовки больных ишемической болезнью сердца с низкой фракцией выброса левого желудочка перед коронарным шунтированием. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2012;5(1):88–93.
18. Ter Woort J.F., van Straten A.H.M., Houterman S., Soliman-Hamad M.A. Sex difference in coronary artery bypass grafting: preoperative profile and early outcome. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2019;33(10):2679–2684. DOI: 10.1053/j.jvca.2019.02.040.
19. Gurram A., Krishna N., Vasudevan A., Baquero L.A., Jayant A., Varma P.K. Female gender is not a risk factor for early mortality after coronary artery bypass grafting. *Ann. Card. Anaesth.* 2019;22(2):187–193. DOI: 10.4103/aca.ACA_27_18.
20. Perry A., Chung M.J., Novak E., Krone R., Brown D.L. Development of a risk score to identify patients with type 2 diabetes mellitus and multivessel coronary artery disease who can defer bypass surgery. *Diagn. Progn. Res.* 2019;3:3. DOI: 10.1186/s41512-019-0048-7.
21. Кузьмичкина М.А., Серебрякова В.Н. Инвалидность и возврат к труду среди пациентов, перенесших хирургическую реваскуляризацию миокарда. *Сибирский медицинский журнал (г. Томск)*. 2020;35(2):44–49. DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-2-44-49.
22. Кузьмичкина М.А., Серебрякова В.Н. Реабилитация пациентов, подвергшихся коронарному шунтированию, с позиции восстановления трудоспособности. *Клиническая медицина*. 2020;98(4):266–274. DOI: 10.30629/0023-2149-2020-98-4-266-274.

23. Zhong J., Gao J., Luo J.C., Zheng J.L., Tu G.W., Xue Y. Serum creatinine as a predictor of mortality in patients readmitted to the intensive care unit after cardiac surgery: a retrospective cohort study in China. *J. Thorac. Dis.* 2021;13(3):1728–1736. DOI: 10.21037/jtd-20-3205.
24. Zimmerman L., Barnason S., Hertzog M., Young L., Nieveen J., Schulz P. et al. Gender differences in recovery outcomes after an early recovery symptom management intervention. *Heart. Lung.* 2011;40(5):429–439. DOI: 10.1016/j.hrtlng.2010.07.018.
25. Gaudino M., Samadashvili Z., Hameed I., Chikwe J., Girardi L.N., Hannan E.L. Differences in long-term outcomes after coronary artery bypass grafting using single vs multiple arterial grafts and the association with sex. *JAMA. Cardiol.* 2020;6(4):401–409. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.6585.
26. Nicolini F., Vezzani A., Fortuna D., Contini G.A., Pacini D., Gabbieri D. et al. Gender differences in outcomes following isolated coronary artery bypass grafting: long-term results. *J. Cardiothorac. Surg.* 2016;11(1):144. DOI: 10.1186/s13019-016-0538-4.
27. Herman C.R., Buth K.J., Legare J.F., Levy A.R., Baskett R. Development of a predictive model for major adverse cardiac events in a coronary artery bypass and valve population. *J. Cardiothorac. Surg.* 2013;8:177. DOI: 10.1186/1749-8090-8-177.
28. Bhatt D.L., Eagle K.A., Ohman E.M., Hirsch A.T., Goto S., Mahoney E.M. et al. Comparative determinants of 4-year cardiovascular event rates in stable outpatients at risk of or with atherothrombosis. *JAMA.* 2010;304(12):1350–1357. DOI: 10.1001/jama.2010.1322.
29. Al-Alao B.S., Parissis H., McGovern E., Tolan M., Young V.K. Gender influence in isolated coronary artery bypass graft surgery: a propensity match score analysis of early outcomes. *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2012;60(7):417–424. DOI: 10.1007/s11748-012-0082-7.
30. Алтарев С.С., Поданева Ю.Е., Малышенко Е.С., Иванов С.В., Барбараш О.Л. Факторы риска неблагоприятного долгосрочного прогноза пациентов, перенесших операции коронарного шунтирования. *Сердце: журнал для практикующих врачей.* 2015;14(5(85)):263–272. DOI: 10.18087/rhj.2015.5.2098.
31. Karim M.N., Reid C.M., Huq M., Brilleman S.L., Cochrane A., Tran L. et al. Predicting long-term survival after coronary artery bypass graft surgery. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2018;26(2):257–263. DOI: 10.1093/icvts/ivx330.
32. Albrechtsen G., Heuch I., Lochen M.L., Thelle D.S., Wilsaard T., Njolstad I. et al. Lifelong Gender Gap in Risk of Incident Myocardial Infarction: The Tromsø Study. *JAMA. Intern. Med.* 2016;176(11):1673–1679. DOI: 10.1001/jamainternmed.2016.5451.
33. Duenas M., Ramirez C., Arana R., Failde I. Gender differences and determinants of health related quality of life in coronary patients: a follow-up study. *BMC. Cardiovasc. Disord.* 2011;11:24. DOI: 10.1186/1471-2261-11-24.
34. Эфрос Л.А., Самородская И.В. Особенности структуры и влияние сопутствующих заболеваний на долговременный прогноз после коронарного шунтирования. *Бюллетень НЦССХ им А.Н. Бакулева РАМН. Сердечно-сосудистые заболевания.* 2013;14(1):33–41.
35. Vaccarino V., Lin Z.Q., Kasl S.V., Mattera J.A., Roumanis S.A., Abramson J.L. et al. Krumholz H.M. Gender differences in recovery after coronary artery bypass surgery. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003;41(2):307–314. DOI: 10.1016/s0735-1097(02)02698-0.
36. Regitz-Zagrosek V., Lehmkuhl E., Hoher B., Goesmann D., Lehmkuhl H.B., Hausmann H. et al. Gender as a risk factor in young, not in old, women undergoing coronary artery bypass grafting. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004;44(12):2413–2414. DOI: 10.1016/j.jacc.2004.09.031.
37. Vaccarino V., Abramson J.L., Veledar E., Weintraub W.S. Sex differences in hospital mortality after coronary artery bypass surgery: evidence for a higher mortality in younger women. *Circulation.* 2002;105(10):1176–1181. DOI: 10.1161/hc1002.105133.
38. Yuksel A., Kan I.I., Yolgosteren A., Velioglu Y., Cayr M.C., Gurbuz O. et al. Are the early postoperative outcomes of coronary artery bypass grafting surgery in elderly women worse compared to men's? *Braz. J. Cardiovasc. Surg.* 2016;32(3):191–196. DOI: 10.21470/1678-9741-2016-0071.
39. Norheim A., Segadal L. Relative survival after CABG surgery is poorer in women and in patients younger than 70 years at surgery. *Scand. Cardiovasc. J.* 2011;45(4):247–251. DOI: 10.3109/14017431.2011.582139.
40. Saxena A., Dinh D., Smith J.A., Shardey G., Reid C.M., Newcomb A.E. Sex differences in outcomes following isolated coronary artery bypass graft surgery in Australian patients: analysis of the Australasian Society of Cardiac and Thoracic Surgeons cardiac surgery database. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2012;41(4):755–762. DOI: 10.1093/ejcts/ezr039.
41. Schuchalter Ludmir S., Bental T., Itzhaki Ben Zadok O., Eisen A., Shochat T., Heruti I. et al. Report from a large and comprehensive single-center Women's Health Cardiology Clinic. *Womens. Health (London).* 2021;17:17455065211013767. DOI: 10.1177/17455065211013767.
42. Duda-Pyszny D., Trzeciak P., Gasior M. Coronary artery disease in women. *Kardiochir. Torakochirurgia. Pol.* 2018;15(1):44–48. DOI: 10.5114/kitp.2018.74675.
43. Guzelhan Y., Ugurlucan M., Oztas D.M., Beyaz M.O., Unal O., Bektas N. et al. Anxiety and health-related quality of life after cardiac surgery. *Arch. Med. Sci. Atheroscler. Dis.* 2020;5:e27–e35. DOI: 10.5114/amsad.2020.94376.
44. European Cardiovascular Disease Statistics 2012. Løgstrup S., O'Kelly S., ed. European heart network and European Society of Cardiology; 2012:125.
45. Kulik A., Ruel M., Jneid H., Ferguson T.B., Hiratzka L.F., Ikonomidis J.S. et al. Secondary prevention after coronary artery bypass graft surgery: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2015;131(10):927–964. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000182.
46. Ergunes K., Yilik L., Yetkin U., Lafc B., Bayrak S., Ozpak B., Gurbuz A. Early and mid-term outcomes in female patients undergoing isolated conventional coronary surgery. *J. Cardiovasc. Thorac. Res.* 2014;6(2):105–110. DOI: 10.5681/jcvtr.2014.023.
47. Humphries K.H., Izadnegahdar M., Sedlak T., Saw J., Johnston N., Schenck-Gustafsson K. et al. Sex differences in cardiovascular disease – Impact on care and outcomes.

- Front. Neuroendocrinol.* 2017;46:46–70. DOI: 10.1016/j.yfrne.2017.04.001.
48. Neumann F., Sousa-Uva M., Ahlsson A., Alfonso F., Banning A.P., Benedetto U., Byrne R.A. et al. Рекомендации ESC/EACTS по реваскуляризации миокарда 2018. *Российский кардиологический журнал.* 2019;24(8):151–226. DOI: 10.15829/1560-4071-2019-8-151-226.
49. Puglisi R., Mattia G., Care A., Marano G., Malorni W., Matarrese P. Non-genomic effects of estrogen on cell homeostasis and remodeling with special focus on cardiac ischemia/reperfusion injury. *Front. Endocrinol. (LaUSAnne).* 2019;10:733. DOI: 10.3389/fendo.2019.00733.
50. Roshan T.M., Normah J., Rehman A., Naing L. Effect of menopause on platelet activation markers determined by flow cytometry. *Am. J. Hematol.* 2005;80(4):257–261. DOI: 10.1002/ajh.20472.
51. Bobbert P., Stellbaum C., Steffens D., Schutte C., Bobbert T., Schultheiss H.P. et al. Postmenopausal women have an increased maximal platelet reactivity compared to men despite dual antiplatelet therapy. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2012;23(8):723–728. DOI: 10.1097/MBC.0b013e32835824b3.
52. Di Mauro M., Totaro A., Foschi M., Calafiore A.M. Gender and surgical revascularization: there is a light at the end of the tunnel? *J. Thorac. Dis.* 2018;10(18):S2202–S2205. DOI: 10.21037/jtd.2018.06.145.
53. Lamin V., Jaghoori A., Jakobczak R., Stafford I., Heresztyn T., Worthington M. et al. Mechanisms responsible for serotonin vascular reactivity sex differences in the internal mammary artery. *J. Am. Heart. Assoc.* 2018;7(14):e007126. DOI: 10.1161/JAHA.117.007126.
54. Дворецкий Л.И., Гибрадзе Н.Т., Черкасова Н.А. Ишемическая болезнь сердца у женщин. *РМЖ.* 2011;19(2):79–83.
55. Leon A.S., Franklin B.A., Costa F., Balady G.J., Berra K.A., Stewart K.J. et al. Cardiac rehabilitation and secondary prevention of coronary heart disease: an American Heart Association scientific statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity), in collaboration with the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. *Circulation.* 2005;111(3):369–376. DOI: 10.1161/01.CIR.0000151788.08740.5C.
56. Beckie T.M. A behavior change intervention for women in cardiac rehabilitation. *J. Cardiovasc. Nurs.* 2006;21(2):146–153. DOI: 10.1097/00005082-200603000-00013.
57. Moore S.M., Dolansky M.A., Ruland C.M., Pashkow F.J., Blackburn G.G. Predictors of women's exercise maintenance after cardiac rehabilitation. *J. Cardiopulm. Rehabil.* 2003;23(1):409. DOI: 10.1097/00008483-200301000-00008.

Информация об авторах

Серебрякова Виктория Николаевна – канд. мед. наук, руководитель лаборатории регистров сердечно-сосудистых заболеваний, высокотехнологичных вмешательств и телемедицины, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, vsk75@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9265-708X>

Кавешников Владимир Сергеевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория регистров сердечно-сосудистых заболеваний, высокотехнологичных вмешательств и телемедицины, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, kave@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0211-4525>

Кузьмичкина Мария Анатольевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория регистров сердечно-сосудистых заболеваний, высокотехнологичных вмешательств и телемедицины, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, kuzmariakuz@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5587-3947>

(✉) Кузьмичкина Мария Анатольевна, kuzmariakuz@gmail.com

Поступила в редакцию 10.06.2022;
одобрена после рецензирования 27.06.2022;
принята к публикации 08.12.2022.

УДК 616.132.2-007-089-073.43-8
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-165-169>

Клинический случай ретроаортального хода огибающей ветви, отходящей от правой коронарной артерии

Захарьян Е.А.¹, Григорьев П.Е.², Шатов Д.В.¹, Солдатова О.В.¹, Федорец А.В.¹,
 Капитанова Л.Э.¹

¹ Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет (КФУ)
 им. В.И. Вернадского
 Россия, Республика Крым, 295006, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7

² Севастопольский государственный университет (СевГУ)
 Россия, 299053, г. Севастополь, ул. Университетская, 33

РЕЗЮМЕ

Аномалии отхождения коронарных артерий являются достаточно редко встречающейся патологией, которая, однако, может лежать в основе клинической манифестации ишемической болезни сердца. Расширение возможностей проведения диагностической коронароангиографии позволяет обнаружить многочисленные виды врожденных аномалий коронарных артерий.

Однако если ранее они считались ангиографическими находками и характеризовались как доброкачественные, то в дальнейшем такое отношение было изменено сообщениями о случаях синкопальных состояний, стенокардии и внезапной смерти, связанных с их наличием. В связи с этим сформировалась тенденция рассматривать такого рода аномалии как «потенциально злокачественные», что диктует особую настороженность при их обнаружении. Представлен клинический случай аномалии ретроаортального хода огибающей ветви от правой коронарной артерии.

Ключевые слова: коронароангиография, стентирование, аномалия коронарной артерии

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: Захарьян Е.А., Григорьев П.Е., Шатов Д.В., Солдатова О.В., Федорец А.В., Капитанова Л.Э. Клинический случай ретроаортального хода огибающей ветви, отходящей от правой коронарной артерии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):165–169. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-165-169>.

A clinical case of the retroaortal course of the circumflex artery from the right coronary artery

Zakharyan E.A.¹, Grigoriev P.E.², Shatov D.V.¹, Soldatova O.A.¹, Fedorets A.V.¹,
 Kapitanova L.E.¹

¹ Medical Academy named after S.I. Georgievsky, Vernadsky Crimean Federal University
 5/7, Lenina Av., Simferopol, 295006, Republic of Crimea, Russian Federation

✉ Шатов Дмитрий Викторович, e-mail: dmitrii_shatov@mail.ru

² Sevastopol State University

33, Universitetskaya Str., Sevastopol, 299053, Russian Federation

ABSTRACT

An anomalous course of coronary arteries is fairly rare pathology, which, however, may underlie clinical manifestations of coronary artery disease. Expanding the possibilities of diagnostic coronary angiography makes it possible to detect numerous types of congenital anomalies of the coronary arteries.

However, if earlier they were considered as angiographic findings and were characterized as benign, now this attitude has been changed due to reports of cases of syncope, angina pectoris, and sudden cardiac death associated with their presence. In this regard, a trend emerged to consider such anomalies as “potentially malignant”, which explains special caution at their detection. The article presents a clinical case of an anomalous retroaortic course of the circumflex artery from the right coronary artery.

Keywords: coronary angiography, stenting, coronary artery anomaly

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

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

For citation: Zakharyan E.A., Grigoriev P.E., Shatov D.V., Soldatova O.A., Fedorets A.V., Kapitanova L.E. A clinical case of the retroaortic course of the circumflex artery from the right coronary artery. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):165–169. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-165-169>.

ВВЕДЕНИЕ

Частота врожденных аномалий коронарных артерий, по разным данным, колеблется от 0,6 до 1,8% [1, 2]. Существуют различные виды диспозиций коронарных артерий: отхождение передней межжелудочковой ветви (ПМЖВ) от правой коронарной артерии (ПКА) (отсутствие ствола левой); увеличение числа коронарных артерий, отходящих от аорты (отсутствие ствола правой); самостоятельное отхождение огибающей ветви (ОВ) от 2-го или 1-го синусов аорты или от ПКА.

Патологическое отхождение ОВ является наиболее частой аномалией отхождения коронарных артерий, в связи с чем Д. Эфлер еще в 1970 г. рекомендовал называть это «нормальный вариант» [3, 4]. Расположение аномальной ОВ всегда одинаково: от своего начала она идет назад и влево, огибая аорту сзади, затем проходит между задней стенкой аорты и передней стенкой правого и левого предсердий, пока не достигнет своего расположения в левой части атриовентрикулярной борозды, где она прикрыта ушком левого предсердия и имеет обычное расположение [5].

Несмотря на то, что эта аномалия по-прежнему считается доброкачественной, сообщалось о случаях ее ассоциации с внезапной смертью и стенокардией [6]. Фактором, ответственным за эти явления, может быть повторная компрессия данного сосуда за счет

расширения корня аорты или искривления в результате ее ретроаортального положения с последующим сдавлением коронарного устья в борозде и формированием препятствия кровотоку. Стоит также упомянуть о недавних исследованиях, в которых говорится о том, что аномальное происхождение коронарных артерий может увеличивать риск атеросклеротических изменений из-за своего острого угла наклона [7]. Аномальное отхождение ОВ от правого коронарного синуса с ретроаортальным ходом является хорошо изученным вариантом, который не считается злокачественным, поскольку не проходит между двумя артериальными структурами [8].

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

Больная Ч., 75 лет, поступила в Региональный сосудистый центр для больных с острым коронарным синдромом с жалобами на приступы пекущих болей за грудиной продолжительностью 3–10 мин, возникающие при привычной физической нагрузке и в покое. Из анамнеза известно, что стенокардией болеет более 20 лет с количеством приступов 3–5 в неделю. В течение последнего месяца отмечает снижение толерантности к физической нагрузке, а также появление ангинозных приступов в покое.

При поступлении тропонин I – отрицательный, миоглобин – отрицательный, МВ КФК – отрицательный. Остальные значения лабораторных показателей

в пределах референсных значений. На электрокардиограмме отмечался синусовый регулярный ритм, частота сердечных сокращений – 64 уд/мин, наруше-

ние процессов реполяризации миокарда передне-перегородочно-верхушечной области левого желудочка (рис. 1).

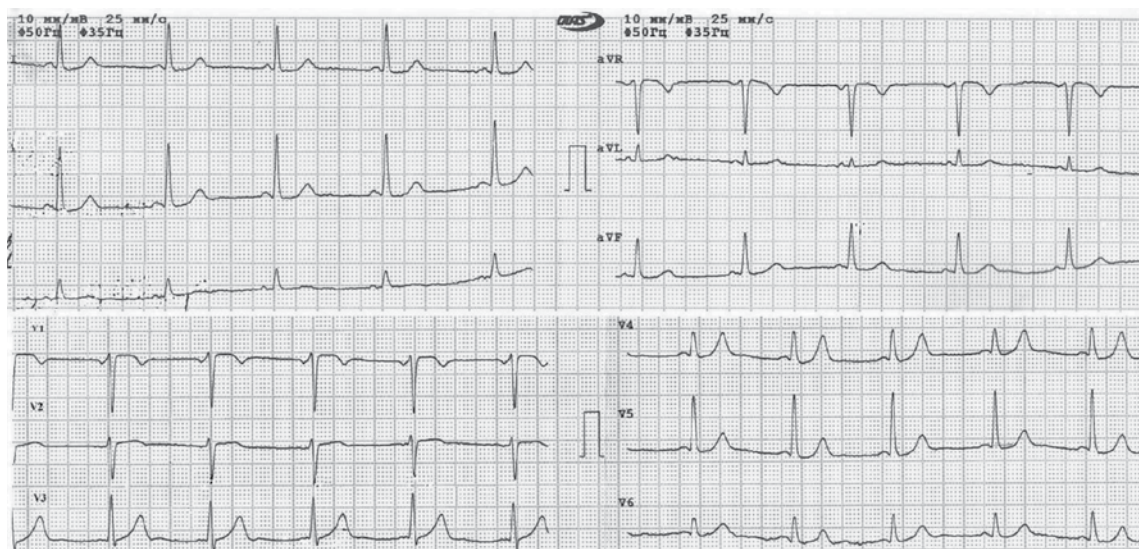


Рис. 1. Электрокардиограмма перед перкутанной транслюминальной коронарной ангиопластикой. Скорость 25 мм/с, вольтаж 10 мм/мВ

По данным холтеровского мониторинга, одиночные (93) и парные (6) политопные наджелудочковые экстрасистолы; пароксизмы (3) неустойчивой наджелудочковой тахикардии; одиночные (97) и парные (4) полиморфные желудочковые экстрасистолы; пароксизмы (4) тахикардии с широкими комплексами QRS, суммарная длительность эпизодов ишемического смещения ST равна 52 минутам, значимых изменений QT-интервала не выявлено.

При проведении эхокардиографии (ЭхоКГ) обнаружена диастолическая дисфункция левого желудочка по первому типу ($E/A = 0,7$), фракция выброса 60%, незначительная дилатация левого предсердия (47 мм) и гипертрофия базальной части межжелудочковой перегородки (12 мм). Зон гипо- и акинезов не выявлено.

Пациентке выполнена коронарография, на которой обнаружен атеросклероз коронарных артерий, стеноз проксимальной трети ПМЖВ левой коронарной артерии (ЛКА) более 70% с ангиографическими признаками нестабильности, стеноз средней трети правой коронарной артерии (ПКА) около 50%, отхождение ОВ от ПКА. По окончании коронарографии проведена перкутанная транслюминальная коронарная ангиопластика (ПТКА) стеноза проксимальной трети ПМЖВ ЛКА: в зону стеноза установлен стент Rebel $3,0 \times 20$ мм, давление 14 атм, выполнена оптимизация баллоном 3,5–12, давление 20 атм (рис. 2–5).

Послеоперационный период протекал без осложнений. Отмечалась положительная динамика: отсутствовали ангинозные приступы, одышка в покое и при ходьбе не беспокоила, пациентка была активна в пределах палаты, после – в пределах отделения. Выписана на 9-е сут в удовлетворительном состоянии под наблюдение кардиолога по месту жительства с проведением контрольных холтеровского мониторинга и ЭхоКГ через 6 мес.

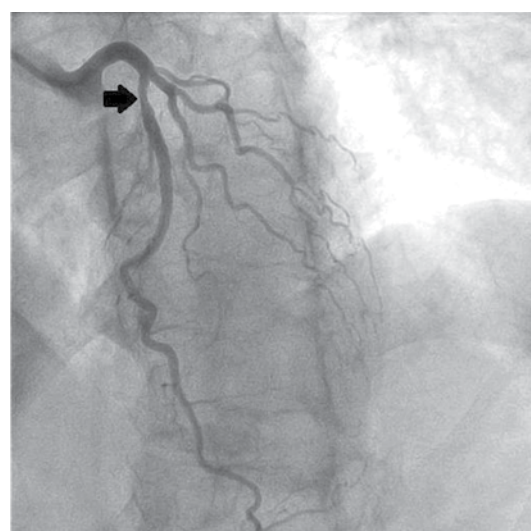


Рис. 2. Изображение ветвей ЛКА, полученное при коронарографии. Стрелкой отмечен стеноз с ангиографическими признаками нестабильности атеросклеротической бляшки



Рис. 3. Изображение ветвей ПКА, полученное при коронарографии. Стрелкой отмечено отхождение ОВ от ПКА



Рис. 4. Изображение ветвей ЛКА после выполнения ПТКА. Стрелкой отмечено место имплантации стента

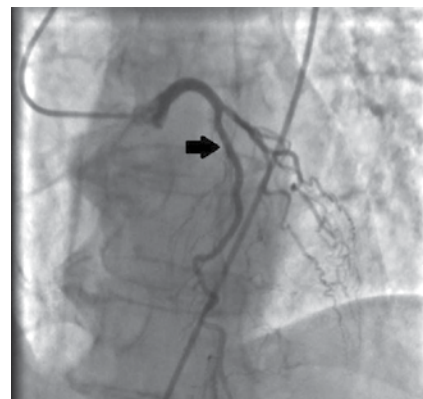


Рис. 5. Изображение ветвей ЛКА, полученное при коронарографии через 19 мес. Стрелкой отмечено место имплантации стента

ОБСУЖДЕНИЕ

Аномальное отхождение ОВ от ПКА может протекать бессимптомно вплоть до зрелого возраста, вследствие чего часто диагностируется случайно или даже остается незамеченным. Поздняя диагностика может привести к ухудшению самочувствия и ограничению физической активности в связи с нарушением перфузии миокарда.

Выявить данную аномалию возможно с помощью коронарографии, которая порой имеет решающее значение в постановке заключительного диагноза. Однако наличие аномалий обуславливает трудности в проведении селективной коронарографии, так как при привычных подходах результаты не всегда могут быть информативны. Более того, этот метод достаточно инвазивен, требует большего количества специализированного оборудования и не может дать точное пространственное расположение аномальной ОВ. Перечисленные негативные аспекты возможно устранить с помощью выполнения мультidetекторной компьютерной томографии коронарных артерий, выступающей в роли своеобразного золотого стандарта, что может быть использовано для выявления коронарных аномалий перед планируемым хирургическим вмешательством [9].

У данной пациентки обнаруженная аномалия отхождения ветви коронарной артерии явилась случайной находкой. Выраженность стенотического поражения ПМЖВ ЛКА послужила показанием для проведения эндоваскулярного вмешательства (стентирования) с последующим положительным клиническим эффектом. Необходимо отметить, что локализация поражения в устье или проксимальной трети ПКА может оказаться существенной проблемой для формирования адекватного кровоснабжения

задне-диафрагмальной поверхности сердца, включая синусовый узел. Следует принимать во внимание и особенности коронарного кровотока в зависимости от сердечного цикла: из бассейна ЛКА – в диастолу, из бассейна ПКА – в диастолу и систолу желудочков.

Расширение объема кардиохирургических и рентгенохирургических вмешательств на аортальном клапане также заставляет делать акцент на исключении аномалий отхождения коронарных артерий в предоперационном периоде. Так, после протезирования аортального клапана в качестве основных причин ишемии миокарда рассматриваются компрессия протезным клапанным кольцом или лигирование аномально отходящей ОВ; в качестве профилактических мер необходимо выполнять тщательную и полную мобилизацию коронарных артерий [10]. Также взвешенный подход в оперативном приеме с сохранением коронарного кровотока в ОВ должен быть рассмотрен при выполнении операции Бенталла [11]. Более контролируемым в некоторых случаях является баллонная вальвулопластика с последующим транскатетерным протезированием аортального клапана, поскольку имеется возможность выполнения контрольной селективной ангиографии аномальной ОВ с целью раннего обнаружения в ней нарушений кровотока [12].

Приведенный клинический случай подтверждает важность своевременной диагностики врожденных аномалий отхождения коронарных артерий, так как их наличие может быть причиной развития ишемии, нарушений ритма, а также может быть сопряжено с риском внезапной сердечной смерти. Коронарография в сочетании с мультidetекторной компьютерной томографией коронарных артерий являются взаимодополняющими методами диагностики данной патологии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Багманова З.А. Аномалии коронарных артерий. *Кардиология*. 2010;8:48–55.
2. Ghanim D., Kusniec F., Kinany W., Qarawani D., Meerkin D., Taha K. et al. Left circumflex coronary artery as the culprit vessel in st-segment-elevation myocardial infarction. *Texas Heart Institute Journal*. 2017;44(5):320–325. DOI: 10.14503/THIJ-16-5905.
3. Lanjewar C.P., Kumar D., Sabnis G.R., Jare M., Phutane M., Shah H. et al. Anomalous origin of coronary artery from the opposite aortic sinus of Valsalva—a single center experience with a therapeutic conundrum. *Indian Heart Journal*. 2021;73(3):289–294. DOI: 10.1016/j.ihj.2021.03.012.
4. McCord C. Surgical treatment of coronary arteriosclerosis. *JAMA*. 1971;16(10):1650. DOI: 10.1001/jama.1971.03180360096030.
5. Seok O., Ju H.K., Min C.K., Young J.H., Youngkeun A., Myung H.J. Posterior myocardial infarction caused by superdominant circumflex occlusion over an absent right coronary artery: Case report and review of literature. *MD Journal*. 2021;100(27):e26604. DOI: 10.1097/MD.00000000000026604.
6. Yan G.W., Bhetuwal A., Yang G.Q., Fu Q.S., Hu N., Zhao L.W. et al. Congenital absence of the right coronary artery: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(12):e0187. DOI: 10.1097/MD.00000000000010187.
7. Tomanek R., Angelini P. Embryology of coronary arteries and anatomy/pathophysiology of coronary anomalies. *A comprehensive Update. International Journal of Cardiology*. 2019;281:28–34. DOI: 10.1016/j.ijcard.2018.11.135.
8. Harky A., Hof A., Ahmad M.U., Uppal R. Incidental finding of anomalous circumflex coronary artery from right coronary sinus prior to aortic valve surgery. *BMJ Case Reports*. 2017;2017:bcr2017219265. DOI: 10.1136/bcr-2017-219265.
9. Rosseel L., Bonnier H., Sonck J. Anomalous right coronary artery in a middle-aged patient: a case report and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(49):e5508. DOI: 10.1097/MD.0000000000005508.
10. Botta L., Amodio C., Pagano V., Di Marco L., Leone A., Loforte A. et al. AVR in patients with anomalous course of the circumflex artery without prosthetic downsizing. *Journal of Cardiac Surgery*. 2020;35(11):125–3127. DOI: 10.1111/jocs.14927.
11. Gasparovic I., Artemiou P., Kiss M., Hulman M. Bentall operation in a patient with an anomalous left circumflex artery: case report and review. *Journal of Saudi Heart Association*. 2017;29(4):305–307. DOI: 10.1016/j.jsha.2017.03.003.
12. Tabachnick D., Obokhae B., Harrington K., Brown D.L. Assessing the risk of an anomalous circumflex artery using balloon aortic valvuloplasty prior to transcatheter aortic valve replacement. *Catheter Cardiovascular Intervention*. 2020;96(2):497–499. DOI: 10.1002/ccd.28695.

Информация об авторах

Захарьян Елена Аркадьевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренней медицины № 1, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, locren@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7384-9705>

Григорьев Павел Евгеньевич – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры «Психология», СевГУ, г. Севастополь, mhnty@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7390-9109>.

Шатов Дмитрий Викторович – канд. мед. наук, доцент, кафедра общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, dmitrii_shatov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2248-5400>

Солдатова Ольга Валерьевна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра внутренней медицины № 1, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, olgasolda@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6310-9199>

Федорец Алина Васильевна – студент, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, alinka_fedorec96@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6079-1527>

Капитанова Лейла Эрнест Къзы – студентка, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, leila-namazova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5663-8765>

(✉) **Шатов Дмитрий Викторович**, e-mail: dmitrii_shatov@mail.ru

Поступила в редакцию 30.08.2022;
одобрена после рецензирования 07.09.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616-002-039.42-02:575.224
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-170-175>

Семейный случай редкого аутовоспалительного заболевания, ассоциированного с мутациями в генах *NLRP3* и *TNFRSF1A*, в практике ревматолога

Курочкина Ю.Д.¹, Королев М.А.¹, Летягина Е.А.¹, Фишман В.С.², Гридина М.М.², Валеева Э.С.²

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН)
Россия, 630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

РЕЗЮМЕ

Представлен случай из клинической практики редкого аутовоспалительного заболевания – семейного случая синдрома Макла – Уэллса. Разнообразие клинических проявлений и невозможность подтверждения диагноза без проведения генетического исследования методом секвенирования ДНК определяет сложность и несвоевременность диагностики. Развитие тяжелых осложнений и, как следствие, летального исхода обуславливает необходимость ранней постановки диагноза. Описанный клинический случай демонстрирует как важность проведения секвенирования ДНК для своевременной диагностики заболевания, так и особенности течения болезни и семейный характер заболевания. Постановка диагноза синдрома Макла – Уэллса у членов семьи молодого возраста до развития тяжелых осложнений позволят начать адекватное своевременное лечение и предотвратить развитие амилоидоза.

Ключевые слова: аутовоспалительные заболевания, секвенирование ДНК, синдром Макла – Уэллса

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН (тема № FWNR-2023-0009).

Для цитирования: Курочкина Ю.Д., Королев М.А., Летягина Е.А., Фишман В.С., Гридина М.М., Валеева Э.С. Семейный случай редкого аутовоспалительного заболевания, ассоциированного с мутациями в генах *NLRP3* и *TNFRSF1A*, в практике ревматолога. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):170–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-170-175>.

A family case of a rare autoinflammatory disease associated with mutations in the *NLRP3* and *TNFRSF1A* genes in the practice of a rheumatologist

Kurochkina Yu.D.¹, Korolev M.A.¹, Letyagina E.A.¹, Fishman V.S.², Gridina M.M.², Valeeva E.S.²

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
4, Timakova Str., Novosibirsk, 630060, Russian Federation

² Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
10, Akademika Lavrentyeva Av., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

ABSTRACT

The article presents a clinical case of a rare autoinflammatory disease – a family case of Muckle – Wells syndrome. The diversity of clinical manifestations and the impossibility of confirming the diagnosis without a genetic study by DNA sequencing determine the complexity of and delay in the diagnosis. The development of severe complications and, as a consequence, a fatal outcome necessitates early diagnosis. The described clinical case demonstrates the importance of DNA sequencing for the timely diagnosis of the disease, the features of the disease course, and the familial nature of the disease. The diagnosis of Muckle – Wells syndrome in young family members before the development of severe complications will allow to start adequate and timely treatment and prevent the development of amyloidosis.

Keywords: autoinflammatory diseases, DNA sequencing, Muckle – Wells syndrome

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 work was carried out within the framework of the state task of Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (topic No. FWNR-2023-0009).

For citation: Kurochkina Yu.D., Korolev M.A., Letyagina E.A., Fishman V.S., Gridina M.M., Valeeva E.S. A family case of a rare autoinflammatory disease associated with mutations in the *NLRP3* and *TNFRSF1A* genes in the practice of a rheumatologist. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):170–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-170-175>.

ВВЕДЕНИЕ

Аутовоспалительные заболевания (АВЗ) – группа редких заболеваний, включающих в себя заболевания как моногенной, так и мультифакториальной природы, характеризующиеся активацией врожденного иммунитета в ответ на воздействие эндогенных и экзогенных стимулов без присутствия аутоантител [1]. На сегодняшний день в регистре EUROFEVER зарегистрировано около 32 нозологий, имеющих определенную клиническую картину, общими проявлениями которых являются эпизоды рецидивирующей, так называемой периодической лихорадки. Основными вариантами моногенных периодических лихорадок являются криопирин-ассоциированный периодический синдром (CAPS), семейная средиземноморская лихорадка, синдром, ассоциированный с мутацией гена рецептора фактора некроза опухоли α (TNF α) (TRAPS), синдром дефицита ме-

валонаткиназы и др. CAPS-синдром включает в себя группу заболеваний, обусловленных генетическими вариантами в гене *NLRP3*, кодирующем криопирин, приводящими к активации инфламмосомы и гиперпродукции интерлейкина (IL) 1 [2].

Разнообразие клинических проявлений (лихорадка, крапивница, иридоциклит, сенсоневральная тугоухость, лабораторная активность), а также возможность подтверждения диагноза исключительно по данным генетического исследования (методом секвенирования ДНК) значительно затрудняют постановку диагноза [3]. На сегодняшний день разработаны критерии, помогающие своевременно заподозрить диагноз аутовоспалительного заболевания [4]. Необходимость своевременной диагностики обусловлена развитием летальных осложнений, как правило, амилоидоза. Успешное лечение CRAPS-синдрома напрямую связано с ранним назначением ингибиторов IL-1. На сегодняшний день в России

зарегистрировано два препарата из группы моноклональных антител, блокирующих IL-1: канакинумаб и анакинра. Также имеется опыт по применению ингибиторов IL-6 и TNF α , однако наибольший клинический эффект описан на фоне терапии ингибиторов IL-1 [5]. Основное ограничение, связанное с рутинным назначением ингибиторов IL-1 в клинической практике, обусловлено высокой стоимостью препарата. Мы хотели бы поделиться опытом диагностики семейного случая криопирин-ассоциированного синдрома в практике врача-ревматолога.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Исследование выполнено в соответствии с 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.

Пациентка И., пробанд, 28 лет, в октябре 2021 г. обратилась на консультацию к ревматологу в НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск (рис. 1). Пациентка предъявляла жалобы на рецидивирующую крапивницу на туловище и конечностях, боль в мелких суставах кистей воспалительного ритма, эпизоды подъема температуры тела не выше 37,5 °С.

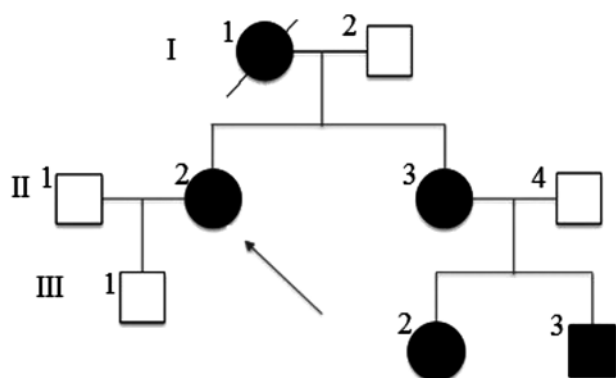


Рис. 1. Генеалогическое древо пациентки И.

Из анамнеза известно, что у пробанда с раннего детства рецидивы уртикарной сыпи на туловище, конечностях, не купирующиеся при приеме антигистаминных препаратов и глюкокортикоидов. По этому поводу пробанд многократно обследовалась у аллерголога и наблюдалась с диагнозом «хроническая крапивница». В 2014 г. пациентка впервые обратилась к ревматологу в связи с появлением боли

и припухлости суставов кистей. При обследовании выявлена лабораторная активность, ревматоидный фактор (РФ) и антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (АЦЦП) отрицательные. Пациентке был установлен диагноз «ревматоидный артрит» и назначен метотрексат в дозе 15 мг с хорошим эффектом, на фоне лечения суставной синдром минимальный (DAS28 = 3,08).

В мае 2020 г. пациентка прекратила прием метотрексата в связи с планируемой беременностью. На фоне вынашивания беременности и после родов обострения суставного синдрома не зафиксировано. При сборе анамнеза выявлено, что у матери пробанда (1966 г. р.) были схожие проявления рецидивирующей сыпи, сенсоневральная тугоухость, артрит, а также хроническая болезнь почек (ХБП), ставшая причиной смерти в возрасте 55 лет. Сибс (1989 г. р.) имеет проявления крапивницы, артралгии суставов кистей и эпизоды повышения температуры тела не выше 37,5 °С. Дети сибса (мальчик и девочка) наблюдались у ревматолога с диагнозом «ювенильный артрит», а после проведения молекулярно-генетического обследования (выявлен патогенный вариант в гене *NLRP3*) в 2018 г. диагноз пересмотрен в пользу криопирин-ассоциированного синдрома, синдрома Макла – Уэллса, в связи с чем оба ребенка получают терапию канакинумабом с хорошим клиническим эффектом. У сибса также проведено генетическое обследование в 2019 г., в ходе которого выявлен патогенный вариант chr1:247587529C>T [hg19], NM_004895.4:c.784C>T, P_004886.3:p.(Arg262Ter) (R262X), dbSNP:rs121908150 в гене *NLRP3* и патогенный вариант chr12:6442643C>T [hg19], NM_001065.3:c.362G>A, NP_001056.1:p.(Arg121Gln) (R121Q), HGMD:CM012483, dbSNP:rs4149584 в гене *TNFRSF1A* (табл. 1, 2). На основании клинических данных и результатов генетического тестирования установлен диагноз «синдром Макла – Уэллса».

Таблица 1

Характеристика патогенного варианта <i>NLRP3</i> :Arg262Ter, обнаруженного в гене <i>NLRP3</i>	
Показатель	Значение
Геномные координаты [hg19]	chr1:247587529C>T
Идентификатор dbSNP	rs121908150
Транскрипт	NM_004895.4:c.784C>T
Белок	NP_004886.3:p.(Arg262Ter)
Ген	NLRP3
Экзон	4/10
Патогенность	Патогенный

Окончание табл. 1

Показатель	Значение
<i>Критерии патогенности</i>	
PVS1	Нонсенс-вариант в гене, для которого LoF-варианты являются известной причиной развития патологии
PM2	Вариант отсутствует в контрольных выборках (или встречается с крайне низкой частотой). Максимальная известная частота в популяции – 0,0004% (TOPMED)
PM1	Вариант расположен в важном функциональном домене белка, в котором не описаны доброкачественные изменения. Согласно данным InterPro Domain, здесь располагается NACHT-домен белка
PP5	Источники с хорошей репутацией указывают на патогенность варианта. Согласно базе данных CLINVAR, вариант считается патогенным (CV000004622.5, RCV000004623.6, RCV000221297.4, RCV001067187.1, RCV001285973.1)

Таблица 2

Характеристика патогенного варианта <i>TNFRSF1A</i> : Arg121Gln, обнаруженного в гене <i>TNFRSF1A</i>	
Показатель	Значение
Геномные координаты [hg19]	chr12:6442643C>T
Идентификатор dbSNP	rs4149584
Транскрипт	NM_001065.3:c.362G>A
Белок	NP_001056.1:p.(Arg121Gln)
Ген	TNFRSF1A
Экзон	4/10
Патогенность	Вариант неопределенной клинической значимости
<i>Критерии патогенности</i>	
BS1	Частота аллеля больше, чем ожидаемая для заболевания. Максимальная частота – 2,7% (население Северной Швеции)
PM1	Вариант расположен в важном функциональном домене белка, в котором не описаны доброкачественные изменения. Согласно данным InterPro Domain, здесь располагается TNFR/NGFR цистеин-богатый регион
PP5	Источники с хорошей репутацией указывают на патогенность варианта. Согласно базе данных HGMD, вариант считается патогенным (HGMD: CM012483)

На момент осмотра пробанда: скуловая эритема, на коже туловища, конечностях – уртикарная сыпь. В легких дыхание везикулярное. Тоны сердца ясные ритмичные. Припухших и болезненных суставов нет. По данным лабораторных исследований отмечено увеличение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)

до 45 мм/ч, С-реактивный белок (СРБ) 49 г/л, креатинин 76 мкмоль/л, РФ отрицательный (8 при норме 20 U/ml), АЦЦП слабоположительный (32 при норме 25 U/ml). По данным рентгеновского исследования кистей и стоп сужения внутрисуставных щелей, околоуставного остеопороза, а также эрозивного артрита не выявлено.

С учетом наличия в анамнезе у родственников варианта в гене *NLRP3*, классических клинических проявлений синдрома Макла – Уэллса у пациентки и ее родственников, у пробанда был выполнен анализ последовательности всех экзонов генов *TNFRSF1A* и *NLRP3* методом Сэнгера (октябрь 2021 г.). В результате в обоих генах были выявлены патогенные генетические варианты, ранее обнаруженные у сибса: патогенный вариант chr1:247587529C>T [hg19] в гене *NLRP3* и патогенный вариант chr12:6442643C>T [hg19] в гене *TNFRSF1A* в обоих генах (рис. 2).

На основании клинических данных и результатов молекулярно-генетического обследования пробанда был верифицирован диагноз «криопирин-ассоциированный синдром: синдром Макла – Уэллса». Согласно критериям ACR/EULAR 2010, пробанд не соответствует диагнозу «ревматоидный артрит», а суставной синдром, наиболее вероятно, был обусловлен наличием CAPS-синдрома. Особое внимание необходимо уделить исследованию АЦЦП, уровень которого был незначительно повышен у пациентки, поскольку при достоверном повышении уровня этого маркера диагноз ревматоидного артрита может быть критерияльным с учетом данных анамнеза (симметричный артрит мелких суставов кистей, повышение уровня СРБ). Сочетание АВЗ и ревматоидного артрита является редкой и трудно дифференцируемой ситуацией. После проведенного обследования в клинику НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН были приглашены сибс и мать пробанда для обследования (табл. 3).

Как видно из табл. 3, все члены семьи имели классические проявления синдрома Макла – Уэллса, включавшие в себя лихорадку, рецидивирующую крапивницу, суставной синдром, высокую лабораторную активность. У всех членов семьи, за исключением матери пробанда, было проведено молекулярно-генетическое обследование и выявлен патогенный генетический вариант в гене *NLRP3*. У ребенка пробанда генетического обследования также не проводилось в связи с полным отсутствием клинических проявлений заболевания, однако с учетом вероятности манифестации болезни не в раннем детском возрасте, планируется проведение генетического исследования.

Таблица 3

Клинические проявления семейного случая синдрома Макла – Уэллса					
Показатель	Пробанд, 28 лет	Мать пробанда, 54 года	Сибс, 32 года	Сын сибса, 11 лет	Дочь сибса, 9 лет
Крапивница	+	+	+	–	–
Лихорадка	+	+	+	–	–
Артриты/артралгии мелких суставов кистей	+	+	+	+	+
Конъюнктивит	–	–	+	–	–
Сенсоневральная тугоухость	–	+	–	–	–
Поражение почек (ХБП, вероятно, на фоне амилоидоза)	–	+	–	–	–
Увеит	–	–	–	+	+
Лабораторная активность (СОЭ, СРБ)	+	+	+	+	+

Наиболее тяжелое течение заболевания выявлено у матери пробанда с формированием сенсоневральной тугоухости и ХБП, вероятно, послужившей причиной смерти в 2021 г. Наличие подтвержденного синдрома Макла – Уэллса с яркими клиническими проявлениями и лабораторной активностью является показанием для терапии генно-инженерными биологическими препаратами. Наличие патогенного варианта гена *TNFRSF1A* ассоциировано с высоким уровнем TNF α , что также может определять выбор генно-инженерного препарата. В настоящее время пробанд и сибс проходят скрининг безопасности для оценки возможности назначения терапии генно-инженерными биологическими препаратами, в том числе канакинумабом.

Согласно данным литературы, тяжесть проявлений синдрома Макла – Уэллса может быть классифицирована на легкую, среднюю и тяжелую [6]. Как видно, в описанном нами клиническом случае среди членов семьи присутствуют как тяжелые проявления заболевания (у матери пробанда), так и умеренный фенотип. Остается не до конца ясным, влияет ли наличие патогенного генетического варианта *TNFRSF1A* на тяжесть фенотипа синдрома Макла – Уэллса. Все больше исследований направлено на изучение влияния дигенных мутаций на тяжесть течения заболевания [7]. Так, А. Blaschek и соавт. описали сочетание генетических вариантов генов *MEFV* и *TNFRSF1A*, что приводило к дебюту рассеянного склероза в детском возрасте [8]. Другими авторами описано дигенное наследование *MEFV* и *NLRP3* или *MEFV* и *TNFRSF1A* [9]. Нам не встречалось литературных данных о сочетании генетических вариантов *TNFRSF1A* и *NLRP3*, однако оно может определять более тяжелое течение синдрома Макла – Уэллса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай демонстрирует сложность дифференциальной диагностики между аутоиммунными и аутовоспалительными заболеваниями. Как видно, даже при соответствии

критериям ревматоидного артрита и наличия клинических проявлений, не укладывающихся в определенные нозологии, следует рассматривать другие причины суставного синдрома, лихорадки, крапивницы и т.д. Данное обстоятельство делает необходимым взаимодействие врачей-ревматологов, врачей-генетиков и специалистов в области молекулярной диагностики.

Данный клинический случай представляет собой вариант редкого моногенного заболевания, диагностика которого крайне сложна и невозможна без проведения секвенирования ДНК. Тяжесть течения заболевания, а также развитие тяжелых осложнений, являющихся, как правило, причиной смерти больных, требуют ранней диагностики и назначения лечения. Своевременное направление пациентов на консультацию к врачу-генетику с целью выявления показаний для проведения молекулярно-генетического обследования позволит подтвердить диагноз АВЗ и начать лечение болезнью модифицирующими препаратами. Кроме того, исследование большего числа генов может определять дальнейшую тактику и выбор препарата.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Masters S.L., Simon A., Aksentijevich I., Kastner D.L. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annu. Rev. Immunol.* 2009;27:621–668. DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141627.
2. Kelley N., Jeltema D., Duan Y., He Y. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(13):3328. DOI: 10.3390/ijms20133328.
3. Welzel T., Kuemmerle-Deschner J.B. Diagnosis and management of the cryopyrin-associated periodic syndromes (CAPS): What do we know today? *J. Clin. Med.* 2021;10(1):128. DOI: 10.3390/jcm10010128.
4. Gattorno M., Hofer M., Federici S., Vanoni F., Bovis F., Aksentijevich I. et al. Classification criteria for autoinflammatory recurrent fevers. *Ann. Rheum. Dis.* 2019;78(8):1025–1032. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-215048/
5. Салугина С.О., Федоров Е.С. Генно-инженерные биологические препараты в лечении основных моногенных

- аутовоспалительных заболеваний: обзор литературы и клиническое наблюдение. *Современная ревматология*. 2021;15(6):95–100. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-6-95-100.
6. Ben-Chetrit E., Gattorno M., Gul A., Kastner D.L., Lachmann H.J., Touitou I. et al. Consensus proposal for taxonomy and definition of the autoinflammatory diseases (AIDs): a Delphi study. *Ann. Rheum. Dis.* 2018;77(11):1558–1565. DOI: 10.1136/annrheumdis-2017-212515.
 7. Ozyilmaz B., Kirbiyik O., Koc A., Ozdemir T.R., Kaya Ozer O., Kutbay Y.B. et al. Molecular genetic evaluation of NLRP 3, MVK and TNFRSF 1A associated periodic fever syndromes. *Int. J. Immunogenet.* 2019;46(4):232–240. DOI: 10.1111/iji.12431.
 8. Blaschek A., Kries R., Lohse P., Huss K., Vill K., Belohradsky B.H. et al. TNFRSF1A and MEFV mutations in childhood onset multiple sclerosis. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2018;22(1):72–81. DOI: 10.1016/j.ejpn.2017.08.007.
 9. Neocleous V., Byrou S., Toumba M., Costi C., Shammam C., Kyriakou C. et al. Evidence of digenic inheritance in autoinflammation-associated genes. *J. Genet.* 2016;95(4):761–766. DOI: 10.1007/s12041-016-0691-5.

Вклад авторов

Курочкина Ю.Д., Королев М.А., Лetyagina Е.А. – подготовка текста статьи. Королев М.А. – окончательное утверждение рукописи. Фишман В.С., Гридина М.М., Валеева Э.С. – проведение генетического исследования.

Информация об авторах

Курочкина Юлия Дмитриевна – канд. мед. наук, врач-ревматолог, отделение ревматологии, науч. сотрудник, лаборатория патологии соединительной ткани, НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, juli_k@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7080-777X>

Королев Максим Александрович – канд. мед. наук, врач-ревматолог, зав. лабораторией патологии соединительной ткани, зам. руководителя НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, гл. внештатный ревматолог МЗ НСО, г. Новосибирск, kormax@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4890-0847>

Лetyagina Елена Алексеевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория патологии соединительной ткани, зав. отделением ревматологии, НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, elena_letyagina@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6275-2924>

Фишман Вениамин Семенович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, зав. сектором геномных механизмов онтогенеза, ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, minja-f@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5573-3100>

Гридина Мария Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, сектор геномных механизмов онтогенеза, ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, gridinam@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7972-5949>

Валеева Эмиль Салаватовна – лаборант, лаборатория генетики развития, ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, emil@bionet.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3480-3963>

(✉) **Курочкина Юлия Дмитриевна**, juli_k@bk.ru

Поступила в редакцию 04.05.2022;
одобрена после рецензирования 27.06.2022;
принята к публикации 08.12.2022

УДК 616.831-005.1-02:616.857-06
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-176-181>

Мигренозный инсульт: клиническое наблюдение

Плотников Д.М.¹, Алифирова В.М.¹, Мосиенко Е.С.²

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

² Томская областная клиническая больница (ТОКБ)
Россия, 634063, г. Томск, ул. И. Черных, 96

РЕЗЮМЕ

Мигренозный инсульт – это редкое сочетание часто встречающихся заболеваний, в отечественной литературе описаны лишь единичные наблюдения. Сложность дифференциальной диагностики связана с тем, что на этапе начальных проявлений эти два состояния могут имитировать друг друга. Лечебная тактика и дальнейшая профилактика при каждом из этих заболеваний различны, поэтому так важна своевременная и убедительная диагностика на ранних этапах.

В представленном клиническом наблюдении описан случай ишемического инсульта у молодой женщины, длительное время страдающей мигренью, который не вполне соответствовал критериям мигренозного инфаркта. Пациентка лечилась в региональном сосудистом центре Томской областной клинической больницы, отмечена положительная динамика в неврологическом статусе. Отслежен катамнез заболевания. Высказано предположение о том, что эндотелиальная дисфункция – основной патогенетический фактор формирования ишемического очага на фоне затянувшегося мигренозного приступа.

Ключевые слова: мигрень, ишемический инсульт, мигренозный инфаркт

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. Пациент подписал информированное согласие на участие в исследовании.

Для цитирования: Плотников Д.М., Алифирова В.М., Мосиенко Е.С. Мигренозный инсульт: клиническое наблюдение. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):176–181. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-176-181>.

A clinical case of migrainous stroke

Plotnikov D.M.¹, Alifirova V.M.¹, Mosienko E.S.²

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

² Tomsk Regional Clinical Hospital
96, I. Chlenkh Str., Tomsk, 634063, Russian Federation

ABSTRACT

Migrainous stroke is a rare combination of frequently occurring diseases; only a few cases have been described in the domestic literature. The complexity of differential diagnosis is due to the fact that at the stage of initial manifestations, these two conditions can mimic each other. Treatment strategy and further prevention for each of these diseases is different, so timely and convincing early diagnosis is crucial. The presented clinical case describes a case of ischemic stroke in a young woman who had been suffering from migraine for a long time, which did not fully meet the criteria for migrainous infarction. The patient was treated at the regional vascular center of the Tomsk Regional Clinical Hospital, there was a positive trend in the neurological status. The catamnesis of the disease was tracked. It was suggested that endothelial dysfunction is the main pathogenetic factor in the formation of an ischemic focus against the background of a protracted migraine attack.

Keywords: migraine, ischemic stroke, migrainous infarction

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 patient signed an informed consent to the publication of this clinical case.

For citation: Plotnikov D.M., Alifirova V.M., Mosienko E.S. A clinical case of migrainous stroke. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):176–181. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-176-181>.

ВВЕДЕНИЕ

Мигренозный ишемический инсульт, или мигренозный инфаркт (МИ), – редкое заболевание, встречающееся в популяции с частотой 1,4–3,4 на 100 тыс. населения, что составляет всего 0,2–0,5% всех случаев ишемических инсультов [1]. Согласно краткой версии Международной классификации головных болей (версия 3 бета, 2013 г., пересмотр 2018 г.), эта патология под кодом 1.4.3 относится к осложнениям мигрени [2]. Каждое из этих заболеваний по отдельности достаточно часто встречается в популяции [1], однако изучение эпидемиологии их сочетания достаточно затруднено. Это объясняется тем, что до введения четких диагностических критериев диагностики МИ была размыта, и даже после их введения установка этого диагноза в значительной степени зависит от традиций клиники и ее технического оснащения.

Диагностические критерии МИ следующие:

А. Мигренозная атака соответствует критериям В и С.

В. Возникает у пациента с мигренью с аурой и типичным предыдущим приступом, когда один или более симптомов ауры продолжаются >60 мин.

С. Нейровизуализация показала наличие ишемического инфаркта в соответствующей зоне головного мозга.

Д. Не соответствует в большей степени другому диагнозу [2].

Другими словами, МИ можно диагностировать только в случае развития ишемического инсульта без иной доказанной причины у пациентов, страдающих мигренью с аурой в момент приступа в случае стойкой очаговой неврологической симптоматики, длящейся более 1 ч и аналогичной одному или нескольким проявлениям ауры, с наличием характерных для ишемии проявлений на компьютерной или магнитно-резонансной (МР) томограмме в соответствующей зоне головного мозга. Доказано влияние на частоту развития МИ следующих факторов: женский пол, частота приступов, курение, прием оральных контрацептивов с высоким содержанием эстрогенов [1, 3]. Инсульт у пациентов с мигренью, возникший вне приступа, рассматривается только как ассоциированное заболевание, а не МИ [2]. В реальной клинической практике сохраняются сложности своевременной и убедительной диагностики МИ.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка Ф., 1969 г. р. (50 лет), обратилась самостоятельно в Региональный сосудистый центр (РСЦ) ТОКБ 27.11.2019 г. с жалобами на головные боли умеренной интенсивности (5 баллов по визуальной аналоговой шкале боли (ВАШ)) пульсирующего характера без четкой латерализации, тошноту, периодически – рвоту, неловкость и чувство онемения левой руки. Накануне доставлялась в РСЦ бригадой

«скорой помощи» с жалобами на интенсивную головную боль пульсирующего характера (9 баллов по ВАШ) в правой височно-теменной области, тошноту и рвоту, «замедление речи», беспокоящие в течение 3 сут. В неврологическом статусе убедительной очаговой симптоматики не выявлено, компьютерная томография (КТ) головного мозга – без очаговых изменений (рис. 1).

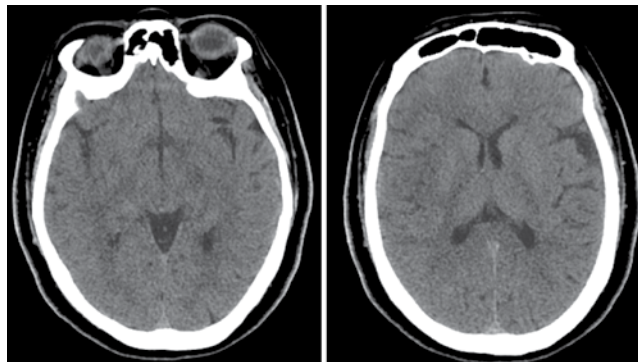


Рис. 1. КТ головного мозга пациентки Ф. за 1 сут до поступления в РСЦ

С диагнозом «мигрень, простая форма, затянувшийся приступ» была направлена в дежурный терапевтический стационар. Там, после введения анальгетика (баралгина), головная боль несколько уменьшилась, и пациентка была выписана на амбулаторный этап. На следующий день сохранялась умеренная диффузная головная боль и тошнота, после сна появилось чувство онемения и слабость в левой руке, преимущественно – в кисти, в связи с чем повторно доставлена родственниками в РСЦ в порядке самообращения. Из анамнеза заболевания:

диагноз мигрени был выставлен более 15 лет назад, 9 лет при приступах принимает препараты суматриптана (амигренин), пенталгин и найз.

Приступы протекают стереотипно, в виде пульсирующей головной боли в правой височно-теменной области с тошнотой и рвотой, чувство «распирания» в левом глазу, беспокоят 1–2 раза в месяц, длительностью от нескольких часов до 3 сут, могут провоцироваться запахами (в этом случае перед приступом в носу бывает ощущение жжения), психоэмоциональными нагрузками либо начинаться спонтанно. Препараты, в том числе суматриптан, купируют приступы не полностью, лучше всего, со слов, помогает сон в течение нескольких часов. Из анамнеза жизни: в детстве периодически беспокоила спонтанная рвота. Кроме мигрени хронических заболеваний нет, артериальное давление фиксирует эпизодически, высоких цифр не было. Постоянно никаких препаратов не принимает.

Беременностей – 1, ребенок 1. Десять лет назад оперирована по поводу миомы матки. В течение нескольких месяцев – нерегулярные месячные, до поступления не было 2 мес, подозревает наступление менопаузы. К гинекологу в последнее время не обращалась, гормональные препараты не принимала. Не курит. Наследственный анамнез по сосудистой патологии не отягощен, у отца в юности были подобные головные боли.

При поступлении в неврологическом статусе выявлялся легкий монопарез левой руки, сила была снижена до 4 баллов, в кисти – до 3 баллов, а также левосторонняя гемигипостезия, включая лицо. На КТ головного мозга справа в глубинных отделах лобной доли выявлен очаг ишемии $5,0 \times 5,0 \times 3,5$ см (рис. 2).

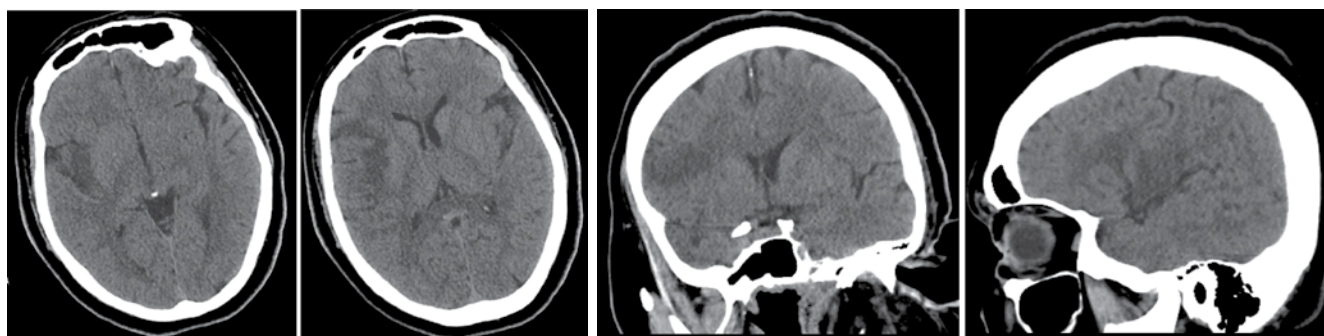


Рис. 2. КТ головного мозга пациентки Ф. в момент поступления в РСЦ

С диагнозом «ишемический инсульт в бассейне средней мозговой артерии справа, неуточненный подтип» пациентка была госпитализирована в РСЦ, где проведено обследование согласно действующей нормативной документации (порядок, стандарт и клинические рекомендации).

Клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, электролиты, коагулограмма, липидограмма – без отклонений от нормы. Электрокардиография: ритм синусовый, частота сердечных сокращений – 75 уд/мин. Электрическая ось сердца горизонтальная. Поворот левым желудочком вперед

вокруг продольной оси сердца. Суточное мониторирование артериального давления: без патологии. Эхокардиография: незначительная трикуспидальная регургитация, в остальном без патологии. Ультразвуковое исследование экстракраниальных сосудов: асимметрия кровотока по сонным и позвоночным артериям. Дефицит кровотока по сонной артерии справа и позвоночной артерии слева. Повышение периферического сопротивления в системе сонных артерий справа и позвоночных артерий с обеих сторон. Позвоночная артерия малого диаметра слева. Осмотр глазного дна: легкая пастозность дисков зрительного нерва обоих глаз. Ангиопатия сетчатки обоих глаз по гипертоническому типу. КТ головного мозга в дина-

мике через 7 сут после поступления: справа в лобной доле, наружной капсуле очаг подострой ишемии $5,7 \times 3,4 \times 3,0$ см (рис. 3). МР томография головного мозга на 10-е сут после поступления: справа очаги подострой ишемии (повышен сигнал T2, T2-FLAIR, DWI): в субкортикальных отделах лобной и теменной доли размером 51×11 мм и в перивентрикулярных (медиадных) отделах теменной и затылочной доли 11×12 мм. Патологии интракраниальных сосудов не выявлено (рис. 4). После обследования был установлен диагноз «мигренозный ишемический инсульт в системе средней мозговой артерии справа, левосторонний верхний легкий монопарез, гемипгипестезия».

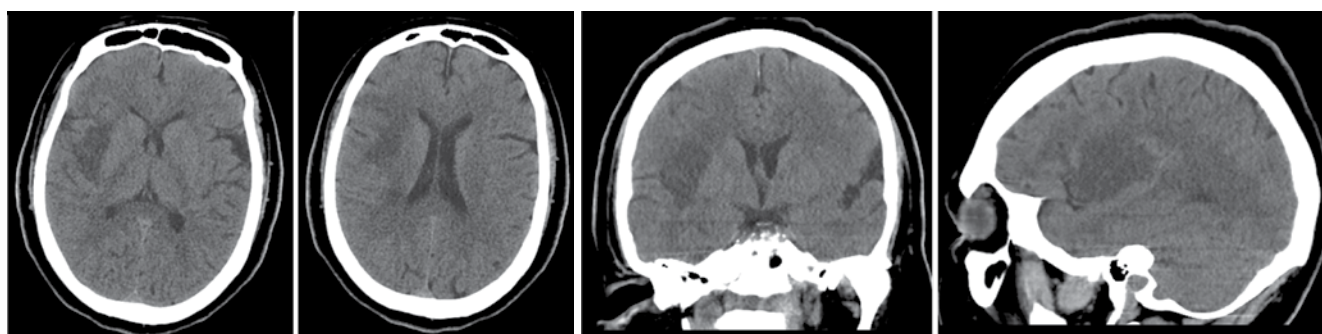


Рис. 3. КТ головного мозга пациентки Ф. через 7 сут после поступления в РСЦ

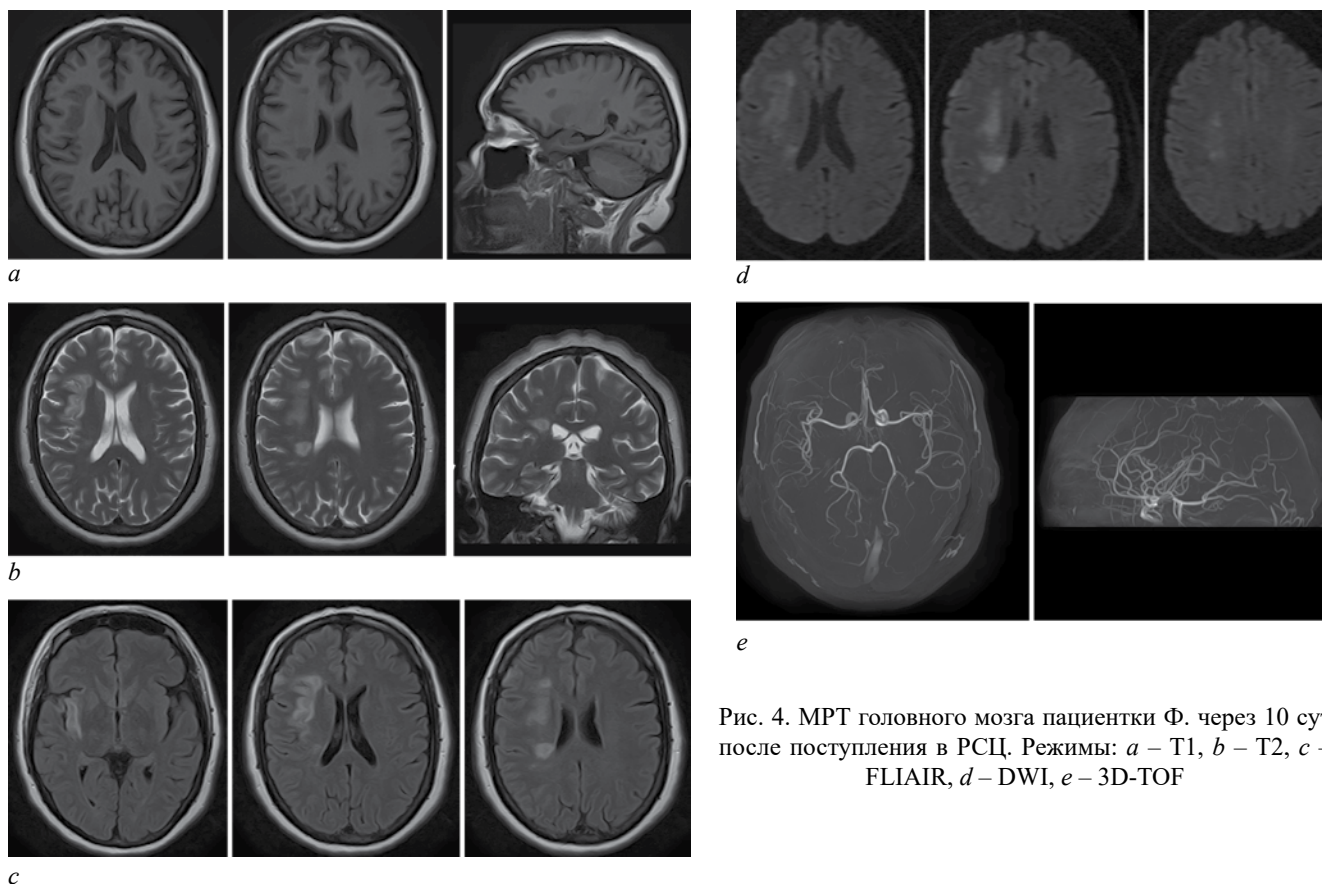


Рис. 4. МРТ головного мозга пациентки Ф. через 10 сут после поступления в РСЦ. Режимы: *a* – T1, *b* – T2, *c* – FLAIR, *d* – DWI, *e* – 3D-TOF

Проведено лечение: инфузионная терапия, цитиколин, сульпирид, амитриптилин, ацетилсалициловая кислота, лечебная физкультура, физио- и эрготерапия, на фоне чего в течение нескольких дней отмечено восстановление силы в левой руке до 5 баллов, но сохранялись неловкость при движениях в пальцах и гемипарестезия. После окончания курса лечения пациентка была выписана с положительной динамикой в удовлетворительном состоянии на второй этап реабилитации – в реабилитационный центр. Рекомендован прием аспирина кардио 100 мг длительно, курсом цитиколин и длительным курсом амитриптилин, суматриптан при приступах.

Катамнез отслежен по телефону через 2,5 года. После курса восстановительного лечения неврологический дефицит регрессировал практически полностью: нарушения чувствительности восстановились в течение 8 мес, однако сохранялась некоторая неловкость в левой руке. Отмечала также некоторое снижение памяти, которое не ограничивало повседневную деятельность. С наступлением менопаузы и сменой работы (ушла с руководящей должности) изменились головные боли: они стали реже, не чаще 1 раза в месяц, и менее интенсивными (5–6 баллов по ВАШ), не требуется приема суматриптана, купируются обычно комбинированными нестероидными противовоспалительными средствами (пенталгином) и глицином. Постоянно препараты не принимает.

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленный клинический случай не полностью соответствует диагностическим критериям МИ [2]: у пациентки отсутствовала аура. Эти критерии были сформулированы на основании нескольких метаанализов, в которых была показана связь его возникновения с женским полом, молодым возрастом, частотой приступов, наличием ауры и приемом оральных контрацептивов [1, 4–6]. Не выявлено статистически достоверной связи мигрени без ауры с риском возникновения ишемического инсульта, хотя и такие случаи были описаны как в зарубежной, так и русскоязычной литературе [7]. Кроме этого, доказано более частое выявление очагов ишемии в заднем бассейне кровообращения, часто – в мозжечке [8], а в данном случае очаг ишемии сформировался в бассейне средней мозговой артерии.

Согласно современным представлениям, в возникновении приступа мигрени важную роль играет активация серотонинергических нейронов ядер шва. Она, возможно, инициирует волну функциональной инактивации нейронов коры. Эта волна деполяризации нейронов, сменяющаяся волной олигемии, обозначают термином «распространяющаяся корковая

депрессия», совпадает с фазой ауры и, вероятно, является ее патофизиологической основой [1].

Общим фактором риска и инсульта, и мигрени может явиться дисфункция эндотелия. Нейроваскулярные эффекты эндотелиальной дисфункции приводят в конечном итоге к нарушению сосудистой реактивности, а это – доказанный триггер активации прокоагулянтных, провоспалительных и пролиферативных механизмов. У пациентов с мигренью отмечается повышение активности ключевых биомаркеров эндотелиальной дисфункции: фактора фон Виллебранда, С-реактивного белка, уровня нитратов/нитритов, а также циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников, что коррелирует с более длительной продолжительностью заболевания [9]. Во время приступа мигрени отмечается повышение уровня фактора активации тромбоцитов, который высвобождается из церебральных эндотелиальных клеток, тромбоцитов и тучных клеток в ответ на гипоксию, возможно, индуцированную распространяющейся корковой депрессией [10]. Важно, что это было выявлено в исследовании пациентов с мигренозными приступами без ауры. Таким образом, у пациентов во время приступов мигрени появляется прокоагулянтное состояние, что может послужить причиной формирования ишемического очага.

Вероятно, в приведенном клиническом примере это и явилось причиной возникновения ишемического инсульта у пациентки, так как его связь с мигренозным приступом не вызывает сомнения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В приведенном клиническом наблюдении описан случай мигренозного ишемического инсульта в глубинных отделах полушария головного мозга у пациентки, длительно страдающей мигренью без ауры во время затяжного приступа гемикрании. Это не полностью соответствует критериям мигренозного инфаркта, так как они возникают чаще у женщин, страдающих мигренью с аурой в системе задней циркуляции. В данном случае мигрень как причина инсульта не вызывает сомнения, а причиной формирования ишемического очага, вероятнее всего, явилась эндотелиальная дисфункция с активацией прокоагулянтных систем на фоне затяжного приступа гемикрании.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Табеева Г.Р. Цереброваскулярные расстройства, ассоциированные с мигренью. *Медицинский совет*. 2017;(10):32–35.
2. The international classification of headache; 3rd ed. *Cephalalgia*. 2018;38(1):1–211. DOI: 10.1177/0333102417738202.
3. Gryglas A., Smigiel R. Migraine and Stroke: What's the Link? What to do? *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2017;17(3):22. DOI: 10.1007/s11910-017-0729-y.

4. Etminan M., Takkouche B., Isorna F.C., Samii A. Risk of ischaemic stroke in people with migraine: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2005;330(7482):63–65. DOI: 10.1136/bmj.38302.504063.8F.
5. Schurks M., Rist P.M., Bigal M.E., Buring J.E., Lipton R.B., Kurth T. Migraine and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2009;339:b3914. DOI: 10.1136/bmj.b3914.
6. Spector J.T., Kahn S.R., Jones M.R., Jayakumar M., Dalal D., Nazarian S. Migraine headache and ischemic stroke risk: an updated meta-analysis. *Am. J. Med.* 2010;123(7):612–624. DOI: 10.1016/j.amjmed.2009.12.021.
7. Дубенко О.Е., Гаврюшин А.Ю., Зубков А.В., Екимова С.В., Ковтунов О.В. Осложнения мигрени. Мигренозный инсульт: анализ клинических случаев. *Международный неврологический журнал*. 2020;16(6):60–66. DOI: 10.22141/2224-0713.16.6.2020.215142.
8. Kruit M.C., van Buchem M.A., Launer L.J., Terwindt G.M., Ferrari M.D. Migraine is associated with an increased risk of deep white matter lesions, subclinical posterior circulation infarcts and brain iron accumulation: the population-based MRI camera study. *Cephalalgia*. 2010;30(2):129–136. DOI: 10.1111/j.1468-2982.2009.01904.x.
9. Tietjen G.E., Herial N.A., White L., Utley C., Kosmyna J.M., Khuder S.A. Migraine and biomarkers of endothelial activation in young women. *Stroke*. 2009;40(9):2977–2982. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.547901.
10. Sarchielli P., Alberti A., Coppola F., Baldi A., Gallai B., Floridi A. et al. Platelet-activating factor (PAF) in internal jugular venous blood of migraine without aura patients assessed during migraine attacks. *Cephalalgia*. 2004;24(8):623–630. DOI: 10.1111/j.1468-2982.2003.00717.x.

Информация об авторах

Плотников Денис Маркович – канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск, dmarkych@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5528-1634>

Алифиров Валентина Михайловна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, гл. внештатный специалист – главный невролог Департамента здравоохранения Томской области, г. Томск, v_alifirova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4140-3223>

Мосиенко Елизавета Сергеевна – врач-невролог, неврологическое отделение, ТОКБ, г. Томск, mrs.lobanova5@mail.ru

(✉) **Плотников Денис Маркович**, dmarkych@gmail.com

Поступила в редакцию 29.08.2022;
одобрена после рецензирования 03.10.2022;
принята к публикации 08.12.2022.

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-182-184>

Русскоязычный репозиторий открытых клинических данных SibMED Data Clinical Repository

**Куликов Е.С., Федорова О.С., Толмачев И.В., Рязанцева У.В., Вражнов Д.А.,
Губанов А.В., Нестерович С.В., Шмырина А.А.**

*Сибирский государственный медицинский университет
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

РЕЗЮМЕ

В эпоху глобальной цифровизации отрасли здравоохранения, благодаря развитию медицинских информационных систем, все большую актуальность и значимость приобретают открытые медицинские данные. Их использование востребовано для научных исследований и технологических проектов в сфере искусственного интеллекта. ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России впервые в России инициировал создание первого русскоязычного репозитория клинических данных SibMED Data Clinical Repository (<https://dataset.ssmu.ru/>). В статье описывается структура, функции репозитория, а также перспективы его использования.

Ключевые слова: репозиторий открытых клинических данных, открытые данные, медицинские информационные системы, цифровые технологии в клинической медицине, искусственный интеллект, машинное обучение, открытая наука

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: Куликов Е.С., Федорова О.С., Толмачев И.В., Рязанцева У.В., Вражнов Д.А., Губанов А.В., Нестерович С.В., Шмырина А.А. Русскоязычный репозиторий открытых клинических данных SibMED Data Clinical Repository. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):182–184. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-182-184>.

Russian-language repository of the open clinical data “SibMED Data Clinical Repository”

**Kulikov E.S., Fedorova O.S., Tolmachev I.V., Ryazantseva U.V., Vrazhnov D.A.,
Gubanov A.V., Nesterovich S.V., Shmyrina A.A.**

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

ABSTRACT

The global digitalization has become one of the most significant challenges in the field of medicine and healthcare. The rapid development of digital technologies determines the growing demand for constant access to big data in real time. Their use is in need for research and technological projects in the sphere of artificial intelligence technologies.

development. Siberian State Medical University developed the first Russian-language repository of clinical data “SibMed Data Clinical Repository” (<https://dataset.ssmu.ru/>). The article describes the structure, functions of the repository, and perspectives of its use.

Keywords: open clinical data repository, open data, medical information systems, digital health, artificial intelligence, machine learning, open science

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: Kulikov E.S., Fedorova O.S., Tolmachev I.V., Ryazantseva U.V., Vrazhnov D.A., Gubanov A.V., Nesterovich S.V., Shmyrina A.A. Russian-language repository of the open clinical data “SibMED Data Clinical Repository”. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):182–186. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-182-186>.

Цифровизация стала одним из наиболее значимых вызовов отрасли медицины и здравоохранения в XXI в. Внедрение цифровых решений в современной клинической практике позволяет улучшать качество и эффективность медицинской помощи, снижать затраты и обеспечивать безопасность пациентов. Стремительное развитие телемедицины, технологий на основе искусственного интеллекта определяют растущий спрос на постоянный доступ к большим данным в режиме реального времени [1, 2].

Институт статистических исследований и экономики знаний НИУ ВШЭ с помощью системы анализа больших данных iFORA выявил цифровые технологии, наиболее востребованные в медицине и здравоохранении. Так, среди лидирующих по значимости на рынке технологий и в исследованиях входят базы электронных медицинских записей [3]. Большие данные, накопленные в медицинских информационных базах, активно используются при создании систем поддержки принятия клинических решений, при разработке IT-технологий [4–6].

Одним из масштабных проектов, на основе которых разрабатываются такие алгоритмы, является открытая база медицинских данных MIMIC-IV. База разработана при сотрудничестве Медицинского центра Бет Исраэль Диаконисс и Массачусетского технологического института [7]. Такие данные являются широко востребованными, однако из-за расхождения систем здравоохранения различных стран использование MIMIC довольно ограничено [8].

Для развития направления открытых медицинских данных требуется разработка формализованных алгоритмов агрегации и хранения датасетов, обеспечение информационной безопасности [9, 10].

ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России впервые в России инициировал создание первого русскоязычного репозитория клинических данных SibMED Data Clinical Repository (<https://dataset.ssmu.ru/>). Проект SibMed Clinical Data Repository включает формирование цифровой инфраструктуры для хранения и быстрого доступа к медицинским данным, а также образовательную программу, направленную на формирование компетенций по работе со структурированными и неструктурированными биомедицинскими данными для решения исследовательских и технологических задач.

Репозиторий объединяет базы данных амбулаторной и стационарной службы многопрофильных клиник Сибирского государственного медицинского университета, содержит анонимизированную медицинскую информацию и непрерывно пополняется. Данные деперсонифицированы в соответствии с требованиями федерального законодательства и содержат информацию текстового, числового характера.

SibMED Data Clinical Repository рекомендован к использованию как для исследователей, специалистов в области data science, машинного обучения, управления здравоохранением, предпринимателей, так и для организаций-разработчиков цифровых решений в сфере здравоохранения. Задачи, которые решает SibMed Clinical Data Repository, включают: разработку и тестирование алгоритмов в сфере здравоохранения, создание продуктов для бизнеса и медицины, аналитику проведенных лечебных и диагностических мероприятий, внедрение технологий искусственного интеллекта, разработку программ лечения.

Открытость медицинских данных, доступных благодаря этому проекту, будет способствовать

созданию новых решений для медицины и здравоохранения, улучшению качества жизни и обеспечению более доступной медицинской помощи.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kong H.J. Managing Unstructured Big Data in Healthcare System. *Healthcare Informatics Research*. 2019;25 (1):1–2. DOI: 10.4258/hir. 2019.25.1.1.
2. Мохначева Т., Моногарова Ю., Варакина Ж. Вовлеченность организаторов здравоохранения в процесс цифровизации здравоохранения. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2023;(1):2–20. DOI: 10.21045/2071-5021-2023-69-1-11.
3. Гребенюк А.Ю. Топ-10 цифровых решений в медицине и здравоохранении. URL: <https://issek.hse.ru/news/691544400.html>
4. Карпов О.Э., Субботин С.А., Шишканов Д.В. Использование медицинских данных для создания систем поддержки принятия врачебных решений. *Врач и информационные технологии*. 2019;(2).
5. Аветисян М.С., Егоров К.С., Кох В.Н. и др. Разработка алгоритма поиска клинически однородных пациентов по слабоструктурированным текстовым данным электронной медицинской карты онкологического профиля. *Врач и информационные технологии*. 2019;(3).
6. Гусев А.В., Зингерман Б.В., Тюфилин Д.С., Зинченко В.В. Электронные медицинские карты как источник данных реальной клинической практики. *MyRWD*. 2022;(2):8–20.
7. Johnson A.E.W., Bulgarelli L., Shen L. et al. MIMIC-IV, a freely accessible electronic health record dataset. *Sci. Data*. 2023;10(1):1. DOI: 10.1038/s41597-022-01899-x.
8. Giesa N., Heeren P., Klopfenstein S., Flint A., Agha-Mir-Salim L., Poncette A. et al. MIMIC-IV as a clinical data schema. *Stud. Health Technol. Inf.* 2022;294:559–560. DOI: 10.3233/SHTI220522.
9. Zhang J., Symons J., Agapow P., Teo J.T., Paxton C.A., Abdi J. et al. Best practices in the real-world data life cycle. *PLOS Digit. Health*. 2022;1(1). DOI: 10.1371/journal.pdig.0000003.
10. Буров В., Бегтин И., Ганеева Э. Работа с открытыми данными: особенности публикации и использования в российском правовом поле 18.11.2020 [Аналитический доклад]. Информационная культура. URL: <https://www.infoculture.ru/wp-content/uploads/2020/11/OpenDataReview.pdf>

Информация об авторах

Куликов Евгений Сергеевич – д-р мед. наук, доцент, ректор, СибГМУ, г. Томск, kulikov.es@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0088-9204>

Федорова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, fedorova.os@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

Толмачев Иван Владиславович – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник научно-образовательной лаборатории «Бионические цифровые платформы», СибГМУ, г. Томск, ivantolm@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2888-5539>

Рязанцева Ульяна Вячеславовна – аналитик, научное управление, СибГМУ, г. Томск, ryazantseva.uv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9292-3969>

Вражнов Денис Александрович – научный сотрудник научно-образовательной лаборатории «Бионические цифровые платформы», СибГМУ, г. Томск, vrazhnov.da@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6915-6156>

Губанов Александр Валерьевич – ассистент научно-образовательной лаборатории «Бионические цифровые платформы», СибГМУ, г. Томск, derzhiabuz@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7465-6238>

Нестерович Софья Владимировна – канд. мед. наук, гл. врач, клиники СибГМУ, г. Томск, nesterovich.sv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2098-2964>

Шмырина Александра Андреевна – начальник управления цифровых технологий, СибГМУ, г. Томск, shmyrina.aa@ssmu.ru, <http://orcid.org/0009-0002-6549-1608>

(✉) **Федорова Ольга Сергеевна**, fedorova.os@ssmu.ru

Поступила в редакцию 10.05.2023;
принята к публикации 25.05.2023

ЖУРНАЛ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ» ПРЕДСТАВЛЕН НА СЛЕДУЮЩИХ РЕСУРСАХ



Unpaywall – браузерное расширение. Оно находит бесплатные копии научных статей, оригиналы которых находятся под paywall. В открытой базе данных сервиса есть более 31 миллиона научных публикаций



Baidu – китайская компания, предоставляющая веб-сервисы, основным из которых является поисковая система с таким же названием – лидер среди китайских поисковых систем



Scilit – это всеобъемлющая бесплатная база данных для ученых, использующая новый метод сопоставления данных и индексирования научных материалов. Наши сканеры ежедневно извлекают последние данные из CrossRef и PubMed



Регулярно обновляемая коллекция периодических изданий Китая по широкому кругу дисциплин



Викиданные – это бесплатная и открытая база знаний, которую могут читать и редактировать как люди, так и машины



SCImago Journal & Country Rank – это общедоступный портал, который включает научные показатели журналов и стран, разработанные на основе информации, содержащейся в базе данных Scopus® (Elsevier B.V.). Эти показатели можно использовать для оценки и анализа научных областей.



Данный сервис обеспечивает полнотекстовый поиск по всем исследовательским публикациям, заархивированным в различных коллекциях Архива Интернета.



НейроАссистент – сервер научного издательства предназначен для авторов, редакторов и рецензентов научных журналов. Сервис позволяет автоматизировать работу с текстами научных статей с помощью искусственного интеллекта

bulletin.ssmu.ru

ISSN PRINT: 1682-0363
ISSN ONLINE: 1819-3684
Бюллетень сибирской медицины
Bulletin' sibirskoy' medicine
bulletin
ENG | РУС

Бюллетень сибирской медицины
Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ
О ЖУРНАЛЕ
МОЙ КАБИНЕТ
ПОИСК
СВЕЖИЙ НОМЕР
АРХИВ
НОВОСТИ
АРХИВ 2002-2011

Научно-практический рецензируемый журнал
Научно-практический журнал общемедицинского профиля «Бюллетень сибирской»

медицины/Bulletin of Siberian Medicine» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты научных исследований, ориентированных на разработку передовых медицинских технологий.

С целью объединения научной медицинской общественности, распространения актуальной информации и содействия профессиональному росту специалистов журнал публикует оригинальные научные статьи, представляющие результаты экспериментальных и клинических исследований, лекции, научные обзоры, отражающие результаты исследований в различных областях медицины. Приоритет для публикации предоставляется материалам по перспективным направлениям современной медицинской науки:

- молекулярная медицина,
- регенеративная медицина и биоинженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина,
- трансляционная медицина.

Журнал выполняет широкий спектр функций, которые в целом дают представление об основных направлениях развития российской медицинской науки и ее достижениях, ее конкурентоспособности и степени интеграции в международное научное сообщество.

Научно-практический рецензируемый журнал «Бюллетень сибирской медицины / Bulletin of Siberian Medicine» издается Сибирским государственным медицинским университетом с 2001 г. при поддержке ТРОО «Академия доказательной доказательной медицины».

Главный редактор — член-корреспондент РАН О.И. Уразова.

Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № 77-7366 от 26.03.2001 г.

ISSN 1682-0363

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция 01.12.2015).

Индексация:

- ИИНЦ (RSCI; Science Index)
- Киберленинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на страницах «Бюллетень сибирской медицины» публикуются

Отправить статью
Правила для авторов
Редакционная коллегия
Рецензирование
Этика публикаций

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок различного характера

Том 16, № 1 (2017)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети

ISSN 1682-0363 (print)

ISSN 1819-3684 (online)

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

2023. Т. 22. № 2. 1–184