

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 23

№ 1. 2024

# 300 ЛЕТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

В 2024 г. Российская академия наук отмечает 300-летие. За три столетия истории академии менялись ее состав, государственный статус, научная направленность. Но одно оставалось неизменным — роль академии наук как главного научного учреждения страны.



За годы своего правления последний царь и первый император Петр Первый сделал многое для России: создал флот, основал академию наук, построил на болотистой местности целый город! Академия наук стала родоначальницей всей системы научной деятельности в стране. Россия взяла курс на науку и образование.



Лаврентий Лаврентьевич  
Блюментрост

Еще до официального открытия академии наук император стал активно разрабатывать элементы будущей инфраструктуры. Первым делом Петр Первый сделал общедоступным свое личное собрание книг и нанял библиотекаря, который должен был следить за собранием и пополнять его. Также в 1714 г. Петр организовал публичный музей – Кунсткамеру, фонды которого содержали различные редкости. В документах об учреждении Академии наук и художеств Кунсткамера рассматривалась как неотъемлемая часть академии наук, а фонд — как инструмент, способствующий деятельности академиков.

В наши дни мы отмечаем день основания академии наук как День российской науки — 8 февраля. Именно 8 февраля 1724 г. (28 января по старому стилю) Сенат опубликовал указ об учреждении «Академии, или Социетета художеств и наук». Однако сам Петр Первый не успел торжественно открыть академию. Это сделала его вторая жена императрица Екатерина I в декабре 1725 г.

Первым президентом академии наук стал лейб-медик Лаврентий Блюментрост. Несмотря на свои иностранные корни, Блюментрост первое время оставался единственным из академиков, родившимся в России. При подготовке документов об учреждении академии наук он руководствовался установками императора и успешно вел дела от его имени, а затем и от имени императрицы Екатерины.

Спустя 12 лет после основания академии наук известный французский физик Дорту де Меран писал: «Петербургская академия со времени своего рождения поднялась на выдающуюся высоту науки, до которой академии Парижская и Лондонская добрались только за 60 лет упорного труда».

Во все времена академическое сообщество осознавало главную цель академии наук: расширять пределы человеческих знаний, развивать науки, обогащать их новыми открытиями и просвещать человечество. Ведь наука была и остается двигателем прогресса.

Информация взята с портала «Научная Россия» (<https://scientificrussia.ru/>)

# БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал  
Выходит 4 раза в год

Том 23, № 1, 2024

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](mailto: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 29.03.2024 г.  
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.  
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».  
Печ. л. 21,9. Усл. печ. л. 21,0.  
Тираж 500 экз. Заказ 123.

Цена – свободная.  
Дата выхода в свет 29.03.2024.

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. Erpple, *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 23, No. 1, 2024**

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](mailto: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 29.03.2024  
Format 60 × 84/8. Offset print.  
Coated paper. Times font.  
P.s. 21,9. C.p.s. 21,0.  
500 copies. Order No. 123.

The price – free.  
Date of publication 29.03.2024.

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

© Siberian State Medical University, 2024

## 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  |
|---|--|
| <p>Винокурова Д.А., Куликов Е.С., Федосенко С.В.,<br/>Губарева А.М., Пшеворская Е.В., Осипов П.В.,<br/>Аржаник М.Б., Старовойтова Е.А., Аржаник А.А.<br/>Сравнительный анализ прогностической значимости<br/>шкал CURB-65, CRB-65 и их модификаций в оценке<br/>госпитальной летальности у пациентов с внебольнич-<br/>ной пневмонией</p> | <p>Vinokurova D.A., Kulikov E.S., Fedosenko S.V.,<br/>Gubareva A.M., Pshevorskaya E.V., Osipov P.V.,<br/>Arzhanik M.B., Starovoitova E.A., Arzhanik A.A.<br/>Comparative analysis of the prognostic significance<br/>of the CURB-65 and CRB-65 scores and their<br/>modifications in hospital mortality assessment in<br/>patients with community-acquired pneumonia</p> |
| <p>Галкин С.А., Корнетова Е.Г., Иванова С.А.<br/>Сравнительный анализ электроэнцефалограммы у<br/>больных шизофренией, получающих различные ати-<br/>пичные антипсихотики</p>   | <p>Galkin S.A., Kornetova E.G., Ivanova S.A.<br/>Comparative analysis of EEG in patients with<br/>schizophrenia receiving various atypical antipsy-<br/>chotics</p>  |
| <p>Герштейн Е.С., Ковалева О.В., Кузьмин Ю.Б.,<br/>Алферов А.А., Рогожин Д.В., Янушевич О.О.,<br/>Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е.<br/>Супрессор метастазирования кисспептин (KISS1) в сы-<br/>воротке крови больных раком легкого</p>   | <p>Gershtein E.S., Kovaleva O.V., Kuzmin Yu.B.,<br/>Alferov A.A., Rogozhin D.V., Yanushevich O.O.,<br/>Stilidi I.S., Kushlinskii N.E.<br/>Metastasis suppressor kisspeptin (KISS1) in the<br/>blood serum of lung cancer patients</p>  |
| <p>Епринцев А.Т., Пресняков Е.С., Селиванова Н.В.<br/>Транскрипционная регуляция функционирования лак-<br/>татдегидрогеназы в клетках почек крыс при диабетиче-<br/>ской нефропатии</p>   | <p>Eprintsev A.T., Presnyakov E.S., Selivanova N.V.<br/>Transcriptional regulation of lactate dehydrogenase<br/>activity in rat kidney cells in diabetic nephropathy</p>   |
| <p>Джуманиязова Э.Д., Вишнякова П.А., Чиркова М.В.,<br/>Карпулевич Е.А., Еремина И.З., Гордон К.Б.,<br/>Каприн А.Д., Фатхудинов Т.Х.<br/>Исследование транскриптома плоскоклеточного рака<br/>головы и шеи после протонного облучения</p>   | <p>Jumaniyazova E.D., Vishnyakova P.A., Chirkova M.V.,<br/>Karpulevich E.A., Eremina I.Z., Gordon K.B.,<br/>Kaprin A.D., Fatkhudinov T.H.<br/>Study of head and neck squamous cell carcinoma<br/>transcriptome after proton therapy</p>  |
| <p>Захарова А.Н., Милованова К.Г., Орлова А.А.,<br/>Коллантай О.В., Шувалов И.Ю., Каплевич Л.В.<br/>Окислительное фосфорилирование в ткани бурого<br/>жира у мышей с моделью сахарного диабета II типа по-<br/>сле принудительных беговых нагрузок</p>  | <p>Zakharova A.N., Milovanova K.G., Orlova A.A.,<br/>Kollantay O.V., Shuvalov I.Yu., Kapilevich L.V.<br/>Oxidative phosphorylation in brown adipose tissue<br/>in a type II diabetes mellitus mouse model after<br/>forced treadmill running</p>   |

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В.,  
Панина М.И., Ступин В.А., Ким А.Э., Титова Е.Г.,  
Рогожина Л.С.

Противоинфекционная защита организма человека с  
участием нейтрофильных сетей

56

Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V.,  
Panina M.I., Stupin V.A., Kim A.E., Titova E.G.,  
Rogozhina L.S.

Neutrophil extracellular traps in the anti-infectious  
defense of human organism

Самгина Т.А., Кочетова Л.В.

Ассоциация вариантов нуклеотидной последовательности  
гена *GSS* с риском развития острого билиарного  
панкреатита

64

Samgina T.A., Kochetova L.V.

Association of polymorphic loci of the *GSS* gene  
with the risk of acute biliary pancreatitis

Тимофеева Т.М., Ефимова В.П., Сафарова А.Ф.,  
Кобалава Ж.Д.

Роль спекл-трекинг эхокардиографии в трехмерном ре-  
жиме для прогнозирования отдаленных исходов после  
первого инфаркта миокарда

69

Timofeeva T.M., Efimova V.P., Safarova A.F.,  
Kobalava Zh.D.

The role of 3D speckle-tracking echocardiography  
in predicting long-term outcomes after a first myo-  
cardial infarction

Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Дьякова М.Е.,  
Каростик Д.В., Григорьев И.В., Соколов Е.Г.

Показатели системы «матричные металлопротеиназы  
и ингибиторы» периферической крови в оценке клини-  
ческого течения туберкулемы легких

77

Esmedlyaeva D.S., Alekseeva N.P., Dyakova M.Ye.,  
Karostik D.V., Grigoriev I.V., Sokolovich E.G.

Parameters of the mmp / timp system in assessing  
the clinical course of pulmonary tuberculoma

Черемных Е.Г., Савушкина О.К., Прохорова Т.А.,  
Зозуля С.А., Отман И.Н., Позднякова А.Н.,  
Карпова Н.С., Шилов Ю.Е., Ключник Т.П.

Многофакторная модель оценки состояния больных  
шизофренией на основе системы биомаркеров

85

Cheremnykh E.G., Savushkina O.K., Prokhorova T.A.,  
Zozulya S.A., Otman I.N., Pozdnyakova A.N.,  
Karpova N.S., Shilov Yu.E., Klyushnik T. P.

Multifactorial, biomarker-based model for asses-  
sing the state of patients with schizophrenia

Ярославская Е.И., Широков Н.Е., Криночкин Д.В.,  
Мигачева А.В., Коровина И.О., Осокина Н.А.,  
Сапожникова А.Д., Петелина Т.И.

Динамика сердечно-сосудистого статуса пациентов че-  
рез 3 и 12 месяцев после пневмонии COVID-19: показа-  
тели сосудистой жесткости, диастолической функции и  
продольной деформации левого желудочка

95

Yaroslavskaya E.I., Shirokov N.E., Krinochkin D.V.,  
Migacheva A.V., Korovina I.O., Osokina N.A.,  
Sapozhnikova A.D., Petelina T.I.

Changes in the cardiovascular profile in patients 3  
and 12 months after COVID-19 pneumonia: para-  
meters of arterial stiffness, global longitudinal  
strain, and diastolic function of the left ventricle

| ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ  | REVIEWS AND LECTURES  |
|--|---|
| <p>Авлиякулыева А.М., Киндякова Е.К., Кузьмина С.В., Горина Я.В., Лопатина О.Л.<br/>Роль нейропептидов (окситоцин, вазопрессин, нейропептид S) в развитии когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера</p>  | <p>Avliyakulyeva A.M., Kindyakova E.K., Kuzmina S.V., Gorina Y.V., Lopatina O.L.<br/>The role of neuropeptides (oxytocin, vasopressin, neuropeptide S) in the development of cognitive impairment in Alzheimer's disease</p>  |
| <p>Дегтярев И.Ю., Завадовская В.Д., Куражов А.П., Зоркальцев М.А., Алифиров В.М., Суханова К.С.<br/>Современные возможности магнитно-резонансной диагностики рассеянного склероза. Обзор литературы</p>  | <p>Degtyarev I.Yu., Zavadovskaya V.D., Kurazhov A.P., Zorkaltsev M.A., Alifirova V.M., Sukhanova K.S.<br/>Modern possibilities of MRI-based diagnosis of multiple sclerosis. Literature review</p>  |
| <p>Жданов В.В., Чайковский А.В., Пан Э.С.<br/>Роль звездчатых клеток в формировании ниши прогениторных клеток печени</p>   | <p>Zhdanov V.V., Chaikovskii A.V., Pan E.S.<br/>Hepatic stellate cells and their role in the formation of the progenitor cell niche</p>   |
| <p>Зайнетдинова Л.Ф., Телешева Л.Ф., Медведев Б.И., Хахулина В.В.<br/>Вульвовагинальная атрофия: современные методы диагностики и лечения (обзор литературы)</p>   | <p>Zainetdinova L.F., Telesheva L.F., Medvedev B.I., Khakhulina V.V.<br/>Vulvovaginal atrophy: current methods of diagnosis and treatment</p>   |
| <p>Каляужин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Каляужина Е.В., Черногорюк Г.Э., Терентьева Н.Н., Гракова Е.В., Копьева К.В., Гарганеева Н.П., Лившиц И.К., Останко В.Л., Шаловой А.А., Пушникова Е.Ю., Аптекарь В.Д.<br/>Проект новой классификации хронической сердечной недостаточности Российского кардиологического общества: есть ли очевидные преимущества перед действующими?</p> | <p>Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Beshpalova I.D., Kalyuzhina E.V., Chernogoryuk G.E., Terentyeva N.N., Grakova E.V., Kopeva K.V., Garganeeva N.P., Livshits I.K., Ostanko V.L., Shalovay A.A., Pushnikova E.Yu., Aptekar V.D.<br/>New draft classification of chronic heart failure of the Russian Society of Cardiology: are there any obvious advantages over the current ones?</p> |
| <p>Кучер А.Н., Назаренко М.С.<br/>Спектр фенотипических проявлений моногенных заболеваний, связанных с генами кардиомиопатий</p>   | <p>Kucher A.N., Nazarenko M.S.<br/>Monogenic diseases associated with cardiomyopathy genes and their phenotypic manifestations</p>  |
| <p>Орлова Е.А., Огарков О.Б., Колесникова Л.И.<br/>Особенности микробиоты легких при туберкулезной инфекции</p>  | <p>Orlova E.A., Ogarkov O.B., Kolesnikova L.I.<br/>Features of the lung microbiota in tuberculosis infection</p>  |

## Глубокоуважаемые авторы и читатели журнала!



Главный редактор Ольга Ивановна Уразова,  
д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН,  
зав. кафедрой патофизиологии

В 2024 г. мы продолжаем следовать приоритетам государственной политики в области развития отечественной науки и технологий, публикуя в журнале «Бюллетень сибирской медицины» статьи по передовым направлениям медико-биологических исследований в России и мире в целом.

В связи с обращением стратегии руководства страны на решение проблемных вопросов по привлечению талантливой молодежи в сферу исследований и разработок, мы рассчитываем на рост интереса молодых ученых и врачей к исследовательской работе и повышение их публикационной активности, в том числе на страницах нашего научного издания.

Журнал и далее будет стремиться сохранять международный формат и лидирующие позиции в мире современной медико-биологической науки. Более того, мы ставим перед собой амбициозные цели по дальнейшему продвижению журнала в число передовых мировых изданий. Но на пути к

этому нам, безусловно, потребуются ваши – дорогие авторы и читатели – интерес и опыт... Кроме того, ваш труд и стремление поделиться результатами проделанных изысканий послужат ярким примером для студентов и молодых исследователей, еще не имеющих серьезных научных достижений и наград, но уже имеющих перспективы реализации в науке.

Желаю всем авторам и читателям успехов и новых содержательных и увлекательных публикаций! Выражаю членам редакционной коллегии и сотрудникам научного издания огромную признательность за приверженность традициям журнала, его поддержку и развитие!



УДК 616.24-002-039.57-036.88-07-037  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-7-14>



## Сравнительный анализ прогностической значимости шкал CURB-65, CRB-65 и их модификаций в оценке госпитальной летальности у пациентов с внебольничной пневмонией

Винокурова Д.А.<sup>1</sup>, Куликов Е.С.<sup>1</sup>, Федосенко С.В.<sup>1</sup>, Губарева А.М.<sup>1</sup>, Пшеворская Е.В.<sup>1</sup>, Осипов П.В.<sup>1</sup>, Аржаник М.Б.<sup>1</sup>, Старовойтова Е.А.<sup>1</sup>, Аржаник А.А.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> ПАО «Московский кредитный банк»  
Россия, 107045, г. Москва, Луков переулок, 2, стр. 1

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Смертность от внебольничной пневмонии (ВП) остается серьезной проблемой систем здравоохранения разных стран. Правильная оценка тяжести и места лечения больного имеет решающее значение в исходе заболевания.

**Цель.** Оценить прогностическую значимость шкал CURB-65 и CRB-65 с их модификацией в определении риска смерти у госпитализированных больных с ВП.

**Материалы и методы.** В ретроспективное исследование включили 1 412 пациентов с ВП старше 18 лет. На популяции 1 020 больных, с последующим разделением на тестовую ( $n = 676$ ) и обучающую ( $n = 344$ ) выборки 2 : 1, выполнено сравнение прогностической ценности шкал CURB-65 (спутанность сознания, мочевины  $> 7$  ммоль/л, частота дыхания  $\geq 30$ /мин, низкое артериальное давление (АД) и возраст  $\geq 65$  лет) и CRB-65 (исключена мочевины) в идентификации пациентов с высоким риском госпитальной смерти. Проведена модификация указанных шкал с изменением точек разделения по каждому из критериев для повышения их точности. Для сравнения использовался анализ ROC-кривых с вычислением AUC (площади под кривой).

**Результаты.** Модифицированная шкала CURB-65 с новыми точками разделения (возраст  $> 72$  лет, частота дыхания  $> 21$ /мин, уровень мочевины  $> 9,5$  ммоль/л, систолическое АД  $\leq 105$  мм рт. ст. и диастолическое АД  $\leq 65$  мм рт. ст.) оказалась точнее исходной в прогнозировании смерти и названа CURB-72. Для CURB-72 и CURB-65 AUC составила 0,946 (95%-й доверительный интервал (95% ДИ) 0,916–0,967) и 0,905 (95% ДИ 0,869–0,934) соответственно ( $p = 0,0034$ ). Измененная модель CRB-65 (CRB-72) также превзошла исходную, но статистически значимо они не различались. При сравнении модифицированных шкал между собой новая шкала CURB-72 продемонстрировала максимальную точность в выявлении пациентов с ВП с риском госпитальной летальности, превзойдя CRB-72 ( $p = 0,0347$ ).

**Заключение.** Модифицированные CURB-65 (CURB-72) и CRB-65 (CRB-72) демонстрируют потенциал в оценке прогноза ВП и превосходят классические шкалы, при этом CURB-72 демонстрирует наибольшую чувствительность и специфичность.

**Ключевые слова:** внебольничная пневмония, CRB-65, CURB-65, смерть, прогноз, пневмония, шкалы

**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 СибГМУ (заключение № 5789 от 26.02.2018). Исследование ретроспективное, не предусматривало информированного согласия.

✉ Винокурова Дарья Александровна, [vinokurovadarial@gmail.com](mailto:vinokurovadarial@gmail.com)

Для цитирования: Винокурова Д.А., Куликов Е.С., Федосенко С.В., Губарева А.М., Пшеворская Е.В., Осипов П.В., Аржаник М.Б., Старовойтова Е.А., Аржаник А.А. Сравнительный анализ прогностической значимости шкал CURB-65, CRB-65 и их модификаций в оценке госпитальной летальности у пациентов с внебольничной пневмонией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):7–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-7-14>.

## Comparative analysis of the prognostic value of CURB-65 and CRB-65 scores and their modifications in assessing in-hospital mortality in patients with community-acquired pneumonia Siberian State Medical University

Vinokurova D.A.<sup>1</sup>, Kulikov E.S.<sup>1</sup>, Fedosenko S.V.<sup>1</sup>, Gubareva A.M.<sup>1</sup>, Pshevorskaya E.V.<sup>1</sup>, Osipov P.V.<sup>1</sup>, Arzhanik M.B.<sup>1</sup>, Starovoitova E.A.<sup>1</sup>, Arzhanik A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Credit Bank of Moscow

Build. 1, 2, Lukov Lane, Moscow, 107045, Russian Federation

### ABSTRACT

**Background.** Mortality associated with community-acquired pneumonia (CAP) continues to be a crucial health problem worldwide. Correct assessment of CAP severity and the level of care is pivotal in the disease outcome.

**Aim.** To evaluate the prognostic value of the CURB-65 and CRB-65 scores and their modifications in determining the risk of in-hospital mortality in patients with CAP.

**Materials and methods.** The retrospective study included 1,412 patients with CAP aged over 18 years. In a population of 1,020 patients, which was subsequently split into test ( $n = 676$ ) and training ( $n = 344$ ) samples in the ratio 2 : 1, we compared the predictive value of the CURB-65 (confusion, urea  $> 7$  mmol / l, respiratory rate  $\geq 30$  / min, low blood pressure (BP), and age  $\geq 65$  years) and CRB-65 (confusion, respiratory rate  $\geq 30$  / min, low blood pressure (BP), and age  $\geq 65$  years) scores in identifying patients at high risk of in-hospital death. The specified scoring systems were modified by changing the cut-offs for each criterion to increase their accuracy. For comparison, we used the ROC analysis with the calculation of the area under the curve (AUC).

**Results.** The modified CURB-65 score with new cut-off values (age  $> 72$  years, respiratory rate  $> 21$  / min, urea level  $> 9.5$  mmol / l, systolic blood pressure  $\leq 105$  mm Hg, and diastolic blood pressure  $\leq 65$  mm Hg) was more accurate than the original one in predicting death and was named CURB-72. The AUC for CURB-72 and CURB-65 was 0.946 (95% confidence interval (CI): 0.916–0.967) and 0.905 (95% CI: 0.869–0.934), respectively ( $p = 0.0034$ ). The modified CRB-65 (CRB-72) score also outperformed the original model, but showed no statistically significant difference. While comparing the modified scoring systems, the new CURB-72 score surpassed the CRB-72 score and demonstrated maximum accuracy in identifying CAP patients at risk of in-hospital mortality ( $p = 0.0347$ ).

**Conclusion.** The modified CURB-65 (CURB-72) and CRB-65 (CRB-72) scores demonstrated potential for assessing the prognosis of CAP and are superior to classical scoring systems. CURB-72 showed the highest sensitivity and specificity.

**Keywords:** community-acquired pneumonia, pneumonia, CRB-65, CURB-65, mortality, prognosis, pneumonia, scores

**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 Siberian State Medical University (Protocol No. 5789 of 26.02.2018).

**For citation:** Vinokurova D.A., Kulikov E.S., Fedosenko S.V., Gubareva A.M., Pshevorskaya E.V., Osipov P.V., Arzhanik M.B., Starovoitova E.A., Arzhanik A.A. Comparative analysis of the prognostic significance of the CURB-65 and CRB-65 scores and their modifications in hospital mortality assessment in patients with community-acquired pneumonia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):7–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-7-14>.

## ВВЕДЕНИЕ

Внебольничная пневмония (ВП) остается одной из основных причин высокой заболеваемости, смертности, а также больших затрат систем здравоохранения разных стран [1, 2]. По данным исследования глобального бремени болезней, травм и факторов риска, за 2016 г. во всем мире было зарегистрировано более 336 млн эпизодов инфекций нижних дыхательных путей (ИНДП), что соответствует 65,9 млн госпитализаций и 2 377 697 смертей [3]. Несмотря на современные достижения медицины, глубокое понимание этиологии, патогенеза и возможности антибактериальной терапии, по данным Всемирной организации здравоохранения, ИНДП занимают четвертое место среди всех причин смерти на 2019 г. [4].

Одним из ключевых этапов для благоприятного исхода ВП является первоначальная оценка тяжести и прогноза заболевания, позволяющая врачу определить место оказания помощи, объем необходимых исследований и интенсивность терапии. В мире существует ряд систем оценки прогноза при ВП. Наиболее популярными среди них являются индекс тяжести пневмонии (pneumonia severity index, PSI) [5] и CURB-65 (C (confusion) – нарушение сознания вследствие пневмонии; U (urea) – повышение уровня азота мочевины крови  $> 7$  ммоль/л; R (respiratory rate) – тахипноэ с частотой дыхания (ЧД)  $\geq 30$ /мин; B (blood pressure) – снижение систолического артериального давления (САД)  $< 90$  мм рт. ст. либо диастолического артериального давления (ДАД)  $< 60$  мм рт. ст. и возраст  $\geq 65$  лет) [6].

Обе шкалы были разработаны для облегчения принятия решений о месте оказания медицинской помощи на основании определения риска неблагоприятного исхода ВП. При этом PSI состоит из 20 переменных, включающих в том числе такие лабораторные тесты, как pH крови, что в ряде случаев затрудняет ее использование на практике. Эта шкала подразумевает распределение пациентов на пять категорий риска смерти (в зависимости от количества баллов) и предполагает амбулаторное лечение для пациентов I–II классов, кратковременную госпитализацию у больных III класса, полноценную госпитализацию при IV и V классах риска (с высокой вероятностью попадания в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) для последнего).

CURB-65 классифицирует пациентов на группы низкого, среднего и высокого риска на основе только пяти показателей, за наличие каждого из которых присваивается один балл. Больным с наличием 0–1 баллов показано амбулаторное лечение, с 2 – кра-

ткосрочная госпитализация, с 3–5 баллами – госпитализация с высокой вероятностью перевода в ОРИТ при максимальном количестве баллов [6]. CRB-65, являясь упрощенной версией CURB-65, не включает оценку мочевины крови и может быть определена буквально за несколько минут на любом этапе оказания медицинской помощи. В данном случае низкий риск присваивается пациентам с 0 баллов, средний – при наличии 1–2 баллов, а высокий – больным с 3 и 4 баллами [6].

Не вызывает сомнений тот факт, что врачи приемного покоя, с высокой интенсивностью работы и потоком пациентов, далеко не всегда прибегают к использованию прогностических моделей для принятия решений о месте лечения пациента. Так, по данным С.А. Рачиной и соавт. (2016), в рутинной практике российских больниц обе шкалы используются врачами только в единичных случаях [7]. К неутешительным выводам приходят и зарубежные коллеги. Так, в тестировании практикующих врачей D.J. Serisier и соавт. (2013) только 11,8% пульмонологов и 21% врачей приемных отделений смогли правильно определить классы тяжести по шкале PSI. Оценку по CURB-65 смогли провести 20,4% пульмонологов и 15% врачей приемных отделений [8]. Таким образом, очевидно, что более сложные шкалы, включающие в себя множество параметров для оценки, чаще остаются невостребованными в реальной клинической практике.

Целью данной работы стала оценка прогностической значимости шкал CURB-65 и CRB-65 у госпитализированных больных ВП при определении риска неблагоприятного исхода с последующей модификацией этих систем оценки для повышения их точности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках ретроспективного исследования методом сплошной выборки включены данные 1 412 пациентов в возрасте 18 лет и старше, госпитализированных в дежурные стационары г. Томска с диагнозом «внебольничная пневмония» в 2017 г. В исследование не включались пациенты с внутрибольничной пневмонией, туберкулезом легких, злокачественными новообразованиями легких, а также больные с рентгенологически подтвержденной септической пневмонией. Протокол исследования утвержден этическим комитетом СибГМУ (заключение № 5789 от 26.02.2018).

В данной работе выполнена оценка более 200 параметров, включая особенности развития ВП, данные социально-демографического статуса, жалобы, анамнез, объективный статус, результаты лабора-

торных и инструментальных исследований, информацию о лечении на догоспитальном этапе и в условиях стационара, сведения о течении заболевания в период госпитализации и исходы. Проведена сравнительная оценка прогностической ценности шкал CURB-65, CRB-65 при идентификации пациентов с повышенным риском смерти в период госпитализации. Также проведена модификация указанных шкал с изменением точек разделения по каждому из критериев для повышения их точности. Для оценки параметров по каждой из шкал включались данные физикального осмотра, уровень мочевины крови (для CURB-65) и возраст, измеренные в момент поступления пациента в приемный покой.

Анализ полученных данных выполнен при помощи пакета статистических программ MedCalc, v. 18.9.1. Описание количественных показателей проведено с указанием медианы интерквартильного размаха  $Me (Q_{25}; Q_{75})$ , качественных – с указанием абсолютных и относительных частот  $n (%)$ . Для анализа прогностической значимости шкал CURB-65 и CRB-65 использовался анализ ROC-кривых с вычислением AUC (площади под кривой), 95%-го доверительного интервала (ДИ) для AUC, определением точки разделения по критерию Йодена, чувствительности и специфичности для данной точки, а также с установлением статистической значимости различий между AUC для шкал и их модификаций. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В выполненном исследовании были проанализированы данные 1 412 человек (790 мужчин (55,9%) и 622 женщины (44,1%)). Возраст пациентов составил 61 (40; 76) год (от 18 до 103 лет). Госпитальная летальность – 128 (9,1%) больных. В рамках статьи проведен сравнительный анализ шкал CURB-65, CRB-65 на популяции 1 020 пациентов с ВП.

Вероятность летального исхода напрямую возрастала с увеличением числа баллов для каждой из шкал (табл. 1).

Таблица 1

| Связь между количеством неблагоприятных факторов (количеством баллов) и риском смерти в период госпитализации ( $n = 1\,020$ ) |                   |                   |                     |
|--|-------------------|-------------------|---------------------|
| Шкала  | Количество баллов | Выписаны, $n (%)$ | Скончались, $n (%)$ |
| CURB-65  | 0                 | 383 (97,7)        | 5 (1,29)            |
|  | 1                 | 306 (97,1)        | 9 (1,3)             |
|  | 2                 | 192 (88,5)        | 25 (11,5)           |
|  | 3                 | 40 (58,8)         | 28 (41,18)          |
|  | 4                 | 4 (16,0)          | 21 (84,0)           |
|  | 5                 | 0 (0)             | 7 (100)             |

Окончание табл. 1

| Шкала  | Количество баллов | Выписаны, $n (%)$ | Скончались, $n (%)$ |
|--------|-------------------|-------------------|---------------------|
| CRB-65 | 0                 | 475 (97,7)        | 11 (2,3)            |
|        | 1                 | 386 (93,8)        | 21 (6,2)            |
|        | 2                 | 60 (11,5)         | 33 (88,5)           |
|        | 3                 | 3 (11,5)          | 23 (88,5)           |
|        | 4                 | 1 (12,5)          | 7 (87,5)            |

Далее вся выборка ( $n = 1\,020$ ) была разделена 2 : 1 на тестовую ( $n = 676$ ) и обучающую ( $n = 344$ ), при этом статистически значимых различий между ними не наблюдалось.

Для сравнения прогностической ценности шкал построены ROC-кривые для общей выборки (рис. 1) и далее для тестовой (рис. 2). В обоих случаях площадь под кривой для оценки CURB-65 превосходила CRB-65 и составила 0,870 (95%-й ДИ 0,848–0,890) для CURB-65 и 0,839 (95%-й ДИ 0,815–0,861) для CRB-65 ( $p = 0,0036$ ) в общей выборке и 0,905 (95%-й ДИ 0,869–0,934) и 0,889 (95%-й ДИ 0,851–0,920) в тестовой соответственно ( $p = 0,3692$ ). В случае тестовой выборки различия между кривыми оказались незначительными и статистически незначимыми.

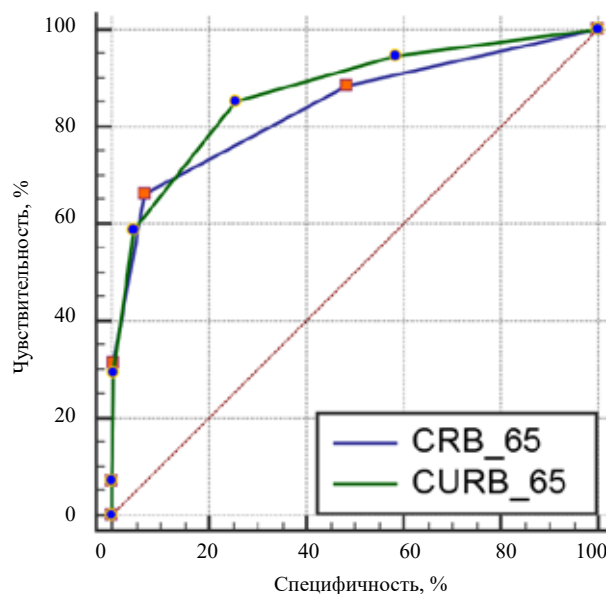


Рис. 1. Сравнение ROC-кривых шкал CURB-65 и CRB-65 на общей выборке

В исследовании была выдвинута гипотеза, что модификация шкал повысит их диагностическую значимость. Для проверки этой гипотезы на обучающей выборке выполнен ROC-анализ для каждого из факторов с поиском наиболее точных точек разделения. В результате в исследуемой популяции получены новые значения для каждого показателя (табл. 2).

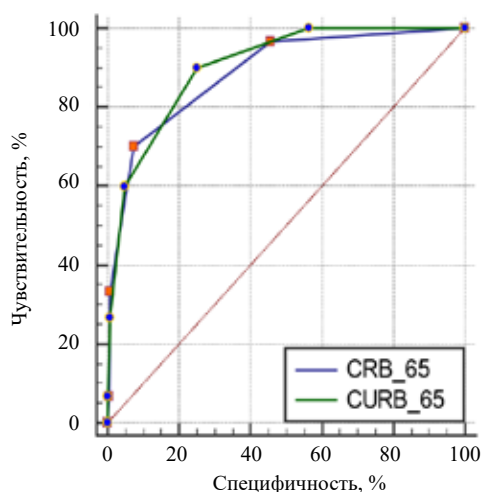


Рис. 2. Сравнение ROC-кривых шкал CURB-65 и CRB-65 на тестовой выборке

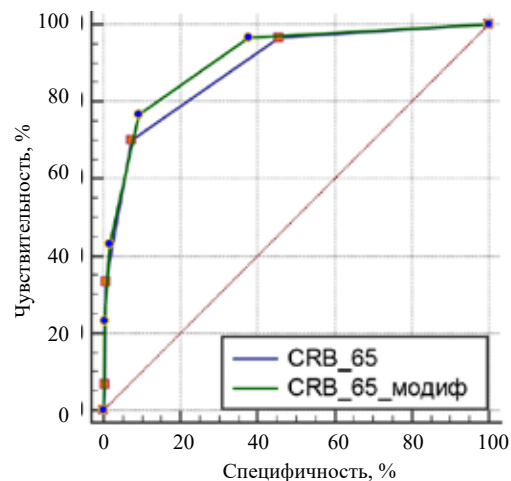


Рис. 4. Сравнение ROC-кривых шкал CRB-65 и модифицированной CRB-65 (CURB-72)

Таблица 2

| Точки разделения исходной и модифицированной шкалы CURB-65 и CRB-65 |                                   |   |
|---|-----------------------------------|---|
| Параметр  | Классические шкалы CURB-65/CRB-65 | Модифицированные шкалы CURB-72*/CRB-72* |
| Возраст, лет  | 65 и старше                       | 72 и старше                             |
| Нарушение сознания  | Да                                | Да                                      |
| Мочевина крови, ммоль/л   | > 7 / -                           | > 9,5 / -                               |
| ЧД, мин   | ≥ 30                              | > 21                                    |
| САД, мм рт. ст.   | < 90                              | ≤ 105                                   |
| ДАД, мм рт. ст.   | ≤ 60                              | ≤ 65                                    |

\*В связи с новой точкой разделения по критерию возраст более 72 лет, модифицированным шкалам присвоены названия CURB-72 и CRB-72.

Для каждой из модифицированных шкал на тестовой выборке построена ROC-кривая и проведено сравнение с ROC-кривыми классических шкал (рис. 3, 4).

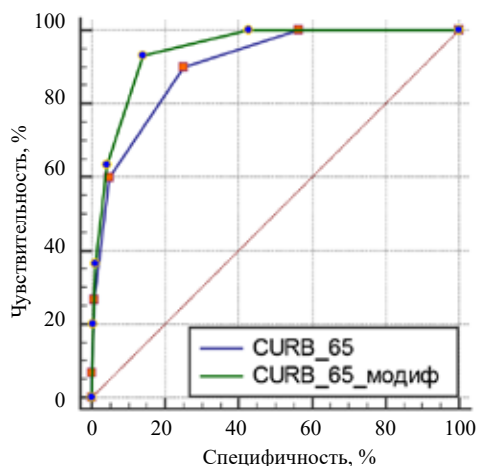


Рис. 3. Сравнение ROC-кривых шкал CURB-65 и модифицированной CURB-65 (CURB-72)

Площадь под кривой для модифицированной модели CURB-72 превзошла классическую CURB-65 и составила 0,946 (95%-й ДИ 0,916–0,967) и 0,905 (95%-й ДИ 0,869–0,934) соответственно ( $p = 0,0034$ ). В случае с модификацией CRB-65 в шкалу CRB-72 AUC увеличилась с 0,889 (95%-й ДИ 0,851–0,920) до 0,910 (95%-й ДИ 0,874–0,938), но статистически значимо они не различались ( $p = 0,0724$ ).

При сравнении модифицированных шкал между собой (рис. 5) новая шкала CURB-72 продемонстрировала максимальную точность в выявлении пациентов с ВП с риском госпитальной летальности, превзойдя CRB-72 ( $p = 0,0347$ ).

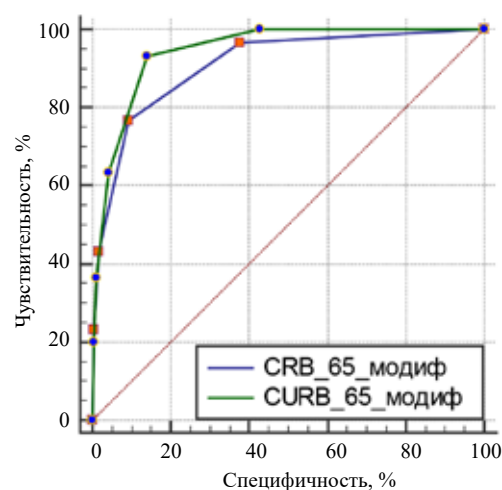


Рис. 5. ROC кривые для сравнения модифицированных шкал CURB-65 (CURB-72) и CRB-65 (CRB-72)

Точка разделения для обеих шкал (как модифицированных, так и классических) составила более 1 балла. В результате модифицированная система оценки CURB-65 (CURB-72) с измененными порогами

выми значениями показала самую высокую чувствительность и специфичность (табл. 3), что позволяет наиболее точно выявлять не только пациентов с высоким риском смерти, но и больных с благоприятным прогнозом. С практической точки зрения внедрение в рутинную клиническую практику предложенной модифицированной шкалы может позволить снизить нагрузку на стационары, перераспределив пациентов низкого риска на амбулаторное лечение.

Таблица 3

| Характеристики кривых классических шкал CRB-65 и CURB-65 и их модификаций |                     |                  |               |
|---|---------------------|------------------|---------------|
| Шкала   | AUC, 95%-й ДИ       | Чувствительность | Специфичность |
| CRB-65  | 0,889 (0,851–0,920) | 70,00            | 92,68         |
| CURB-65   | 0,905 (0,869–0,934) | 90,00            | 74,84         |
| Модифицированные  |                     |                  |               |
| CRB-72  | 0,910 (0,874–0,938) | 76,67            | 90,76         |
| CURB-72   | 0,946 (0,916–0,967) | 93,33            | 85,99         |

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ученые под руководством W.S. Lim (2003) разработали и валидизировали системы CURB-65 и CRB-65 для прогнозирования 30-дневной летальности у пациентов с ВП. В исследуемой популяции ( $n = 1068$ ) скончались 9% больных [6].

В нашем исследовании оценивались исходы только в период госпитализации, длительность которой составила 11 (9; 13,6) дней, и не отслеживалось состояние здоровья лиц, выписанных из стационара ( $n = 1412$ ). Среди включенных пациентов 9,1% умерли.

В общей выборке выполненного нами исследования частота смерти у пациентов с  $\geq 2$  баллами по шкале CURB-65 оказалась несколько выше, чем в исследовании W.S. Lim и соавт. [6]. Ученые продемонстрировали, что среди больных ВП с 2 баллами по шкале CURB-65 смерть наступила в 9,2% случаев (средний риск смерти), с 3 баллами и более – 22% (высокий риск смерти). В нашей работе у больных уже с 2 баллами летальность составила 11,5%, с 3 – 41,18%, с 5 баллами было семь пациентов, и все они скончались (см. табл. 1).

W.S. Lim и соавт. также сделали вывод о том, что пациентам из групп низкого риска ( $< 2$  балла по шкале CURB-65 и  $< 1$  по CRB-65) помощь может оказываться амбулаторно. Вместе с тем, по нашим данным, среди больных, имевших 0 баллов по шкале CURB-65, скончались 5 (1,29%), 1 балл – 9 (1,3%) больных, а в группе с наличием 0 баллов по CRB-65 смерть наступила в 11(2,3%) случаях, и, согласно тактике принятия решений, эти пациенты должны

были лечиться амбулаторно [6]. Наши результаты позволяют говорить о несовершенной прогностической способности шкал CURB-65 и CRB-65. Мнения других ученых о значимости этих систем оценки в выявлении пациентов с легким течением ВП неоднозначны, и в ряде работ их точность также ставится под сомнение [9, 10].

Так, по данным A. Ilg и соавт. (2019), среди пациентов с 0 и 1 баллом по CURB-65 15,6% были госпитализированы в отделение реанимации, а 0,6% скончались [10]. В то же время, по данным метаанализа M.H. Ebell и соавт. (2019), сделан вывод об эффективности системы CRB-65 в выявлении пациентов с низким риском смерти и продемонстрировано, что при сортировке по шкале вероятность амбулаторной летальности для этой группы больных составляет не более 0,5% [11].

В выполненном исследовании мы пришли к выводу, что точка разделения для обеих систем оценки составляет более 1 балла, и при наличии у больного хотя бы одного критерия как по шкале CURB-65, так и CRB-65, несомненно, необходима госпитализация. При сравнении CURB-65 и CRB-65 между собой первая превзошла вторую на общей выборке, но на тестовой различий выявлено не было.

Вопрос о значимости мочевины в шкале CURB-65 остается открытым по сей день. По данным разных исследователей, модели CURB-65 и CRB-65 демонстрируют сопоставимую ценность [12, 13]. Так, в метаанализе J.D. Chalmers и соавт. (2010) сделан вывод об отсутствии существенных различий между шкалами в прогнозировании смерти от ВП [14].

Настоящее исследование продемонстрировало максимальную точность модифицированных шкал (CURB-72 и CRB-72) при более высоких значениях артериального давления и более низкой ЧД, что в классических шкалах могло бы привести к недооценке вероятности смерти. В целом, если важность оценки ЧД (как признака дыхательной недостаточности) не вызывает сомнений, то роль гипотонии является объектом обсуждения и ставится под сомнение некоторыми учеными. Так, H.Y. Li и соавт. (2015) продемонстрировали, что CURB-65 можно упростить, исключив низкое артериальное давление, что не только не снизит, но и улучшит прогнозирование смертности у пациентов с ВП [15].

В исследуемой нами популяции снижение САД до уровня ниже 90 мм рт. ст. было выявлено только у 34 (26,6%) умерших больных, в свою очередь, снижение ДАД до значения ниже 60 мм рт. ст. зарегистрировано у 38 (29,7%) скончавшихся. Кроме того, лишь у 36 больных ЧД оказалась равной 30/мин и выше. При этом из 128 скончавшихся

больных данный критерий был установлен только в 22 случаях (17,2%). Полученные данные оказались сопоставимы с результатами работы Q. Guo и соавт. (2023), в которой ЧД  $\geq 22$ /мин и САД  $\leq 100$  мм рт. ст. демонстрировали более высокое отношение шансов и большую надежность, нежели общепринятые показатели классических шкал (AUC 0,823 против 0,519; 0,688 против 0,622 соответственно) [16].

Таким образом, ЧД  $> 21$ /мин, САД  $\leq 105$  мм. рт. ст. и ДАД  $\leq 65$  мм. рт. ст. лучше подходят для прогнозирования смерти, о чем свидетельствует значительное улучшение показателей площади под кривой для обеих шкал. В отношении мочевины мы пришли к выводу, что наиболее точные пороговые значения должны быть выше, чем в общепринятой шкале, и составлять 9,5 ммоль/л вместо 7 ммоль/л.

Модифицированная шкала CURB-65 (CURB-72) показала не только более высокую чувствительность, определяющую вероятность смерти, но и специфичность, что позволяет более точно выявлять больных с минимальным риском, которые могут лечиться амбулаторно, что может снизить нагрузку на стационары. По нашим данным, точка разделения для обеих модифицированных систем оценки составила более 1 балла. То есть пациенты с 1 и более баллов должны госпитализироваться.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая высокую летальность, связанную с ВП, поиск новых способов оценки риска смерти у госпитализированных пациентов остается важной целью в современной науке. В исследовании был предложен новый методологический подход для улучшения прогностической значимости шкал CURB-65 и CRB-65. Мы получили результаты, свидетельствующие о том, что модифицированные CURB-65 (CURB-72) и CRB-65 (CRB-72) демонстрируют потенциал в оценке прогноза ВП и превосходят классические шкалы. При этом CURB-72 обладает максимальной чувствительностью и специфичностью. В будущем требуются дальнейшие проспективные исследования с более крупными когортами в различных популяциях и условиях.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Prina E., Ranzani O.T., Torres A. Community-acquired pneumonia. *Lancet*. 2015;386(9998):1097–1108. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60733-4.
2. Torres A., Cillóniz C., Blasi F., Chalmers J.D., Gaillat J., Dartois N. et al. Burden of pneumococcal community-acquired pneumonia in adults across Europe: A literature review. *Respiratory Medicine*. 2018;137:6–13. DOI: 10.1016/j.rmed.2018.02.007.
3. GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect. Dis.* 2018;18(11):1191–1210. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30310-4.
4. Всемирная организация здравоохранения. 10 основных причин смерти. Всемирная организация здравоохранения: Женева, Швейцария, 2019 г. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (дата обращения: 01.12.2023).
5. Fine M.J., Auble T.E., Yealy D.M., Hanusa B.H., Weissfeld L.A., Singer D.E. et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *The New England Journal of Medicine*. 1997;336(4):243–250. DOI: 10.1056/NEJM199701233360402.
6. Lim W.S., van der Eerden M.M., Laing R., Boersma W.G., Karalus N., Town G.I. et al. Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. *Thorax*. 2003;58(5):377–382. DOI: 10.1136/thorax.58.5.377.
7. Рачина С.А., Дехнич Н.Н., Козлов Р.С., Бобылев А.А., Батищева Г.А., Гордеева С.А. и др. Оценка тяжести внебольничной пневмонии в реальной клинической практике в многопрофильных стационарах Российской Федерации. *Пульмонология*. 2016;26(5):521–528. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-5-521-528.
8. Serisier D.J., Williams S., Bowler S.D. Australasian respiratory and emergency physicians do not use the pneumonia severity index in community-acquired pneumonia. *Respirology (Carlton, Vic.)*. 2013;18(2):291–296. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2012.02275.x.
9. Ilg A., Moskowicz A., Konanki V., Patel P.V., Chase M., Grosse-streuer A.V. et al. Performance of the CURB-65 Score in predicting critical care interventions in patients admitted with community-acquired pneumonia. *Annals of Emergency Medicine*. 2019;74(1):60–68. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2018.06.017.
10. Hincapié C., Ascuntar J., León A., Jaimes F. Community-acquired pneumonia: comparison of three mortality prediction scores in the emergency department. *Colombia Medica (Cali, Colombia)*. 2021;52(4):e2044287. DOI: 10.25100/cm.v52i4.4287.
11. Ebell M.H., Walsh M.E., Fahey T., Kearney M., Marchello C. Meta-analysis of Calibration, Discrimination, and Stratum-Specific Likelihood Ratios for the CRB-65 Score. *Journal of General Internal Medicine*. 2019;34(7):1304–1313. DOI: 10.1007/s11606-019-04869-z.
12. Al Hussain S.K., Kurdi A., Abutheraa N., Al Dawsari A., Sneddon J., Godman B. et al. Validity of Pneumonia Severity Assessment Scores in Africa and South Asia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Healthcare (Basel, Switzerland)*. 2021;9(9):1202. DOI: 10.3390/healthcare9091202.
13. Fernandes L., Arora A.S., Mesquita A.M. Role of semi-quantitative serum procalcitonin in assessing prognosis of community acquired bacterial pneumonia compared to PORT PSI, CURB-65 and CRB-65. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*. 2015;9(7):OC01–OC4. DOI: 10.7860/JCDR/2015/12468.6147.
14. Chalmers J.D., Singanayagam A., Akram A.R., Mandal P., Short P.M., Choudhury G. et al. Severity assessment tools for predicting mortality in hospitalised patients with com-

- munity-acquired pneumonia. Systematic review and meta-analysis. *Thorax*. 2010;65(10):878–883. DOI: 10.1136/thx.2009.133280.
15. Li H.Y., Guo Q., Song W.D., Zhou Y.P., Li M., Chen X.K. et al. CUR-65 Score for community-acquired pneumonia predicted mortality better than CURB-65 score in low-mortality rate settings. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2015;350(3):186–190. DOI: 10.1097/MAJ.0000000000000545.
16. Guo Q., Li H.Y., Song W.D., Li M., Chen X.K., Liu H. et al. Updating cut-off values of severity scoring systems for community-acquired pneumonia to orchestrate more predictive accuracy. *Annals of Medicine*. 2023;55(1):62202414. DOI: 10.1080/07853890.2023.2202414.

## Вклад авторов

Винокурова Д.А., Куликов Е.С. – разработка концепции и дизайна; набор, анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Федосенко С.В., Старовойтова Е.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Губарева А.М., Пшеворская Е.В., Осипов П.В. – набор, анализ и интерпретация данных. Аржаник М.Б., Аржаник А.А. – статистическая обработка, анализ и интерпретация данных.

## Информация об авторах

**Винокурова Дарья Александровна** – зав. терапевтической клиникой, ассистент, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, [vinokurovadarial@gmail.com](mailto:vinokurovadarial@gmail.com), <http://orcid.org/0000-0002-8422-8349>

**Куликов Евгений Сергеевич** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, ректор СибГМУ, г. Томск, [evgeny.s.kulikov@gmail.com](mailto:evgeny.s.kulikov@gmail.com), <http://orcid.org/0000-0002-0088-9204>

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

**Губарева Анастасия Михайловна** – врач-пульмонолог, терапевтическая клиника, СибГМУ, г. Томск, [anmigu@mail.ru](mailto:anmigu@mail.ru), <http://orcid.org/0009-0001-2576-3106>

**Пшеворская Екатерина Владимировна** – ординатор, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, [pskatlin@gmail.com](mailto:pskatlin@gmail.com), <http://orcid.org/0009-0005-1250-0752>

**Осипов Павел Вячеславович** – студент, СибГМУ, г. Томск, [pirs50000@gmail.com](mailto:pirs50000@gmail.com), <http://orcid.org/0009-0002-3760-1400>

**Аржаник Марина Борисовна** – канд. пед. наук, доцент кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, [arzh\\_m@mail.ru](mailto:arzh_m@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0003-4844-9803>

**Старовойтова Елена Александровна** – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, [elena-starovoytova@yandex.ru](mailto:elena-starovoytova@yandex.ru), <http://orcid.org/0000-0002-4281-1157>

**Аржаник Александра Алексеевна** – разработчик, ПАО «Московский кредитный банк», г. Москва, [arzh\\_sasha@mail.ru](mailto:arzh_sasha@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0003-4378-272X>

(✉) Винокурова Дарья Александровна, [vinokurovadarial@gmail.com](mailto:vinokurovadarial@gmail.com)

Поступила в редакцию 12.12.2023;  
одобрена после рецензирования 18.12.2023;  
принята к публикации 21.12.2023

УДК УДК 616.895.8–085.214-073.97  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-15-22>



## Сравнительный анализ электроэнцефалограммы у больных шизофренией, получающих различные атипичные антипсихотики

Галкин С.А.<sup>1</sup>, Корнетова Е.Г.<sup>1,2</sup>, Иванова С.А.<sup>1,2</sup>

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

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

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Провести комплексный анализ записей электроэнцефалограммы (ЭЭГ) больных шизофренией, получавших атипичные антипсихотики в режиме монотерапии.

**Материалы и методы.** Обследованы 94 больных шизофренией в возрасте 33 [28; 40] лет с длительностью заболевания 10 [4; 15] лет. Сформировано пять групп пациентов на основании принимаемых ими антипсихотических препаратов: 1) рисперидон – 31 пациент; 2) кветиапин – 20; 3) арипипразол – 11; 4) оланзапин – 13; 5) клозапин – 19 пациентов. ЭЭГ регистрировалась во время бодрствования с закрытыми глазами (фоновая проба), 3-минутной гипервентиляции и ритмической фотостимуляции у всех пациентов. Для описания и интерпретации полученных записей использовалась классификация ЭЭГ по J. Micoaud-Franchi и соавт.

**Результаты.** Изменения (модификации) на ЭЭГ (класс > 1А) наблюдались у 61,7% ( $n = 58$ ) пациентов. В группе пациентов, принимавших рисперидон, модификации ЭЭГ были обнаружены у 48,4%, кветиапин – 70%, арипипразол – 63,6%, оланзапин – 61,5%, клозапин – 73,7%. Частота эпилептиформных паттернов у пациентов была статистически значимо выше при приеме оланзапина по сравнению с рисперидоном ( $p = 0,033$ ) и клозапином ( $p = 0,032$ ). Замедление ЭЭГ (класс > 1) чаще наблюдалось у больных, принимавших клозапин – 63,2% ( $n = 12$ ), оланзапин – 61,5% ( $n = 8$ ) и кветиапин – 60% ( $n = 12$ ). Реже медленные волны на ЭЭГ встречались у больных, принимавших арипипразол – 45,5% ( $n = 5$ ) и рисперидон – 45,2% ( $n = 14$ ). В группе больных с замедлением ЭЭГ (класс > 1) хлорпромазиновый эквивалент оказался статистически значимо выше по сравнению с пациентами с нормальной ЭЭГ ( $p = 0,00046$ ).

**Заключение.** Полученные данные демонстрируют изменения показателей ЭЭГ в процессе терапии отдельными атипичными антипсихотиками и свидетельствуют об их дозозависимом эффекте на биоэлектрическую активность мозга.

**Ключевые слова:** шизофрения, антипсихотики, терапия, электроэнцефалография, замедление, пароксизмальная активность

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

**Источник финансирования.** Исследование проведено в рамках выполнения госзадания № 075–01392–23–00 «Персонализированная диагностика и терапия больных полиморбидными расстройствами шизофренического и аффективного спектра», № 123041900006–4.

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. Исследование одобрено локальным этическим комитетом при НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 157 от 18.11.2022).

✉ Галкин Станислав Алексеевич, s01091994@yandex.ru

Для цитирования: Галкин С.А., Корнетова Е.Г., Иванова С.А. Сравнительный анализ электроэнцефалограммы у больных шизофренией, получающих различные атипичные антипсихотики. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):15–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-15-22>.

## Comparative analysis of EEG in patients with schizophrenia receiving various atypical antipsychotics

Galkin S.A.<sup>1</sup>, Kornetova E.G.<sup>1,2</sup>, Ivanova S.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС) of the Russian Academy of Sciences*

*4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University*

*2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

### ABSTRACT

**Aim.** To conduct a comprehensive analysis of EEG recordings of schizophrenia patients receiving atypical antipsychotics as monotherapy.

**Materials and methods.** We examined 94 patients with schizophrenia aged 33 [28; 40] years with a disease duration of 10 [4; 15] years. The patients were divided into 5 groups depending on the antipsychotic drugs they took: 1) risperidone – 31 patients; 2) quetiapine – 20 patients; 3) aripiprazole – 11 patients; 4) olanzapine – 13 patients; 5) clozapine – 19 patients. EEG was recorded during wakefulness with closed eyes (background test), 3-minute hyperventilation, and rhythmic photostimulation in all patients. To describe and interpret the received recordings, the EEG classification according to J. Micoulaud – Franchi et al. was used.

**Results.** EEG modifications (score > 1A) were observed in 61.7% ( $n = 58$ ) of patients. In the group of patients receiving risperidone, EEG modifications were found in 48.4% of cases, in patients taking quetiapine – in 70% of cases, aripiprazole – in 63.6% of cases, olanzapine – in 61.5% of cases, clozapine – in 73.7% of cases. The frequency of epileptiform patterns in patients receiving olanzapine was significantly higher than in those taking risperidone ( $p = 0.033$ ) and clozapine ( $p = 0.032$ ). Slowing in the EEG (score > 1) was more often observed in patients taking clozapine – 63.2% ( $n = 12$ ), olanzapine – 61.5% ( $n = 8$ ), and quetiapine – 60% ( $n = 12$ ). Slower EEG waves were less common in patients receiving aripiprazole – 45.5% ( $n = 5$ ) and risperidone – 45.2% ( $n = 14$ ). In the group of patients with EEG slowing (score > 1), the dose of chlorpromazine equivalent was significantly greater compared to patients with normal EEG ( $p = 0.00046$ ).

**Conclusion.** The data obtained demonstrate changes in EEG parameters during monotherapy with atypical antipsychotics and indicate their dose-dependent effect on the bioelectrical activity of the brain.

**Keywords:** schizophrenia, antipsychotics, therapy, electroencephalography, slowing, paroxysmal activity

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

**Source of financing.** The study was conducted within the state assignment No. 075–01392–23–00 “Personalized diagnosis and therapy of patients with co-occurring schizophrenia and affective spectrum disorders”, registration number 123041900006–4.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study and have their personal data processed. The study was approved by the local Ethics Committee at Mental Health Research Institute of Tomsk NRMС (Protocol No. 157 of 18.11.2022).

**For citation:** Galkin S.A., Kornetova E.G., Ivanova S.A. Comparative analysis of EEG in patients with schizophrenia receiving various atypical antipsychotics. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):15–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-15-22>.

## ВВЕДЕНИЕ

Изучение влияния психотропных лекарственных препаратов на электроэнцефалограмму (ЭЭГ) человека началось еще в первой половине прошлого столетия. Основоположник электроэнцефалографии Н. Berger описал в 1933 г. изменения на ЭЭГ, вызванные барбитуратами и морфином [1]. Первые исследования, в которых сообщалось об аномалиях, вызванных антипсихотическими препаратами, появились в начале 1970-х гг. на примере фенотиазина [2]. Н. Dasberg, S. Robinson в 1970–1971 гг. описали изменения, связанные с токсическими эффектами препаратов, которые оказались вторичными по отношению к ранее существовавшим церебральным нарушениям [2, 3]. Антипсихотики фенотиазинового ряда вызывали небольшое замедление, увеличение амплитуды, синхронизацию и расширение зонального представительства альфа-активности на ЭЭГ [2, 3]. Н. Dasberg [3] объяснял, что посредством влияния антипсихотиков на ЭЭГ происходит изменение поведения человека.

Как известно, у многих пациентов с психическими расстройствами наблюдаются различные изменения на ЭЭГ [4–8]. Примерно у 20–40% пациентов с расстройствами настроения и у 20–60% пациентов с шизофренией выявляются стойкие нарушения биоэлектрической активности мозга [8, 9]. У относительно высокого процента больных шизофренией обнаруживаются изменения на ЭЭГ в виде генерализованной медленноволновой активности (дельта- и тета-волны), асимметрии, наличия острых волн и комплексов спайк–волна (пароксизмальные паттерны) [9].

Тем не менее в метаанализе S. O’Sullivan и соавт. предположили, что большинство изменений на ЭЭГ у больных с психическими расстройствами можно объяснить приемом психотропных препаратов. В таком случае ЭЭГ не может быть использована для диагностики психических заболеваний [10]. Однако ЭЭГ может помочь в определении того, принимают ли пациенты, страдающие психическими расстройствами, прописанные им препараты, или вызывают ли различные дозы лекарственных средств побочные эффекты со стороны центральной нервной системы [10, 11].

Прием антипсихотиков различного спектра действия, так или иначе, сопровождается изменениями на ЭЭГ. В литературе в основном сообщается об общем замедлении фоновой активности, увеличении пароксизмальной тета- или дельта-активности и развитии эпилептиформных разрядов [12–14]. Несмотря на появление различных новых препаратов из группы антипсихотиков за последние 30 лет, всего

несколько исследований были посвящены изменениям на ЭЭГ, вызванными приемом атипичных антипсихотиков [13, 15–18]. Ряд авторов предполагают, что изменения на ЭЭГ, связанные с приемом некоторых антипсихотиков, связаны с хорошим терапевтическим ответом [14].

F. Centorrino и соавт. [15] показали, что изменения на ЭЭГ оказались более тяжелыми при применении антипсихотиков второго поколения, чем первого, с высоким риском «модификаций ЭЭГ» при применении клозапина (47,1%) и оланзапина (38,5%), умеренным риском при применении рисперидона (28%). В их исследовании тяжелые модификации (спайковые разряды) наблюдались для клозапина (5,9%), оланзапина (7,7%) и рисперидона (4,0%), но не для галоперидола [15]. Факторами риска, способствовавшими значительным изменениям на ЭЭГ, были наличие артериальной гипертензии, применение атипичного антипсихотика, наличие биполярного аффективного расстройства и пожилой возраст.

F. Pillmann и соавт. [16], анализируя ЭЭГ у 43 пациентов, получавших оланзапин, показали усиление диффузного замедления (48,8%), прерывистого замедления (34,9%) и эпилептиформной активности у некоторых пациентов (9,3%). В исследовании с участием 54 пациентов, получавших оланзапин, обнаружено значительное замедление ЭЭГ (70,4%), появление острых волн (22,2%) и пароксизмальных разрядов медленных волн (14,8%) [17]. Комбинация оланзапина с другими антипсихотиками увеличивала количество модификаций ЭЭГ, в то время как совместное лечение с бензодиазепинами уменьшало количество изменений на ЭЭГ [17].

В другом исследовании оценивали ЭЭГ у 81 пациента, получавшего монотерапию кветиапином, оланзапином или галоперидолом [18]. У одного пациента (5%), получавшего кветиапин, у 13 (35%) пациентов, получавших оланзапин, и у 5 (22,8%) пациентов, получавших галоперидол, были выявлены побочные изменения на ЭЭГ. Эпилептиформная активность наблюдалась только у 4 пациентов (10,8%), получавших оланзапин [18].

Таким образом, распространенность изменений/модификаций ЭЭГ, по-видимому, различается в зависимости от типа принимаемого антипсихотика. Распространенность изменений ЭЭГ у людей, принимающих клозапин, колеблется от 25 до 53% по данным исследований [13, 15]. Кветиапин вызывает меньше изменений на ЭЭГ [18]. Однако количество ЭЭГ-исследований весьма ограничено.

В связи с этим целью нашего исследования было провести комплексный анализ записей ЭЭГ больных шизофренией, получавших атипичные антипсихо-

тики в режиме монотерапии. Мы предположили, что изменения на ЭЭГ могут зависеть от дозы принимаемых антипсихотиков.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации 1964 г. с поправками 1975–2013 гг. и одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 157 от 18.11.2022). Все обследуемые пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных.

Отбор пациентов для участия в исследовании осуществлялся на базе клиники Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Всего в исследовании приняли участие 94 больных шизофренией (50 мужчин и 44 женщин) в возрасте 33 [28; 40] лет, длительность заболевания – 10 [4; 15] лет, возраст манифестации шизофренического процесса – 23 [20; 28] года. Критерии включения в исследование: возраст пациентов 18–60 лет, верифицированный диагноз шизофрении по критериям Международной классификации болезней 10-го пересмотра, согласие на участие в исследовании. Критерии невключения: наличие выраженных органических, неврологических и соматических расстройств, приводящих к органной недостаточности, отказ от участия в исследовании.

Все пациенты на момент включения в исследование получали базисную терапию препаратами из группы антипсихотиков в терапевтических дозировках, одобренных Минздравом России, длительность терапии составила 4 [1; 9] года. Было сформировано пять групп пациентов на основании принимаемых ими антипсихотических препаратов: 1) рисперидон – 31 пациент; 2) кветиапин – 20; 3) арипипразол – 11; 4) оланзапин – 13; 5) клозапин – 19 пациентов. Все дозы принимаемой терапии были приведены к единому образцу в перерасчете на хлорпромазиновый эквивалент (CPZeq).

Проведение ЭЭГ осуществлялось в электрически экранированной комнате с приглушенным светом. Пациенты во время исследования находились в состоянии спокойного расслабленного бодрствования в положении сидя. Электроэнцефалографию записывали с помощью энцефалографа NEUROFAX EEG–1200K (Nihon Kohden, Япония) по международной системе 10–20%, монополярно в 16 стандартных отведениях:  $Fp_1$ ,  $Fp_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_7$ ,  $F_8$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ ,  $P_3$ ,  $P_4$ ,  $O_1$ ,  $O_2$ ,  $T_3$ ,  $T_4$ ,  $T_5$

и  $T_6$ , с частотой дискретизации 1 кГц, Fz в качестве электрода заземления и референтными электродами на мочках ушей. ЭЭГ регистрировалась во время бодрствования с закрытыми глазами (фоновая проба), 3-минутной гипервентиляции и ритмической фотостимуляции у всех пациентов, в первой половине дня (между 9.00 и 12.00), после завтрака. Общая длительность записи ЭЭГ составляла не менее 15 мин.

Все пациенты в течение записи ЭЭГ находились под наблюдением врача функциональной диагностики, и в случае выявления признаков засыпания или ЭЭГ-признаков сонливости запись прекращалась. Анализ и интерпретация данных ЭЭГ осуществлялись двумя опытными сертифицированными врачами-нейрофизиологами независимо друг от друга. В случае разногласий в интерпретации данных ЭЭГ подвергались повторной оценке и обсуждению для достижения консенсуса. Для описания и интерпретации полученных записей использовалась классификация ЭЭГ по J. Micoulaud-Franchi и соавт. [19], разработанная для оценки влияния психотропных препаратов (табл. 1).

Таблица 1

| Модификации ЭЭГ по J. Micoulaud-Franchi и соавт. |                                     |                                   |  |
|--|-------------------------------------|-----------------------------------|--|
| Оценка замедления                                |                                     | Оценка пароксизмальной активности |  |
| Класс  | Признак                             | Класс                             | Признак  |
| 1  | Норма (доминирует альфа-активность) | A                                 | Отсутствует  |
| 2  | Тета-волны                          | B                                 | Эпилептиформные разряды или острые волны во время гипервентиляции или фотостимуляции |
| 3  | Тета-волны с дельта-вспышками       | C                                 | Эпилептиформные разряды или острые волны в течение всей записи                       |
| 4  | Дельта-волны                        | D                                 | Длительные эпилептиформные разряды   |

Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения Statistica for Windows v. 12.0 (StatSoft Inc.). Проверка на согласие с законом нормального распределения осуществлялась с помощью критериев Колмогорова – Смирнова (с поправкой Лиллиефорса) и критерия Шапиро – Уилка. Данные с нормальным типом распределения представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения  $M \pm SD$ , при отсутствии нормального распределения – в виде медианы интерквартильного размаха  $Me [Q_1; Q_3]$ . Качественные данные представлены частотными показателями в абсолютных и относительных единицах  $n$  (%). Для сравнения показателей ЭЭГ (типы ЭЭГ по J. Micoulaud-Franchi и

соавт.) использовался критерий  $\chi^2$ . Сравнение среднесуточных доз антипсихотиков в соответствии с изменениями на ЭЭГ проводилось с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. Для выявления взаимосвязей между изучаемыми параметрами применялся корреляционный анализ Спирмена. Пороговый уровень статистической значимости  $p$  был принят равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно полученным данным, изменения (модификации) на ЭЭГ (класс  $> 1A$ ) наблюдались у 61,7% ( $n = 58$ ) пациентов, включенных в данное исследование. В группе пациентов, принимавших рисперидон, модификации ЭЭГ были обнаружены у 48,4%, кветиапин – 70%, арипипразол – 63,6%, оланзапин – 61,5%, клозапин – 73,7% (табл. 2).

Эпилептиформные паттерны (класс В и С) чаще выявлялись в группе больных, принимавших оланзапин, – 30,7% ( $n = 4$ ). Реже пароксизмальная активность обнаруживалась у больных, принимавших кветиапин – 20% ( $n = 4$ ), арипипразол – 18,2% ( $n = 2$ ), рисперидон – 12,9% ( $n = 4$ ) и клозапин – 10,5% ( $n = 2$ ). Частота эпилептиформных паттернов у па-

циентов была статистически значимо выше при приеме оланзапина по сравнению с рисперидоном ( $p = 0,033$ ) и клозапином ( $p = 0,032$ ).

Замедление ЭЭГ (класс  $> 1$ ) чаще наблюдалось у больных, принимавших клозапин – 63,2% ( $n = 12$ ), оланзапин – 61,5% ( $n = 8$ ) и кветиапин – 60% ( $n = 12$ ). Реже медленные волны на ЭЭГ встречались у больных, принимавших арипипразол – 45,5% ( $n = 5$ ) и рисперидон – 45,2% ( $n = 14$ ). Однако, согласно критерию  $\chi^2$ , данные различия статистической значимости не достигли ( $p > 0,05$ ). Пациентов с крайне тяжелыми модификациями ЭЭГ (класс 4С или 4D) в исследуемой выборке обнаружено не было.

Корреляций между наличием (класс  $> 1A$ ), тяжестью изменений ЭЭГ (классы 2 и 3, В и С) и клиническими данными (возраст, длительность заболевания, возраст манифестации шизофренического процесса и длительность терапии), собранными из историй болезни пациентов, нам обнаружить также не удалось ( $p > 0,05$ ).

Результаты сравнения среднесуточных доз антипсихотиков в зависимости от наличия или отсутствия изменений на ЭЭГ представлены в табл. 3.

Таблица 2

| Процент изменений на ЭЭГ (класс $> 1A$ ) в зависимости от типа принимаемого атипичного антипсихотика у больных шизофренией |     |                                    |                                |                                 |      |
|--|-----|------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|------|
| Антипсихотик   | $n$ | Возраст пациентов, $Me [Q_1; Q_3]$ | Доза CPZeq, мг/сут, $M \pm SD$ | Модификации ЭЭГ (класс $> 1A$ ) |      |
|  |     |                                    |                                | $n$                             | %    |
| Рисперидон   | 31  | 35 [29; 39]                        | 290,3 $\pm$ 89,8               | 15                              | 48,4 |
| Кветиапин  | 20  | 33 [25; 45]                        | 598,6 $\pm$ 455,3              | 14                              | 70   |
| Арипипразол  | 11  | 30 [21; 35]                        | 193,9 $\pm$ 80                 | 7                               | 63,6 |
| Оланзапин  | 13  | 34 [27; 40]                        | 307,7 $\pm$ 171,8              | 8                               | 61,5 |
| Клозапин   | 19  | 33 [32; 44]                        | 163,3 $\pm$ 79,9               | 14                              | 73,7 |

Таблица 3

| Сравнение среднесуточных доз атипичных антипсихотиков в соответствии с наличием (класс $> 1A$ ) и отсутствием изменений на ЭЭГ у больных шизофренией |                                 |                                 |                                   |                                 |          |
|--|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------|
| Антипсихотик   | Модификации ЭЭГ (класс $> 1A$ ) |                                 | Отсутствие изменений (класс = 1A) |                                 | $p$      |
|  | $n$                             | Доза, CPZeq, мг/сут, $M \pm SD$ | $n$                               | Доза, CPZeq, мг/сут, $M \pm SD$ |          |
| Рисперидон   | 15                              | 296,7 $\pm$ 81,2                | 16                                | 284,4 $\pm$ 99,5                | 0,452    |
| Кветиапин  | 14                              | 657,9 $\pm$ 503,4               | 6                                 | 460,3 $\pm$ 310                 | 0,291    |
| Арипипразол  | 7                               | 190,4 $\pm$ 103,1               | 4                                 | 199,9 $\pm$ 101,2               | 0,993    |
| Оланзапин  | 8                               | 262,5 $\pm$ 178,8               | 5                                 | 380 $\pm$ 148,3                 | 0,754    |
| Клозапин   | 14                              | 168,1 $\pm$ 82,4                | 5                                 | 150 $\pm$ 79,5                  | 0,909    |
| Все  | 58                              | 335,3 $\pm$ 272,6               | 36                                | 298,9 $\pm$ 176,1               | 0,00029* |

Здесь и в табл. 5 \* достоверность статистических различий при  $p < 0,05$ .

Статистически значимых различий в среднесуточных дозах (мг/сут) атипичных антипсихотиков между пациентами без изменений на ЭЭГ и пациентами с модификациями ЭЭГ не выявлено (рисперидон:  $p = 0,452$ ; кветиапин:  $p = 0,291$ ; арипипразол:  $p = 0,993$ ; оланзапин:  $p = 0,754$ ; клозапин:  $p = 0,909$ ). Однако когда дозы всех антипсихотиков были

усреднены, можно наблюдать, что у пациентов с изменениями на ЭЭГ (класс  $> 1A$ ) хлорпромазиновый эквивалент статистически значимо выше ( $p = 0,00029$ ).

В табл. 4 и 5 приведены результаты сравнения среднесуточных доз в зависимости от оценки пароксизмальной активности и замедления ЭЭГ.

Таблица 4

| Сравнение среднесуточных доз атипичных антипсихотиков в зависимости от оценки пароксизмальной активности |                             |                                   |                                  |                                   |          |
|--|-----------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------|
| Антипсихотик   | Модификации ЭЭГ (класс > А) |                                   | Отсутствие изменений (класс = А) |                                   | <i>p</i> |
|  | <i>n</i>                    | Доза<br>CPZeq, мг/сут, $M \pm SD$ | <i>n</i>                         | Доза<br>CPZeq, мг/сут, $M \pm SD$ |          |
| Рisperидон   | 4                           | 250 ± 129,1                       | 27                               | 296,3 ± 84,3                      | 0,191    |
| Кветиапин  | 4                           | 631,9 ± 132,5                     | 16                               | 590,3 ± 126,8                     | 0,261    |
| Арипипразол  | 2                           | 199,9 ± 41,4                      | 9                                | 170,3 ± 45,5                      | 0,177    |
| Оланзапин  | 4                           | 200 ± 141,4                       | 9                                | 225,5 ± 168,5                     | 0,848    |
| Клозапин   | 2                           | 121,8 ± 39,8                      | 17                               | 168,2 ± 82,7                      | 0,725    |
| Все  | 16                          | 323,2 ± 153,8                     | 78                               | 320,9 ± 156,3                     | 0,171    |

Таблица 5

| Сравнение среднесуточных доз атипичных антипсихотиков в зависимости от оценки замедления ЭЭГ |                            |                                   |                                  |                                   |          |
|--|----------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------|
| Антипсихотик   | Модификации ЭЭГ (класс >1) |                                   | Отсутствие изменений (класс = 1) |                                   | <i>p</i> |
|  | <i>n</i>                   | Доза<br>CPZeq, мг/сут, $M \pm SD$ | <i>n</i>                         | Доза<br>CPZeq, мг/сут, $M \pm SD$ |          |
| Рisperидон   | 14                         | 289,3 ± 78,9                      | 17                               | 291,2 ± 100,4                     | 0,386    |
| Кветиапин  | 12                         | 709,4 ± 517,7                     | 8                                | 432,5 ± 298,4                     | 0,154    |
| Арипипразол  | 5                          | 146,6 ± 50,6                      | 6                                | 133,3 ± 81,6                      | 0,374    |
| Оланзапин  | 8                          | 262,5 ± 178,8                     | 5                                | 280 ± 148,3                       | 0,754    |
| Клозапин   | 12                         | 175,8 ± 86,2                      | 7                                | 141,9 ± 68,3                      | 0,588    |
| Все  | 51                         | 343,2 ± 233,93                    | 43                               | 295,4 ± 176,5                     | 0,00046* |

Среднесуточные дозы антипсихотиков статистически значимо не отличались у больных в зависимости от наличия или отсутствия пароксизмальной активности (рисперидон:  $p = 0,191$ ; кветиапин:  $p = 0,261$ ; арипипразол:  $p = 0,177$ ; оланзапин:  $p = 0,848$ ; клозапин:  $p = 0,725$ ) (см. табл. 4), а также от наличия или отсутствия замедления ЭЭГ (рисперидон:  $p = 0,386$ ; кветиапин:  $p = 0,154$ ; арипипразол:  $p = 0,374$ ; оланзапин:  $p = 0,754$ ; клозапин:  $p = 0,588$ ) (см. табл. 5). Однако с учетом усредненных доз всех атипичных антипсихотиков обнаружено, что в группе больных с замедлением ЭЭГ (класс > 1) хлорпромазиновый эквивалент статистически значимо выше ( $p = 0,00046$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В представленном исследовании были изучены данные ЭЭГ 94 больных шизофренией, получавших монотерапию клозапином, оланзапином, кветиапином, арипипразолом или рисперидоном. Наибольший процент модификаций ЭЭГ (класс > 1А) был обнаружен в группе пациентов, принимавших клозапин (73,7%), что несколько выше по сравнению с данными других исследований [13, 15, 18], однако «тяжелых» модификаций (класс 4С и 4D) обнаружено не было ни в одной из групп пациентов.

Частота модификаций, связанных с наличием эпилептиформных паттернов при приеме выше-

указанных антипсихотиков, согласуется с данными исследований [13, 15, 16]. Однако в отличие от результатов исследования, проведенного F. Centorrino и соавт. [15], частота пароксизмальной активности у клозапина оказалась существенно ниже – 10,5%, тогда как для оланзапина выше – 30,7%.

Известно, что риск судорожных припадков, вызванных антипсихотиками, для оланзапина и клозапина выше, чем для рисперидона и арипипразола [20]. В связи с этим мониторинг ЭЭГ рекомендуется проводить, когда среднесуточная доза для оланзапина составляет 20 и 400 мг для клозапина [21, 22]. Как и клозапин, оланзапин может вызывать изменения на ЭЭГ, такие как появление медленных волн, острых волн и пароксизмальных медленноволновых разрядов, но риск возникновения припадков считается низким [22].

Мы не обнаружили различий в частоте пароксизмальной активности в зависимости от среднесуточных доз ни для одного антипсихотика. Таким образом, можно предположить отсутствие дозозависимого эффекта антипсихотиков на судорожную активность. Однако число пациентов с наличием эпилептиформных паттернов в нашем исследовании было невелико. Исследования на более крупных выборках могли бы подтвердить или опровергнуть данное предположение.

Замедление ЭЭГ наблюдалось у большей части исследуемых больных – 51 (54,3%), что также согла-

суется с литературными данными [15–18]. Наиболее частой модификацией, обнаруживаемой на ЭЭГ, у пациентов, принимавших антипсихотики, оказалось диффузное замедление биоэлектрической активности (73,9%). Диффузное замедление ЭЭГ часто связывают с воздействием психотропных препаратов и сравнивают с эффектом электросудорожной терапии [23]. Существует предположение, что диффузное или пароксизмальное замедление ЭЭГ при антипсихотической терапии может свидетельствовать о благоприятном исходе терапии [14]. Однако некоторые исследователи [12, 13] обнаружили, что у пациентов с большой продолжительностью терапии наблюдалось замедление ЭЭГ, и объясняли данный феномен усилением тяжести заболевания [13].

На наш взгляд, нельзя исключать влияние продолжительности болезни на эти показатели, поскольку шизофрения является процессуальной патологией [24, 25]. В нашем исследовании мы не обнаружили различий в частоте замедления ЭЭГ в зависимости от среднесуточных доз ни для одного атипичного антипсихотика, однако с учетом усредненных доз всех антипсихотиков обнаружено, что хлорпромазиновый эквивалент статистически значимо был выше в группе больных с замедлением ЭЭГ. Таким образом, мы предполагаем, что с увеличением терапевтической дозы антипсихотиков можно ожидать рост медленноволновой активности на ЭЭГ и, как следствие, общего замедления биоэлектрической активности мозга. Еще одним важным результатом исследования стал тот факт, что влияние антипсихотиков на ЭЭГ оказалось соответствующим спектру их атипичности, описанному М. Carli и соавт. [26].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование выявило несколько интересных результатов. Во-первых, наиболее частые изменения на ЭЭГ наблюдались у пациентов, принимавших клозапин, по сравнению с другими атипичными антипсихотиками. Эти изменения в большей степени относились к замедлению ЭЭГ. Во-вторых, в группе пациентов, принимавших оланзапин, наиболее часто обнаруживались эпилептиформные паттерны по сравнению с другими антипсихотиками, хотя оланзапин также вызывал и замедление ЭЭГ. В-третьих, нами обнаружен дозозависимый эффект приема атипичных антипсихотиков в отношении замедления ЭЭГ. Более высокий процент замедления ЭЭГ, по-видимому, связан с более высокими дозами хлорпромазинового эквивалента. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о необходимости использования электроэнцефалографии при мониторинге терапии антипсихотическими препаратами.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Galderisi S., Sannita W.G. Pharmacology-EEG: A history of progress and a missed opportunity. *Clin. EEG Neurosci.* 2006;37(2):61–65. DOI: 10.1177/155005940603700204.
- Dasberg H., Robinson S. The influence of anti-psychotic drugs on the EEG of mental patients. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1970; 8(6):643.
- Dasberg H., Robinson S. Electroencephalographic variations following anti-psychotic drug treatment. (Diagnostic and prognostic significance). *Dis. Nerv. Syst.* 1971;32(7):472–478.
- Galkin S.A., Roshchina O.V., Kisel N.I., Ivanova S.A., Bokhan N.A. Clinical and neurophysiological characteristics of alcohol dependence and its comorbidity with affective disorders. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 2021;51(6):720–723. DOI: 10.1007/s11055-021-01127-w.
- Изнак Е.В., Дамянович Е.В., Левченко Н.С., Олейчик И.В., Изнак А.Ф. Асимметрии ЭЭГ у пациенток юношеского возраста при депрессиях с разными видами аутоагрессивного поведения. *Психиатрия.* 2020;18(3):14–21. DOI: 10.30629/2618-6667-2020-18-3-14-21.
- Арзуманов Ю.Л., Лапин И.А., Мещеряков А.Ф., Бродянский В.М., Абакумова А.А., Винникова М.А. и др. Электрофизиологические корреляты генетического риска развития алкогольной зависимости. *Вопросы наркологии.* 2016;(2):5–23.
- Галкин С.А., Пешковская А.Г., Рощина О.В., Кисель Н.И., Иванова С.А., Бохан Н.А. Особенности мозговой активности при алкогольной зависимости в задаче на ингибиторный контроль. *Бюллетень сибирской медицины.* 2020;19(4):38–45. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-38-45.
- Kutepov I.E., Krysko A.V., Dobriyan V.V., Yakovleva T.V., Krylova E.Yu., Krysko V.A. Visualization of eeg signal entropy in schizophrenia. *Scientific Visualization.* 2020;12(1):1–9. DOI: 10.26583/sv.12.1.01.
- Boutros N.N. Psychotic and Affective Disorders. In: Standard EEG: A Research Roadmap for Neuropsychiatry. *Springer, Cham.* 2013. DOI: 10.1007/978-3-319-04444-6\_11.
- O'Sullivan S.S., Mullins G.M., Cassidy E.M., McNamara B. The role of the standard EEG in clinical psychiatry. *Hum. Psychopharmacol.* 2006;21(4):265–271. DOI: 10.1002/hup.767.
- Itil T.M. The use of electroencephalography in the practice of psychiatry. *Psychosomatics.* 1982;23(8):799–803. DOI: 10.1016/S0033-3182(82)73079-8.
- Aiyer R., Novakovic V., Barkin R.L. A systematic review on the impact of psychotropic drugs on electroencephalogram waveforms in psychiatry. *Postgrad. Med.* 2016;128(7):656–664. DOI: 10.1080/00325481.2016.1218261.
- Dias Alves M., Micoulaud-Franchi J.A., Simon N., Vi-on-Dury J. Electroencephalogram modifications associated with atypical strict antipsychotic monotherapies. *J. Clin. Psychopharmacol.* 2018;38(6):555–562. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000953.
- Kikuchi Y.S., Sato W., Ataka K., Yagisawa K., Omori Y., Kanbayashi T., Shimizu T. Clozapine-induced seizures, electroencephalography abnormalities, and clinical responses in Japanese patients with schizophrenia. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2014;10:1973–1978. DOI: 10.2147/NDT.S69784.

15. Centorrino F., Price B.H., Tuttle M., Bahk W.M., Hennen J., Albert M.J. et al. EEG abnormalities during treatment with typical and atypical antipsychotics. *Am. J. Psychiatry*. 2002;159(1):109–115. DOI: 10.1176/appi.ajp.159.1.109.
16. Pillmann F., Schlote K., Broich K., Marneros A. Electroencephalogram alterations during treatment with olanzapine. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2000;150(2):216–219. DOI: 10.1007/s002130000426.
17. Wichniak A., Szafranski T., Wierzbicka A., Waliniowska E., Jernajczyk W. Electroencephalogram slowing, sleepiness and treatment response in patients with schizophrenia during olanzapine treatment. *J. Psychopharmacol.* 2006;20(1):80–85. DOI: 10.1177/0269881105056657.
18. Amann B.L., Pogarell O., Mergl R., Juckel G., Grunze H., Mulert C., Hegerl U. EEG abnormalities associated with antipsychotics: a comparison of quetiapine, olanzapine, haloperidol and healthy subjects. *Hum. Psychopharmacol.* 2003;18(8):641–646. DOI: 10.1002/hup.537.
19. Micoulaud-Franchi J.A., Balzani C., Faugere M. Neurophysiologie clinique en psychiatrie : 1 – Techniques, vocabulaires et indications de l'électroencéphalographie conventionnelle. *Annales Médico-psychologiques, Revue Psychiatrique*. 2013;171(5):334–341. DOI: 10.1016/j.amp.2013.04.005.
20. Wu C.S., Wang S.C., Yeh I.J., Liu S.K. Comparative risk of seizure with use of first- and second-generation antipsychotics in patients with schizophrenia and mood disorders. *J. Clin. Psychiatry*. 2016;77(5):e573–579. DOI: 10.4088/JCP.15m09898.
21. Varma S., Bishara D., Besag F.M., Taylor D. Clozapine-related EEG changes and seizures: dose and plasma-level relationships. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* 2011;1(2):47–66. DOI: 10.1177/2045125311405566.
22. Degner D., Nitsche M.A., Bias F., Rütger E., Reulbach U. EEG alterations during treatment with olanzapine. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2011;261(7):483–488. DOI: 10.1007/s00406-011-0208-4.
23. Matsuura M., Yoshino M., Ohta K., Onda H., Nakajima K., Kojima T. Clinical significance of diffuse delta EEG activity in chronic schizophrenia. *Clin. Electroencephalogr.* 1994;25(3):115–121. DOI: 10.1177/155005949402500309.
24. Марусин А.В., Корнетов А.Н., Сваровская М.Г., Вагайцева К.В., Павленюк Е.С., Степанов В.А. Ассоциация генов подверженности к алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016;15(5):83–96. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-5-83-96.
25. Kornetov A. Old age psychiatry: training in Siberia. *Mental Health Reforms*. 2002;7(2):7–8.
26. Carli M., Kolachalam S., Longoni B., Pintaudo A., Baldini M., Aringhieri S. et al. Atypical antipsychotics and metabolic syndrome: from molecular mechanisms to clinical differences. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14(3):238. DOI: 10.3390/ph14030238.

## Вклад авторов

Галкин С.А. – нейрофизиологическое обследование пациентов, анализ данных, написание статьи. Корнетова Е.Г. – разработка дизайна и концепции исследования, клинико-психопатологическое и психометрическое обследование выборки, проверка критически важного интеллектуального содержания. Иванова С.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Информация об авторах

Галкин Станислав Алексеевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, s01091994@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7709-3917>

Корнетова Елена Георгиевна – д-р мед. наук, зав. отделением эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, [ekornetova@outlook.com](mailto:ekornetova@outlook.com), <http://orcid.org/0000-0002-5179-9727>

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

(✉) Галкин Станислав Алексеевич, e-mail: s01091994@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.06.2023;  
одобрена после рецензирования 22.06.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК 616.24-006.6:616.15-033.2:577.17  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-23-29>



## Супрессор метастазирования киспептин (KISS1) в сыворотке крови больных раком легкого

Герштейн Е.С.<sup>1,2</sup>, Ковалева О.В.<sup>1</sup>, Кузьмин Ю.Б.<sup>1,2</sup>, Алферов А.А.<sup>1,2</sup>, Рогожин Д.В.<sup>1</sup>, Янушевич О.О.<sup>2</sup>, Стилиди И.С.<sup>1</sup>, Кушлинский Н.Е.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет (МГМСУ) им. А.И. Евдокимова  
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – сравнительная оценка содержания супрессора метастазирования киспептина (KISS1) в сыворотке крови практически здоровых людей и больных раком легкого (РЛ), анализ взаимосвязи уровня KISS1 с основными клинико-морфологическими особенностями заболевания.

**Материалы и методы.** Обследованы 74 больных РЛ и 46 здоровых доноров. У 8 пациентов диагностирована I стадия, у 7 – II, у 28 – III, у 31 – IV стадия. По гистологическому строению 32 опухоли представляли собой аденокарциному, 29 – плоскоклеточный, 11 – мелкоклеточный и две – крупноклеточный рак. Содержание KISS1 в сыворотке крови определяли до лечения наборами реактивов для иммуноферментного анализа (Kisspeptin 1 – KISS1, Cloud-Clone Corp., США).

**Результаты.** Медиана содержания KISS1 в крови больных РЛ составила 213 (пределы колебаний 7,8–716) пг/мл и была значимо выше, чем в контрольной группе: 83,4 (0–180) пг/мл ( $p < 0,0001$ ). ROC-анализ диагностической значимости сывороточного уровня KISS1 показал, что чувствительность данного теста относительно здорового контроля при пороговом уровне 152 пг/мл составляет 70%, специфичность – 85% ( $AUC = 0,817$ ;  $p < 0,0001$ ). При I–II стадиях заболевания чувствительность не превышает 50%. Содержание KISS1 в сыворотке крови не зависит от гистологического типа опухоли. Значимых различий уровней KISS1 как между НМРЛ в целом и нейроэндокринным МРЛ, так и между основными гистологическими типами НМРЛ не наблюдается. Уровень KISS1 возрастает с увеличением стадии заболевания ( $p < 0,05$ ), однако ни один из индексов системы TNM значимо не влияет на уровень маркера. Не обнаружено различий между сывороточными уровнями KISS1 у пациентов с центральной или периферической локализацией опухоли.

**Заключение.** Уровень KISS1 в сыворотке крови больных РЛ повышен по сравнению с контролем и является стадия-зависимым маркером. Он обладает высокой диагностической специфичностью, но недостаточной чувствительностью, в особенности на ранних стадиях заболевания. Основываясь на собственных результатах и данных литературы о роли KISS1 при НМРЛ, полагаем, что клиническое значение киспептина при данном заболевании заслуживает дальнейшего более углубленного изучения.

**Ключевые слова:** рак легкого, KISS1, сыворотка крови

**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 № 6 от 06.06.2023).

✉ Герштейн Елена Сергеевна, [esgershtein@gmail.com](mailto:esgershtein@gmail.com)

Для цитирования: Герштейн Е.С., Ковалева О.В., Кузьмин Ю.Б., Алферов А.А., Рогожин Д.В., Янушевич О.О., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е. Супрессор метастазирования кисспептин (KISS1) в сыворотке крови больных раком легкого. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):23–29. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-23-29>.

## Metastasis suppressor kisspeptin (KISS1) in the blood serum of lung cancer patients

Gershtein E.S.<sup>1,2</sup>, Kovaleva O.V.<sup>1</sup>, Kuzmin Yu.B.<sup>1,2</sup>, Alferov A.A.<sup>1,2</sup>, Rogozhin D.V.<sup>1</sup>, Yanushevich O.O.<sup>2</sup>, Stilidi I.S.<sup>1</sup>, Kushlinskii N.E.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology  
24, Kashirskoe Highway, Moscow, 115522, Russian Federation

<sup>2</sup> A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry  
20/1, Delegatskaya Str., Moscow, 127473, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To conduct a comparative assessment of the content of kisspeptin (KISS1) metastasis suppressor in the blood serum of apparently healthy individuals and patients with lung cancer (LC) and to analyze the associations between the KISS1 level and clinical and pathological characteristics of the disease.

**Materials and methods.** The study included 74 LC patients and 46 apparently healthy individuals. Stage I LC was diagnosed in 8 patients, stage II LC – in 7 patients, stage III LC – in 28 patients, and stage IV LC – in 31 patients. According to the histologic pattern, 32 tumors were characterized as adenocarcinoma, 29 – as squamous-cell carcinoma, 11 – as small-cell LC (SCLC), and 2 – as large-cell lung carcinoma. The pre-treatment KISS1 level in the blood serum was determined using the enzyme-linked immunosorbent assay kit (KISS1, Cloud-Clone Corp., USA).

**Results.** The median serum KISS1 level in LC patients was 213 (range 7.8–716) pg / ml and was significantly higher than in the control group – 83.4 (0–180) pg / ml ( $p < 0.0001$ ). The ROC analysis of the diagnostic value of serum KISS1 level demonstrated that the sensitivity of the test in relation to the healthy controls was 70% at a cut-off value of 152 pg / ml, and the specificity was 85% (AUC – 0.817;  $p < 0.0001$ ). In stage I–II LC, the sensitivity did not exceed 50%. The level of KISS1 in the blood serum did not depend on the histologic type of the tumor. No significant differences in the serum KISS1 levels were observed both between non-small cell lung cancer (NSCLC) on the whole and neuroendocrine SCLC and between the main histologic types of NSCLC. The level of KISS1 increased with the disease stage ( $p < 0.05$ ). However, none of the TNM staging system indices significantly influenced the level of the marker. No differences were found between serum KISS1 levels in patients with central or peripheral localization of the tumor.

**Conclusion.** The KISS1 level was elevated in LC patients compared to healthy controls and was a stage-dependent marker. It has high diagnostic specificity but insufficient sensitivity, especially at early stages of the disease. Based on the results of this study and literature data on the role of KISS1 in NSCLC, we conclude that clinical implications of KISS1 in this disease require further research.

**Keywords:** lung cancer, KISS1, blood serum

**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 N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Protocol No. 6 of 06.06.2023).

**For citation:** Gershtein E.S., Kovaleva O.V., Kuzmin Yu.B., Alferov A.A., Rogozhin D.V., Yanushevich O.O., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E. Metastasis suppressor kisspeptin (KISS1) in the blood serum of lung cancer patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):23–29. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-23-29>.

## ВВЕДЕНИЕ

Кисспептин или метастатин – продукт гена *KISS1* – рассматривают в настоящее время как супрессор метастазирования различных опухолей. Ген *KISS1*, кодирующий белок, состоящий из 145 аминокислотных остатков (кисспептин-145), который впоследствии расщепляется на более мелкие функционально активные белки, был открыт в 1996 г. как ген-супрессор метастазирования меланомы [1, 2]. Подавление метастазирования при восстановлении экспрессии *KISS1* обнаружено также и в ряде других клеточных линий, характеризующихся высоким метастатическим потенциалом [3–5]. В норме физиологическая роль кисспептина включает регуляцию инвазии клеток трофобласта плаценты, а также регуляцию выработки гонадотропного гормона [6]. Механизмы, опосредующие способность данного белка подавлять образование метастазов, в настоящее время остаются малоизученными. При этом известно, что свои эффекты он осуществляет через рецептор GPR54, ассоциированный с G-белками подсемейства Gq/11 [7, 8].

Наибольшая экспрессия генов *KISS1* и *GPR54* наблюдается в плаценте, а также в различных структурах мозга, включая гипоталамус и базальное ядро [9], а низкая экспрессия отмечается в поджелудочной железе, почках, печени, легких, простате и тонкой кишке [7]. Уровень экспрессии *KISS1* имеет неоднозначное прогностическое значение при различных злокачественных опухолях, в частности, коррелирует с инвазивностью некоторых опухолей человека, включая почечно-клеточный рак, меланому, рак пищевода, мочевого пузыря, молочной железы, яичников и простаты [10]. Исследование генов-супрессоров метастазирования и их продуктов не только расширяет понимание механизмов опухолевой прогрессии, но имеет и практический интерес для диагностики, прогноза и поиска новых мишеней для терапии онкологических заболеваний [11]. С точки зрения неинвазивной и, по возможности, ранней диагностики опухолей наиболее интересным является не столько изучение экспрессии генов и белков в ткани опухоли, сколько выявление их растворимых форм, циркулирующих в периферической крови. В литературе представлено всего несколько исследований, посвященных изучению циркулирующего кисспептина: его изучали при раке поджелудочной железы [12], толстой кишки [13], желудка [14]. Данные о роли гена *KISS1* и его продукта кисспептина при раке легкого немногочисленны и довольно противоречивы [15–18].

Цель настоящего исследования – сравнительная оценка содержания *KISS1* в сыворотке крови практически здоровых доноров и больных раком легкого

(РЛ), а также анализ взаимосвязи уровня этого белка с основными клинико-морфологическими особенностями заболевания.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 74 больных раком легкого (54 мужчины и 20 женщин) в возрасте от 31 до 85 лет (медиана – 74 года), проходивших обследование и лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, а также 46 здоровых доноров (22 мужчины и 24 женщины) в возрасте от 29 до 76 лет (медиана – 45 лет). Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей легкого (Всемирная организация здравоохранения, 2021): I стадия заболевания диагностирована у 8, II – у 7, III – у 28 и IV – у 31 пациента. По гистологическому строению 32 опухоли представляли собой аденокарциному, 29 – плоскоклеточный рак, 11 – мелкоклеточный рак, 2 – крупноклеточный рак.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием пациентов и здоровых доноров, соответствуют стандартам этического комитета организации и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого включенного в исследование участника получено информированное добровольное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (протокол № 6 от 06.06.2023).

Содержание *KISS1* в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли с помощью набора реактивов для прямого иммуноферментного анализа Kisspeptin 1 – *KISS1* (Cloud-Clone Corp., США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркера выражали в пикограммах (пг) на 1 мл сыворотки крови.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 9.0. Для сравнения показателей и анализа их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни и Краскала – Уоллиса, медианный тест, тест корреляции рангов Спирмена. Анализ информативности диагностического метода на основе оценки его чувствительности и специфичности проводили с помощью построения ROC-кривых и вычисления площади под ними (AUC). Различия и корреляции считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе данной работы проанализировали содержание KISS1 в сыворотке крови всей группы больных РЛ и здоровых доноров для оценки потенциальной диагностической значимости данного маркера. Медиана содержания KISS1 в крови больных РЛ составила 213 (пределы колебаний 7,8–716) пг/мл и была значимо выше, чем в контрольной группе: 83,4 (пределы колебаний 0–180) пг/мл (рис. 1, а;  $p < 0,0001$ ).

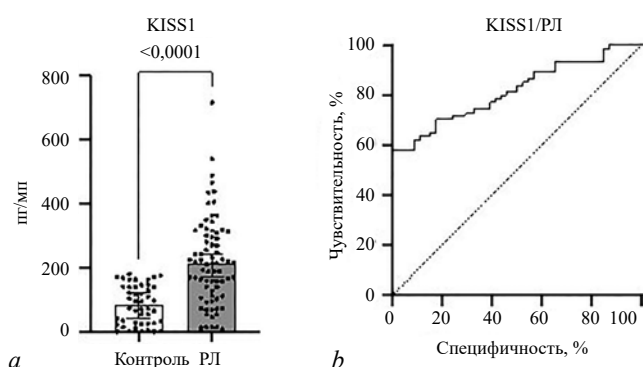


Рис. 1. Сравнительный анализ содержания KISS1 в сыворотке крови больных РЛ и здоровых доноров (а), ROC-анализ для KISS1 у больных РЛ (b): площадь под ROC-кривой составляет 0,829 ( $p < 0,0001$ )

ROC-анализ диагностической значимости уровня KISS1 в сыворотке крови больных РЛ показал (см. рис. 1, b), что чувствительность данного теста относительно здорового контроля при оптимальном пороговом уровне 152 пг/мл составляет 70%, специфичность 85% (AUC – 0,817 с 95%-м доверительным интервалом 0,759–0,899;  $p < 0,0001$ ). Анализ уровней маркера в зависимости от стадии заболевания (табл. 1) свидетельствует о том, что при ранних (I–II) стадиях заболевания чувствительность не превышает 50%.

Содержание KISS1 в сыворотке крови мужчин статистически значимо выше, чем у женщин ( $Me$  221 и 162 пг/мл соответственно;  $p < 0,05$ ). Аналогичные значимые различия отмечены и в группе контроля. Выявлена слабая, но статистически значимая положительная корреляционная связь уровня KISS1 в сыворотке крови с возрастом больных РЛ ( $r_s = 0,31$ ;  $p = 0,007$ ). При этом в группе контроля корреляция с возрастом была противоположной:  $r_s = -0,29$ ;  $p = 0,048$ .

Далее мы оценили содержание KISS1 в сыворотке крови пациентов в зависимости от гистологического типа РЛ. Сравнение проводили как между группа-

ми мелкоклеточного (МРЛ) и немелкоклеточного (НМРЛ) РЛ, так и между различными вариантами НМРЛ (рис. 2).

Таблица

| Содержание KISS1 в сыворотке крови больных РЛ в зависимости от клинко-морфологических характеристик |              |             |          |
|---|--------------|-------------|----------|
| Характеристика  | KISS1, пг/мл |             |          |
|   | <i>Me</i>    | 25–75%      | <i>p</i> |
| Пол:  |              |             |          |
| – мужской ( $n = 54$ );   | 221          | 149,8–316   | 0,042    |
| – женский ( $n = 20$ )  | 162          | 77,7–230    |          |
| Стадия:   |              |             |          |
| I ( $n = 8$ );  | 188          | 69,9–275    | 0,042    |
| II ( $n = 7$ );   | 148          | 45,1–193    |          |
| III ( $n = 28$ );   | 241          | 157–351     |          |
| IV ( $n = 31$ )   | 216          | 139–296     |          |
| Размер опухоли (T):   |              |             |          |
| – T1–T2;  | 187,6        | 111,0–271,0 | 0,179    |
| – T3–T4   | 224,8        | 128,0–317,1 |          |
| Наличие регионарных метастазов (N):   |              |             |          |
| – N0;   | 210,4        | 88,8–293,9  | 0,569    |
| – N+  | 215,8        | 119,5–314,2 |          |
| Наличие отдаленных метастазов (M):  |              |             |          |
| – M0;   | 201,6        | 88,4–303,5  | 0,405    |
| – M+  | 218,5        | 159,1–311,8 |          |
| Локализация:  |              |             |          |
| – центральная;  | 224,8        | 106,9–316,6 | 0,248    |
| – периферическая  | 178,1        | 109,9–255,2 |          |

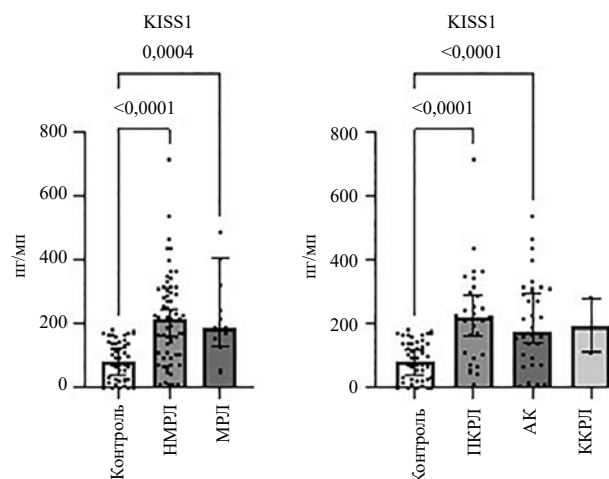


Рис. 2. Содержание KISS1 в сыворотке крови больных РЛ в зависимости от гистологического типа опухоли

Установлено, что содержание KISS1 в сыворотке крови пациентов не зависит от гистологического типа опухоли: значимых различий как между НМРЛ в целом и нейроэндокринным МРЛ, так и между основными гистологическими типами НМРЛ не наблюдается. При этом при всех вариантах РЛ уровень KISS1 был статистически значимо выше, чем в контроле.

В связи с этим дальнейший анализ взаимосвязи уровня KISS1 с показателями распространенности и локализацией РЛ проводили для всей группы в целом, без учета гистологического строения опухоли (см. таблицу).

Отмечено статистически значимое повышение уровня KISS1 в сыворотке крови с увеличением стадии заболевания ( $p < 0,05$  по медианному тесту), однако ни один из индексов системы TNM (размер первичной опухоли Т, наличие как регионарных N, так и отделенных метастазов М) значимо не влиял на уровень маркера. Не обнаружено также различий между уровнями KISS1 в сыворотке крови пациентов с центральной или периферической локализацией опухоли.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, нами установлено, что содержание белка KISS1 – продукта соответствующего гена-супрессора метастазирования – в сыворотке крови больных раком легкого значимо повышено по сравнению с контролем и возрастает по мере увеличения стадии заболевания. В обследуемую группу входили как пациенты с классическим НМРЛ, так и больные с нейроэндокринным мелкоклочным и крупноклочным РЛ, однако различий в сывороточных уровнях KISS1 между этими принципиально различными типами РЛ не выявлено. Не различались также уровни маркера при различных гистологических вариантах НМРЛ. Анализ диагностической значимости KISS1 при РЛ показал достаточно высокую (85%) специфичность этого теста по отношению к здоровому контролю, но чувствительность при этом составила 70% в общей группе и не более 50% на ранних стадиях.

Увеличение уровня растворимой формы супрессора метастазирования в сыворотке крови больных РЛ в целом и в особенности при распространенном процессе достаточно парадоксально с фундаментальной точки зрения, но согласуется с данными немногих публикаций, посвященных исследованию KISS1, циркулирующего в периферической крови (в сыворотке или плазме) [12–14; 16]. Все они свидетельствуют о повышении уровня данного белка у больных с опухолями различных локализаций (поджелудочной железы, толстой кишки, желудка) по сравнению со здоровым контролем. Правда, в наиболее детальной из этих работ [12] значимой взаимосвязи уровня KISS1 с клинико-морфологическими характеристиками рака поджелудочной железы, так же как и его влияния на общую и безрецидивную выживаемость пациентов, выявлено не было.

В исследовании S. Zheng и соавт. [19] показано, что экспрессия KISS1 на уровне мРНК у пациентов с НМРЛ значительно ниже на поздних стадиях заболевания и обратно коррелирует с регионарным метастазированием. Авторы показали, что экспрессия KISS1 была выше в первичных опухолях по сравнению со вторым метастатическим очагом. Это косвенно свидетельствовало в пользу того, что KISS1 функционирует как супрессор метастазирования. Аналогичные результаты получены Y.B. Sun и соавт. [15]: по их данным, не только экспрессия KISS1 и KISS1R была меньше при IV стадии НМРЛ по сравнению с IIIB стадией, но и уровни растворимого KISS1 в сыворотке крови при более распространенном процессе были снижены. При этом выживаемость больных с высокой экспрессией KISS1 и KISS1R в опухоли была лучше, чем у пациентов с опухолями, не экспрессирующими данные белки. В то же время E.M. Karapanagiotou и соавт. [17] не обнаружили различий уровней KISS1 в плазме крови между больными НМРЛ и здоровыми донорами, а также между пациентами с местнораспространенным и метастатическим заболеванием.

Полученные нами данные, свидетельствующие в пользу того, что содержание KISS1 в сыворотке крови при развитии опухолей легкого возрастает, согласуются с результатами L. Gatti и соавт. [16], показавших повышение уровней маркера у больных НМРЛ по сравнению с контролем и его снижение после хирургического или химиотерапевтического лечения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время растет интерес к исследованию клинического значения генов и белков, являющихся супрессорами метастазирования при различных онкологических заболеваниях. Их рассматривают в первую очередь как потенциальные мишени новых видов молекулярно-направленной терапии, но также и как возможные прогностические и диагностические маркеры.

В представленном исследовании продемонстрировано, что уровень одного из таких белков – KISS1 – значимо повышается у больных РЛ, независимо от его гистологического строения по сравнению со здоровым контролем и является стадия-зависимым маркером при данном заболевании. Он обладает достаточно высокой диагностической специфичностью (85%), но недостаточной чувствительностью, в особенности на ранних стадиях заболевания. Основываясь на собственных результатах и достаточно противоречивых данных литературы о роли KISS1 при НМРЛ, мы полагаем, что клиниче-

ское значение кисспептина при данном заболевании заслуживает дальнейшего более углубленного изучения.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ly T., Harihar S., Welch D.R. KISS1 in metastatic cancer research and treatment: potential and paradoxes. *Cancer Metastasis Rev.* 2020;39(3):739–754. DOI: 10.1007/s10555-020-09868-9.
2. Harihar S., Welch D.R. KISS1 metastasis suppressor in tumor dormancy: a potential therapeutic target for metastatic cancers? *Cancer Metastasis. Rev.* 2023;42(1):183–196. DOI: 10.1007/s10555-023-10090-6.
3. Wang C.H., Qiao C., Wang R.C., Zhou W.P. KiSS-1-mediated suppression of the invasive ability of human pancreatic carcinoma cells is not dependent on the level of KiSS-1 receptor GPR54. *Mol. Med. Rep.* 2016;13(1):123–129. DOI: 10.3892/mmr.2015.4535.
4. Wang W., Yang Z.L., Liu J.Q., Yang L.P., Yang X.J., Fu X. Overexpression of MTA1 and loss of KAI-1 and KiSS-1 expressions are associated with invasion, metastasis, and poor-prognosis of gallbladder adenocarcinoma. *Tumori.* 2014;100(6):667–674. DOI: 10.1700/1778.19276.
5. Teng Y., Mei Y., Hawthorn L., Cowell J.K. WASF3 regulates miR-200 inactivation by ZEB1 through suppression of KISS1 leading to increased invasiveness in breast cancer cells. *Oncogene.* 2014;33(2):203–211. DOI: 10.1038/nc.2012.565.
6. Hu K.L., Chang H.M., Zhao H.C., Yu Y., Li R., Qiao J. Potential roles for the kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. *Hum. Reprod. Update.* 2019;25(3):326–343. DOI: 10.1093/humupd/dmy046.
7. Zhu N., Zhao M., Song Y., Ding L., Ni Y. The KiSS-1/GPR54 system: Essential roles in physiological homeostasis and cancer biology. *Genes. Dis.* 2022;9(1):28–40. DOI: 10.1016/j.gendis.2020.07.008/
8. Ohtaki T., Shintani Y., Honda S., Matsumoto H., Hori A., Kanehashi K. et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature.* 2001;411(6837):613–617. DOI: 10.1038/35079135.
9. Kuohung W., Kaiser U.B. GPR54 and KiSS-1: role in the regulation of puberty and reproduction. *Rev. Endocr. Metab. Disor.* 2006;7(4):257–263. DOI: 10.1007/s11154-006-9020-2.
10. Ciaramella V., Della Corte C.M., Ciardiello F., Morgillo F. Kisspeptin and cancer: molecular interaction, biological functions, and future perspectives. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2018;9:115. DOI: 10.3389/fendo.2018.00115.
11. Steeg P.S., Ouatas T., Halverson D., Palmieri D., Salerno M. Metastasis suppressor genes: basic biology and potential clinical use. *Clin. Breast Cancer.* 2003;4(1):51–62. DOI: 10.3816/cbc.2003.n.012.
12. Loosen S.H., Luedde M., Lurje G., Spehlmann M., Paffenholz P., Ulmer T.F. et al. Serum levels of kisspeptin are elevated in patients with pancreatic cancer. *Dis. Markers.* 2019;2019:5603474. DOI: 10.1155/2019/5603474.
13. Canbay E., Ergen A., Bugra D., Yamaner S., Eraltan I.Y., Buyukuncu Y. et al. Kisspeptin-54 levels are increased in patients with colorectal cancer. *World J. Surg.* 2012;36(9):2218–2224. DOI: 10.1007/s00268-012-1636-7.
14. Ergen A., Canbay E., Bugra D., Zeybek U., Yamaner S., Bulut T. Plasma Kisspeptin-54 levels in gastric cancer patients. *Int. J. Surg.* 2012;10(9):551–554. DOI: 10.1016/j.ijsu.2012.08.014.
15. Sun Y.B., Xu S. Expression of KISS1 and KISS1R (GPR54) may be used as favorable prognostic markers for patients with non-small cell lung cancer. *Int. J. Oncol.* 2013;43(2):521–530. DOI: 10.3892/ijo.2013.1967.
16. Gatti L., Rolli L., Corno C., Carenini N., Corna E., Ciusani E. et al. Increased serum levels of KiSS1-derived peptides in non-small cell lung cancer patient liquid biopsies and biological relevance. *Transl. Lung Cancer Res.* 2022;11(7):1315–1326. DOI: 10.21037/tlcr-22-52.
17. Karapanagiotou E.M., Dilana K.D., Gkiozos I., Gratsias I., Tsimpoukis S., Polyzos A. et al. Metastin is not involved in metastatic potential of non-small cell lung cancer. *Med. Oncol.* 2011;28(2):559–564. DOI: 10.1007/s12032-010-9466-7.
18. Wang G., Wang Z., Li C., Wang P., Chai D., Cheng Z. Relationship among the expression of lymphatic vessel density, microvessel density, carcinoembryonic antigenic mRNA, KAI1, and Kiss-1, and prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2012;15(6):348–354. DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2012.06.05.
19. Zheng S., Chang Y., Hodges K.B., Sun Y., MaX., Xue Y. et al. Expression of KISS1 and MMP-9 in non-small cell lung cancer and their relations to metastasis and survival. *Anticancer Res.* 2010;30(3):713–718.

### Вклад авторов

Герштейн Е.С. – анализ литературных данных, написание статьи. Ковалева О.В. – анализ литературных данных, статистическая обработка результатов исследования. Кузьмин Ю.Б., Алферов А.А. – получение экспериментальных данных. Рогожин Д.В. – морфологическое исследование опухолей. Стилиди И.С., Янушевич О.О. – научное редактирование текста. Кушлинский Н.Е. – научная идея исследования, разработка дизайна исследования, общее руководство работой, научное редактирование текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

## Информация об авторах

**Герштейн Елена Сергеевна** – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинко-диагностическая централизованного научно-клинического лабораторного отдела, консультативно-диагностический центр, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина; профессор кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, esgershtein@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>

**Ковалева Ольга Владимировна** – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория регуляции клеточных и вирусных онкогенов, НИИ канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва, ovkovleva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>

**Алферов Александр Андреевич** – канд. мед. наук, врач клинической лабораторной диагностики, лаборатория клинко-диагностическая централизованного научно-клинического лабораторного отдела, консультативно-диагностический центр, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина; ассистент, кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, aleksandr.alferov@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0003-3585-569>

**Кузьмин Юрий Борисович** – канд. биол. наук, ст. лаборант, лаборатория клинко-диагностическая централизованного научно-клинического лабораторного отдела, консультативно-диагностический центр, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина; кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, biochimia@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0430-2754>

**Рогожин Дмитрий Викторович** – д-р мед. наук, зав. отделом морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, НИИ клинической онкологии им. академика РАМН и РАН Н.Н. Трапезникова, 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** – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, науч. руководитель, лаборатория клинко-диагностическая централизованного научно-клинического лабораторного отдела, консультативно-диагностический центр, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина; зав. кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, biochimia@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

(✉) Герштейн Елена Сергеевна, esgershtein@gmail.com

Поступила в редакцию 22.11.2023;  
одобрена после рецензирования 15.11.2023;  
принята к публикации 21.12.2023

УДК 616.61-02:616.379-008.64]-092.9  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-30-36>



## Транскрипционная регуляция функционирования лактатдегидрогеназы в клетках почек крыс при диабетической нефропатии

Епринцев А.Т., Пресняков Е.С., Селиванова Н.В.

Воронежский государственный университет (ВГУ)  
Россия, 394063, г. Воронеж, Университетская пл., 1

### РЕЗЮМЕ

**Целью** данной работы являлось изучение особенностей транскрипционной регуляции активности и изоферментного состава лактатдегидрогеназы в почках *Rattus norvegicus* L. при диабетической нефропатии.

**Материалы и методы.** Проведено исследование 20 самцов лабораторных крыс *Rattus norvegicus* L., разделенных на две равные группы: «Норма» – интактные крысы, которым внутрибрюшинно вводили 0,9%-й NaCl, и «Диабет» – животные с аллоксановым диабетом. Исследовалась активность, субклеточная локализация и подвижность изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) с использованием спектрофотометрических, электрофоретических методов, а также использовалась полимеразная цепная реакция в реальном времени для анализа транскриптов генов *LDHA* и *LDHB*.

**Результаты.** Анализ активности ЛДГ показал, что данный параметр вырос более чем в 6 раз у животных с диабетической нефропатией по сравнению с контрольной группой. Возрастание скорости функционирования ЛДГ является следствием активизации фермента во всех исследуемых компартментах клетки и согласуется с показателем в гомогенате. Вероятно, увеличение активности ЛДГ при диабетической нефропатии является следствием перераспределения скорости функционирования между имеющимися изоформами и связано с усилением скорости транскрипции генов, кодирующих субъединицы А и В данного фермента.

**Заключение.** Усиление работы ЛДГ, вероятно, является следствием активизации почечного глюконеогенеза, основным субстратом для которого является именно молочная кислота, реадсорбируемая в почечных клубочках. Выявленное увеличение активности ЛДГ в почках крыс при диабетической нефропатии может быть связано с адаптацией их биохимического метаболизма к патологическому состоянию.

**Ключевые слова:** лактатдегидрогеназа, диабетическая нефропатия, изофермент, регуляция, транскрипция

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

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-04-00296).

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено этическим комитетом по экспертизе биомедицинских исследований ВГУ (протокол № 42-04 от 05.09.2022).

**Для цитирования:** Епринцев А.Т., Пресняков Е.С., Селиванова Н.В. Транскрипционная регуляция функционирования лактатдегидрогеназы в клетках почек крыс при диабетической нефропатии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):30–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-30-36>.

# Transcriptional regulation of lactate dehydrogenase activity in rat kidney cells in diabetic nephropathy

Eprintsev A.T., Presnyakov E.S., Selivanova N.V.

Voronezh State University

1, Universitetskaya Square, Voronezh, 394063, Russian Federation

## ABSTRACT

**Aim.** To study the features of transcriptional regulation of the activity and isoenzyme composition of lactate dehydrogenase in the kidneys of *Rattus norvegicus* L. in diabetic nephropathy.

**Materials and methods.** The study included 20 male laboratory rats (*Rattus norvegicus* L.) divided into two equal groups: "Norm" – intact rats injected with 0.9% NaCl intraperitoneally and "Diabetes" – animals with alloxan-induced diabetes (DM1 model). The activity, subcellular localization, and mobility of lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) isoenzymes were studied using spectrophotometry and electrophoresis. *LDHA* and *LDHB* gene transcripts were analyzed by the polymerase chain reaction.

**Results.** Analysis of the LDH activity showed that this parameter increased by more than 6 times in the animals with diabetic nephropathy compared to the control group. Moreover, the increase in the rate of the LDH activity was a consequence of the enzyme activation in all the studied compartments of the cell and is consistent with the parameter in the homogenate. The increase in the LDH activity in diabetic nephropathy may result from redistribution of the activity rate between the available isoforms and may be associated with an increase in the transcription rate of genes encoding subunits A and B of this enzyme.

**Conclusion.** The increase in the LDH activity is likely associated with the activation of renal gluconeogenesis, the main substrate for which is lactic acid reabsorbed in the renal glomeruli. The revealed increase in the LDH activity in the kidneys of rats with diabetic nephropathy may be associated with adaptation of their metabolism to the pathological state.

**Keywords:** lactate dehydrogenase, diabetic nephropathy, isoenzyme, regulation, transcription

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

**Source of financing.** The study was supported by the RFBR (project No. 20-04-00296).

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the Ethics Committee for Biomedical Research at Voronezh State University (Protocol No. 42-04 of 05.09.2022).

**For citation:** Eprintsev A.T., Presnyakov E.S., Selivanova N.V. Transcriptional regulation of lactate dehydrogenase activity in rat kidney cells in diabetic nephropathy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):30–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-30-36>.

## ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет является одной из самых важных медико-социальных и экономических проблем во всем мире [1]. Главная опасность данной патологии связана с развитием различных осложнений, в число которых входит и диабетическая нефропатия (ДН). Ежегодно количество заболевших сахарным диабетом только возрастает, следовательно, для каждого человека увеличивается риск развития данного заболевания [2]. В основе механизма диабетической нефропатии лежит развитие склеротических

изменений почечных клубочков, которые приводят к нарушению работы почек и появлению хронической почечной недостаточности. Главная проблема данной патологии в том, что на начальных стадиях сахарного диабета отсутствуют явно выраженные симптомы. К тому времени, как симптомы проявляются и ставится диагноз – «диабетическая нефропатия», болезнь уже крайне активно прогрессирует и практически не поддается лечению [3].

Почки демонстрируют высокую скорость энергетического метаболизма в состоянии покоя в организме человека [4] и занимают второе место по

потреблению кислорода и содержанию митохондрий, уступая только сердцу [5]. Такой активный механизм производства энергии имеет решающее значение для поддержания нормальной функции почек, которая требует активного транспорта и реабсорбции растворенных веществ, в том числе аминокислот, сахаров и других необходимых элементов обратно в кровь. Однако в условиях ДН, вызванной развитием сахарного диабета, наблюдается поражение тканей почек, что может вызывать в них метаболические изменения, включая активацию гликолиза и метаболизма жирных кислот, а также митохондриальную дисфункцию и нарушение выработки АТФ [6].

Фермент лактатдегидрогеназа (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), который участвует в заключительном этапе анаэробного гликолиза и осуществляет обратимое превращение пирувата в лактат, содержится в почках [7]. Но информации о работе данного фермента при ДН крайне мало, что представляет собой актуальную и интересную тему для изучения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве экспериментального объекта использовались самцы лабораторных крыс (*Rattus norvegicus* L.) весом 150–200 г (биопитомник «Стезар», Рос-

сия). Исследование одобрено этическим комитетом по экспертизе биомедицинских исследований ВГУ (протокол № 42-04 от 05.09.2022), выполнено с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Модель ДН при сахарном диабете 1-го типа осуществляли однократной внутрибрюшинной инъекцией 5%-го раствора аллоксана, разведенного в 0,9%-м цитрате натрия в дозировке 150 мг/кг живой массы [8]. Животные ( $n = 20$ ) были произвольно разделены на две равные экспериментальные группы: «Норма» – интактные крысы, которым внутрибрюшинно вводили 0,9%-й NaCl, и «Диабет» – животные с аллоксановым диабетом. Для контроля заболеваемости сахарным диабетом у опытной группы крыс определяли уровень глюкозы в крови с использованием глюкометра «Сателлит Плюс ПКГ-02.4». Забор крови производили из хвостовой вены в утренние часы натощак. Клиренс креатинина оценивали по концентрации креатинина в сыворотке крови и моче по методу Яффе с использованием набора «Креатинин Витал» (ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», Россия). Расчет проводили по формуле

$$\text{Клиренс креатинина} \left( \frac{\text{мл}}{\text{мин}} \right) = \frac{\text{объем мочи за 24 ч (мл)} \times \text{креатинин мочи} \left( \frac{\text{ммоль}}{\text{л}} \right)}{140 (\text{мин}) \times \frac{\text{креатинин сыворотки} \left( \frac{\text{мкмоль}}{\text{л}} \right) \times 0,001}{\text{масса крысы (кг)}}}.$$

Через 3 мес после введения аллоксана наркотизированных животных подвергали декапитации и извлекали почки. Ткань почек гомогенизировали в 10-кратном объеме среды для выделения, содержащей 1 мМ ЭДТА; 2 мМ KCl; 3 мМ ДТТ; 0,35 М сахара; 50 мМ Tris-HCl буфер (pH = 7,8). После чего проводили центрифугирование в течение 5 мин при 3 000 g и температуре 4 °C. Далее отбিরали супернатант (гомогенат), который позже использовался при измерении активности фермента. Разделение цитоплазмы и митохондрий осуществляли с помощью дифференциального центрифугирования [9].

Для оценки чистоты исследуемых фракций использовали метод перекрестного загрязнения, измеряя активность сукцинатдегидрогеназы [10] и алкогольдегидрогеназы [11].

Измерение активности ЛДГ осуществлялось спектрофотометрическим методом при длине волны 340 нм. Оценивали снижение оптической плотности раствора, связанное с утилизацией НАДН при превращении пирувата в лактат в среде спектрофотометрирования следующего состава: 5 мМ MgCl<sub>2</sub>; 10 мМ

KCl; 1,25 мМ НАДН; 3 мМ ПВК; 10 мМ калий-фосфатный буфер, pH = 7,8.

Разделение изоферментов ЛДГ производили электрофоретическим методом в полиакриламидном геле при температуре 4 °C. Для проявления геля пользовались тетразолиевым методом, в основе которого лежит появление окрашенного в синий цвет соединения – формаза, являющегося продуктом восстановления НСТ [12].

Нуклеотидные последовательности мРНК генов *LDHA* и *LDHB* крысы были взяты из международной базы данных GeneBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=lactate+dehydrogenase+rat>). Выявление гомологии генов и сравнительный анализ их состава проводили с помощью программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Для подбора праймеров использовали программу Primer-BLAST, размещенную на сайте NCBI. Полученные последовательности прошли проверку на специфичность к искомым генам в Primer-BALST и на образование сшивок и других вторичных структур в программе ClustalOmega. На основании проанализированных последовательностей были подобраны специ-

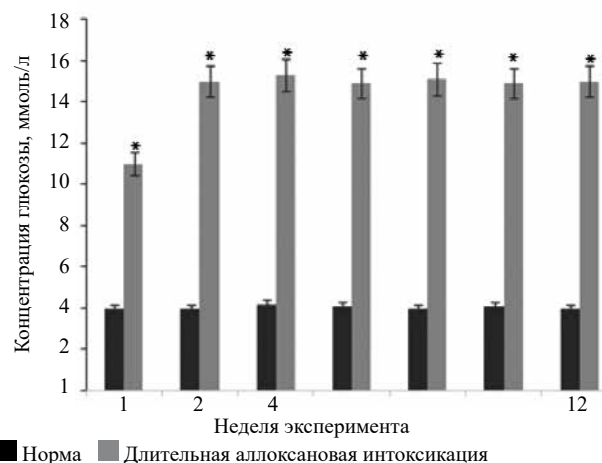
фические праймеры для *LDHA* и *LDHB* генов ЛДГ крысы (*LDHA*: прямой 5'-ctcagcgtcccatgtatcct-3'; обратный 5'-tgagatttccccagaccac-3'; *LDHB* прямой 5'-ctggattctgctcggttcg-3'; обратный 5'-tgaggtcagccacacttagg-3').

РНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции [13] с последующей визуализацией с помощью электрофореза в агарозном геле (1%) [14]. Обратную транскрипцию с целью получения кДНК осуществляли с использованием фермента M-MuLV обратной транскриптазы и праймерами олиго(dT) («СибФермент», Россия) для синтеза первой цепи кДНК согласно инструкции производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени проводили на ПЦР-анализаторе LightCycler 96 (Roche, Швейцария), в качестве реактивов были использованы наборы «Экстра-микс для ПЦР HS-Taq PCR» («Диаэм», Россия). В качестве красителя был взят SYBR Green I. Параметры амплификации: предварительная денатурация 95 °C – 5 мин, затем цикл: 95 °C – 20 с, 59 °C – 30 с, 72 °C – 40 с (детекция), финальная элонгация – 72 °C – 10 мин.

Для проверки достоверности полученных нами данных все опыты и измерения проводили в 8-кратных биологических и 5-кратных аналитических повторностях. Расчеты проводились в программе Microsoft Office Excel 2007, а их дальнейший анализ – в программе Статтех (StatTech v. 1.2.0; ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро – Уилка. На рисунках представлены данные как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $M \pm SE$ ). Результаты эксперимента анализировали с использованием *t*-критерия Стьюдента с расчетом среднего значения, стандартного отклонения. Для выявления взаимосвязей между показателями использовался корреляционный метод с применением коэффициента корреляции Пирсона. Все данные, представленные в данной работе, статистически значимы,  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные, полученные в ходе измерения концентрации сахара в крови крыс, представлены на рис. 1. Видно, что у крыс, относящихся к группе «Норма», на протяжении всего времени эксперимента концентрация глюкозы в крови колебалась в пределах  $4,1 \pm 1,3$  ммоль/л, тогда как у животных с длительной аллоксановой интоксикацией данный показатель значительно превышал нормальные значения и составлял примерно  $15,5 \pm 2,7$  ммоль/л.



■ Норма ■ Длительная аллоксановая интоксикация

Рис. 1. Концентрация глюкозы в крови экспериментальных животных. «Норма» – здоровые крысы; «Длительная аллоксановая интоксикация» – животные с индуцированным аллоксановым диабетом, \*  $p < 0,01$ . Здесь и на рис. 2–4, 6 используемый метод – *t*-критерий Стьюдента

Значительное повышение уровня глюкозы в крови является свидетельством успешной инициации сахарного диабета. Для оценки уровня клубочковой фильтрации мы определяли клиренс креатинина в сыворотке крови экспериментальных животных. Полученные нами результаты, которые представлены на рис. 2, показывают, что клиренс креатинина увеличился в 1,64 раза ( $3,05$  и  $1,83$  мл/мин/кг;  $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой животных, что может свидетельствовать о развитии ранней стадии диабетической нефропатии.

Выявлено, что уровень экскреции белка с мочой ко второму месяцу увеличился в 3,6 раза (с  $8,1$  до  $28,9$  мг/сут;  $p < 0,03$ ) (рис. 3). На 12-й нед эксперимента значение исследуемого показателя немного снизилось и находилось на уровне  $25,9 \pm 0,1$  мг/сут. В группе контрольных животных (крысы с инъекцией физраствора) концентрация белка в моче колебалась на уровне  $7,89$ – $8,01$  мг/сут, что соответствует физиологическим значениям.

Анализ скорости функционирования ЛДГ показал, что данный показатель вырос более чем в 6 раз в почках животных с ДН по сравнению с контрольной группой ( $2,3$  и  $14,5$  Е/г сырой массы;  $p < 0,01$ ) (рис. 4, а).

Активность ЛДГ наблюдается и в цитоплазме, и в митохондриях (рис. 4, б), что подтверждают литературные сведения о субклеточной локализации исследуемого фермента. Электрофоретические исследования, проведенные в полиакриламидном геле с последующим проявлением на лактатдегидрогеназную активность, показали наличие в клетках почек обеих групп животных четырех форм фермента с  $R_f$   $0,04$ ;  $0,18$ ;  $0,26$  и  $0,32$  (рис. 5).

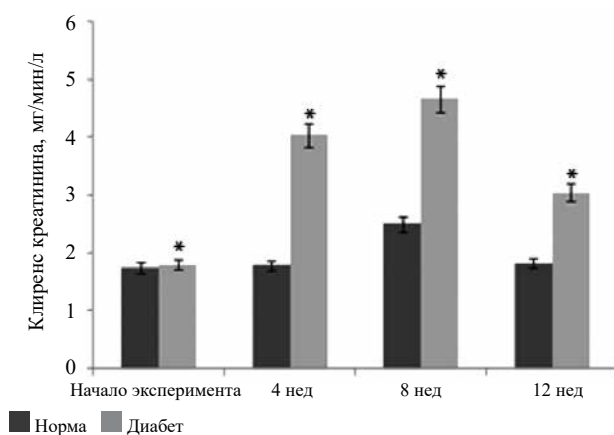


Рис. 2. Определение клиренса креатинина в сыворотке крови животных при длительной аллоксановой интоксикации. Здесь и на рис. 3, 4 «Норма» – здоровые крысы; «Диабет» – животные с аллоксановым диабетом. \*  $p < 0,05$

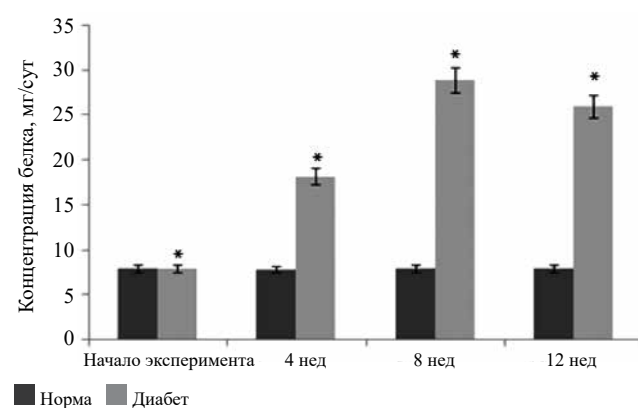


Рис. 3. Определение концентрации белка в моче у животных. \*  $p < 0,03$

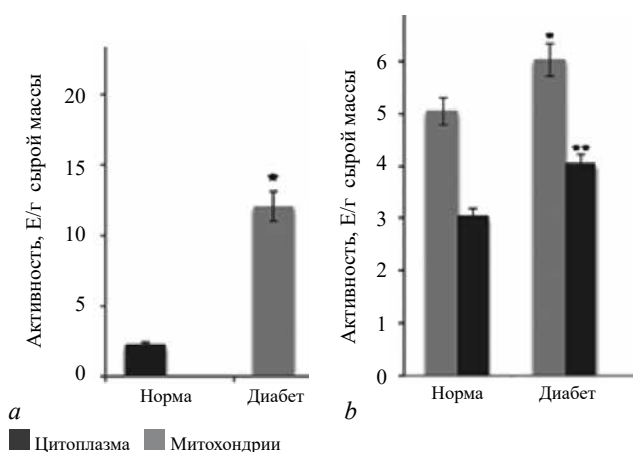


Рис. 4. Активность лактатдегидрогеназы в гомогенате (a), цитоплазме и митохондриях (b) почек крыс. \*  $p < 0,01$ ; \*\*  $p \leq 0,03$

Для того чтобы оценить скорость работы генов, кодирующих субъединицы А и В лактатдегидрогеназы, была проведена ПЦР в реальном времени. Как показывает анализ полученных нами данных (рис. 6), оба гена активно транскрибируются в почках крыс

с диабетической нефропатией, но менее активны в почках здоровых животных. Причем экспрессия гена *LDHA* при развитии данной патологии увеличилась почти в 3 раза, а экспрессия гена *LDHB* – более чем в 4 раза.

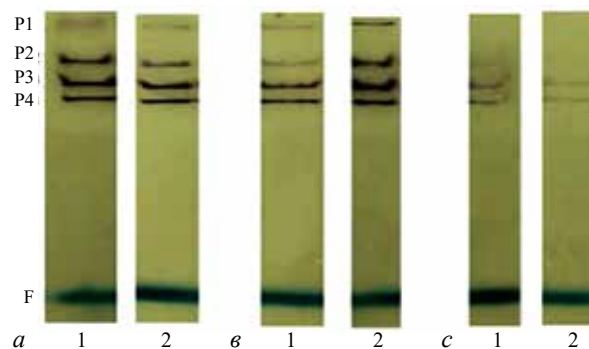


Рис. 5. Изоферментный состав лактатдегидрогеназы в клетках почек intactных крыс (1) и животных с длительной аллоксановой интоксикацией (2): a – гомогенат; б – цитоплазматическая фракция; c – митохондрии. P1–4 – белковые полосы; F – линия фронта

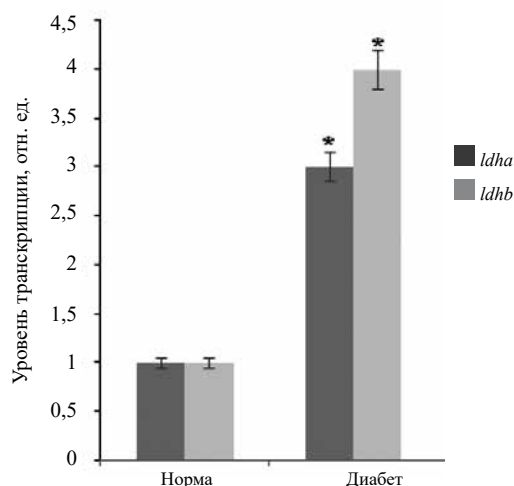


Рис. 6. Относительный уровень транскрипции генов *LDHA* и *LDHB* в почках здоровых крыс («Норма») и животных с диабетической нефропатией («Диабет»). \*  $p < 0,01$

## ОБСУЖДЕНИЕ

Из анализа результатов биохимических исследований крови и мочи здоровых крыс и животных с длительной аллоксановой интоксикацией видно, что у последних на фоне развития сахарного диабета нарушилась работа почек. Таким образом, полученные данные подтверждают развитие у экспериментальной группы крыс диабетической нефропатии.

Увеличение активности ЛДГ в почках крыс с ДН может быть связано с необходимостью утилизации лактата, поступающего в почки из крови. Известно, что при сахарном диабете 1-го типа наблюдается значительное увеличение почечного глюконеогенеза,

основным субстратом для которого является именно молочная кислота, реадсорбируемая в почечных клубочках. Данный факт также объясняет причину накопления гликогена в «диабетических почках» [15]. Активность ЛДГ наблюдается и в цитоплазме, и в митохондриях, что подтверждает литературные данные о субклеточной локализации исследуемого фермента [16].

Небольшое повышение активности ЛДГ в митохондриях крыс с аллоксановым диабетом может быть связано с потребностью клетки в дополнительной энергии для адаптации организма к окислительному стрессу, вызванному введением аллоксана. Кроме того, известно, что ускорение митохондриального окисления молочной кислоты наблюдается при интенсивном развитии нервной системы, пищевой депривации и в условиях физического перенапряжения [17]. Достоверность полученных данных была подтверждена с помощью определения перекрестного загрязнения с помощью сукцинатдегидрогеназы (митохондриальный фермент) и алкогольдегидрогеназы (цитоплазматический маркер), которое составило примерно 11–14%. Данный факт свидетельствует об успешном проведении разделения фракций.

При изучении изоферментного состава ЛДГ было обнаружено четыре изоформы фермента в клетках почек обеих групп животных. Вероятно, увеличение активности ЛДГ при диабетической нефропатии не связано с синтезом дополнительных форм фермента, а является следствием перераспределения скорости функционирования между уже имеющимися изоформами. Интересно, что в цитоплазматической фракции как интактных (здоровых) крыс, так и животных с длительной аллоксановой интоксикацией также наблюдается наличие четырех форм фермента. Тогда как в митохондриях было обнаружено только две изоформы.

Анализ уровня экспрессии генов позволил выявить взаимосвязь данного показателя ( $r_s = 1$ ) с активностью ЛДГ из клеток почек крыс в норме и при патологии. Из полученных результатов следует, что увеличение скорости функционирования лактатдегидрогеназы в почках крыс с длительной аллоксановой интоксикацией связано с усилением скорости транскрипции генов, кодирующих субъединицы А и В данного фермента.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Индукция длительной аллоксановой интоксикации позволила определить ряд биохимических нарушений (уровень экскреции белка с мочой увеличился в 3,6 раза (с 8,01 до 28,94 мг/сут;  $p < 0,03$ ), клиренс креатинина – в 1,64 раза (3,05 и 1,83 мл/мин/кг;

$p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой животных), связанных с развитием диабетической нефропатии, на фоне высокого содержания глюкозы в крови. Анализ активности ЛДГ показал, что данный показатель вырос более чем в 6 раз в почках животных с ДН по сравнению со здоровыми животными.

Это может быть связано с увеличением концентрации транскриптов генов, кодирующих субъединицы А и В данного фермента. При этом изменений изоферментного состава ЛДГ не обнаружено. Усиление работы ЛДГ, вероятно, необходимо для активизации почечного глюконеогенеза, основным субстратом для которого является именно молочная кислота, реадсорбируемая в почечных клубочках [17]. Таким образом, в ходе проведения исследования нами было выявлено увеличение скорости функционирования ЛДГ в почках крыс при ДН, что может быть связано с адаптацией их биохимического метаболизма к патологическому состоянию.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Schmidt A.M. Highlighting diabetes mellitus: the epidemic continues. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2018;38(1):e1–e8. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.310221.
- Shen Z., Fang Y., Xing T., Wang F. Diabetic nephropathy: from pathophysiology to treatment. *J. Diabetes Res.* 2017;2379432. DOI: 10.1155/2017/2379432.
- Nagib A.M., Matter Y.E., Gheith O.A., Refaie A.F., Othman N.F., Al-Otaibi T. Diabetic nephropathy following posttransplant diabetes mellitus. *Exp. Clin. Transplant.* 2019;17(2):138–146. DOI: 10.6002/ect.2018.0157.
- Silva P.H.I., Mohebbi N. Kidney metabolism and acid-base control: back to the basics. *Pflugers Arch.* 2022;474(8):919–934. DOI: 10.1007/s00424-022-02696-6.
- Clark A.J., Parikh S.M. Mitochondrial metabolism in acute kidney injury. *Semin. Nephrol.* 2020;40(2):101–113. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2020.01.002.
- Samsu N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Biomed. Res. Int.* 2021;1497449. DOI: 10.1155/2021/1497449.
- Osís G., Traylor A.M., Black L.M., Spangler D., George J.F., Zarjou A. et al. Agarwal expression of lactate dehydrogenase A and B isoforms in the mouse kidney. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2021;320(5):F706–F718. DOI: 10.1152/ajprenal.00628.2020.
- Ighodaro O.M., Adeosun A.M., Akinloye O.A. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina (Kaunas).* 2017;53(6):365–374. DOI: 10.1016/j.medic.2018.02.001.
- Djafarzadeh S., Jakob S.M. Isolation of intact mitochondria from skeletal muscle by differential centrifugation for high-resolution respirometry measurements. *J. Vis. Exp.* 2017;121:55251. DOI: 10.3791/55251.
- Епринцев А.Т., Федорин Д.Н., Селиванова Н.В. Молеку-

- лярные аспекты формирования олигомерной структуры сукцинатдегидрогеназы. Воронеж: Центрально-Черноземное кн. изд-во, 2016:263.
11. Piechota J., Jelski W., Orywal K., Mroczko B. The comparison of total bile acid concentration and alcohol dehydrogenase activity as markers of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Acta Biochim. Pol.* 2021;69(1):173–176. DOI: 10.18388/abp.2020\_5841.
12. Епринцев А.Т., Бондарева И.Р., Селиванова Н.В. Уровни экспрессии и активность изоферментов лактатдегидрогеназы печени крыс при аллоксановом диабете. *Биомедицинская химия*. 2022;68(1):33–38. DOI: 10.18097/PBMC20226801032.
13. Toni L.S., Garcia A.M., Jeffrey D.A., Jiang X., Stauffer B.L., Miyamoto Sh.D. et al. Optimization of phenol-chloroform RNA extraction. *MethodsX*. 2018;5:599–608. DOI: 10.1016/j.mex.2018.05.011.
14. Wittmeier P., Hummel S. Agarose gel electrophoresis to assess PCR product yield: comparison with spectrophotometry, fluorometry and qPCR. *Biotechniques*. 2022;72(4):155–158. DOI: 10.2144/btn-2021-0094.
15. Kume S., Araki S.I., Ugi S., Morino K., Koya D., Nishio Y. et al. Secular changes in clinical manifestations of kidney disease among Japanese adults with type 2 diabetes from 1996 to 2014. *Journal of Diabetes Investigation*. 2019;10(4):1032–1040. DOI: 10.1111/jdi.12977
16. Young A., Oldford C., Mailloux R. J. Lactate dehydrogenase supports lactate oxidation in mitochondria isolated from different mouse tissues. *Redox Biol.* 2020;28:101339. DOI: 10.1016/j.redox.2019.101339.
17. Glancy B., Kane D.A., Kavazis A.N., Goodwin M.L., Willis W.T., Gladden L.B. Mitochondrial lactate metabolism: history and implications for exercise and disease. *J. Physiol.* 202;599(3):863–888. DOI: 10.1113/JP278930.

## Информация об авторах

**Епринцев Александр Трофимович** – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой биохимии и физиологии клетки, ВГУ, г. Воронеж, bc366@bio.vsu.ru, <http://orcid.org/0009-0007-7339-7773>

**Пресняков Евгений Сергеевич** – студент 6-го курса, медико-биологический факультет, ВГУ, г. Воронеж, bc366@bio.vsu.ru

**Селиванова Наталия Владимировна** – канд. биол. наук, доцент, кафедра биохимии и физиологии клетки, ВГУ, г. Воронеж, kir2202@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7148-3415>

(✉) Селиванова Наталия Владимировна, kir2202@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.02.2023;  
одобрена после рецензирования 17.05.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК 617.51/.53-006.61:615.849.12  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-37-47>



## Исследование транскриптома плоскоклеточного рака головы и шеи после протонного облучения

**Джуманиязова Э.Д.<sup>1</sup>, Вишнякова П.А.<sup>1,2</sup>, Чиркова М.В.<sup>3</sup>, Карпулевич Е.А.<sup>3</sup>,  
Еремина И.З.<sup>1</sup>, Гордон К.Б.<sup>1,4</sup>, Каприн А.Д.<sup>1,5</sup>, Фатхудинов Т.Х.<sup>1,6</sup>**

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины Российского университета дружбы народов (НИИ МКМ РУДН)  
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии (НМИЦ АПГ) им. акад. В.И. Кулакова  
Россия, 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4

<sup>3</sup> Институт системного программирования им. В.П. Иванникова Российской академии наук (ИСП РАН)  
Россия, 109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 25

<sup>4</sup> Медицинский радиологический научный центр (МРНЦ) им. А. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии (филиал «НМИЦ радиологии»)  
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10

<sup>5</sup> Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) радиологии  
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4

<sup>6</sup> Научно-исследовательский институт морфологии человека (НИИМЧ) им. акад. А.П. Авцына  
Россия, 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, 3

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – оценить изменения транскриптома клеток ткани плоскоклеточного рака головы и шеи (ПРГШ) у пациентов после протонного облучения.

**Материалы и методы.** Биопсийный материал, полученный от трех пациентов ПРГШ до и после протонного облучения в суммарной дозе 10 изоГр, был подвергнут гомогенизации, очистке и концентрации. После чего была выделена тотальная РНК с последующей очисткой и концентрацией набором RNA Clean & Concentrator (Zymo Research), количество оценивали с помощью прибора Qubit 2.0 (Invitrogen, Life Technologies). После выделения тотальной РНК из 1 мкг для секвенирования на платформе Illumina были приготовлены библиотеки с использованием набора TruSeq RNA Sample Prep Kit v2 с этапом обогащения в 10 циклов в соответствии с рекомендациями производителя. Качество РНК и полученных библиотек проверялось с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec. Inc., США). Параметр RIN для РНК составлял не менее 7. Концентрацию библиотек оценивали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Окончательные библиотеки объединяли в эквимольных пропорциях перед секвенированием на платформе Illumina HiSeq 2500 с использованием парно-концевых прочтений по 50 оснований. Параметр Q20 для всех образцов составил более 97%, а количество прочтений в среднем равнялось 60,2 млн на образец. Сырые прочтения были обработаны с использованием RTA 1.17.21.3 и Casava 1.8.2 (Illumina). Анализ обогащения был выполнен с помощью программного обеспечения PANTHER 17.0.

**Результаты.** В ходе транскриптомного анализа ПРГШ после пятикратного облучения пациентов протонами (2 изоГр) в суммарной дозе 10 изоГр было обнаружено 1 414 значимо дифференциально экспрессированных генов. Выделены 10 наиболее и наименее экспрессируемых генов и ассоциированные с ними сигнальные пути. В ПРГШ после облучения протонами обнаружен ряд сигнальных путей, связанных с низкоэкспрес-

✉ Джуманиязова Энар Денисовна, enar2017@yandex.ru

сированными генами, таких как STAT5; сигнальный путь PD-1; отмечена MET-опосредованная активация сигнального пути PTK2, передача сигналов PDGF; CD22-опосредованная регуляция BCR; активация MAPK, опосредованная FCER1. Кроме вышеназванных сигнальных путей обращает на себя внимание активация процесса распада коллагена, FCGR3A-опосредованного фагоцитоза и FCGR3A-опосредованного синтеза интерлейкина-10 (IL10). При анализе обогащения среди высокоэкспрессируемых генов в ткани ПРГШ после протонного облучения были активированы процессы ороговения и биологического окисления.

**Заключение.** Облучение протонами при ПРГШ приводит к гиперэкспрессии генов, вовлеченных в регуляцию процессов ороговения и биологического окисления; гипоксрессии генов, связанных с подавлением сигнальных путей: STAT5, PD-1, MET-опосредованной активации сигнального пути PTK2, передачи сигналов PDGF; CD22-опосредованной регуляции BCR; активации MAPK, опосредованной FCER1, процесса распада коллагена, активации FCGR3A-опосредованного фагоцитоза и FCGR3A-опосредованного синтеза IL10. Все сигнальные пути гипоксрессированных генов функционируют в клетках ПРГШ, если негативного влияния на опухоль не оказывается извне (облучение или поступление противоопухолевых препаратов). Преобладание подавленных сигнальных путей над активированными, вероятнее всего, свидетельствует о снижении функционального потенциала клеток после облучения протонами. Дозозависимость эффектов ПТ обуславливает необходимость дальнейшего изучения изменений клеточных и молекулярно-генетических сигнатур ПРГШ после протонного облучения разными дозами.

**Ключевые слова:** плоскоклеточный рак головы и шеи, транскриптом, протонное облучение, сигнальные пути

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

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1356 от 7.10.2021 (идентификатор РФ 0951.61321X0012, № 15.СИН.21.0011)). Обсчеты выполнены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-294 от 15.04.2022).

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено независимым комитетом по этике (протокол № 634 от 17.11.2021, протокол № 684 от 02.03.2022).

**Для цитирования:** Джуманиязова Э.Д., Вишнякова П.А., Чиркова М.В., Карпулевич Е.А., Еремина И.З., Гордон К.Б., Каприн А.Д., Фатхудинов Т.Х. Исследование транскриптома плоскоклеточного рака головы и шеи после протонного облучения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):37–47. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-37-47>.

## Study of head and neck squamous cell carcinoma transcriptome after proton therapy

Jumaniyazova E.D.<sup>1</sup>, Vishnyakova P.A.<sup>1,2</sup>, Chirkova M.V.<sup>3</sup>, Karpulevich E.A.<sup>3</sup>, Eremina I.Z.<sup>1</sup>, Gordon K.B.<sup>1,4</sup>, Kaprin A.D.<sup>1,5</sup>, Fatkhudinov T.H.<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Molecular and Cellular Medicine of the Peoples' Friendship University of Russia (RUDN Research Institute of MCM)

6, Miklukho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

<sup>2</sup> National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov

4, Akademika Oparina Str., Moscow, 117997, Russian Federation

<sup>3</sup> Ivannikov Institute for System Programming of the Russian Academy of Sciences (ISP RAS)

25, Aleksandra Solzhenitsyna Str., Moscow, 109004, Russian Federation

<sup>4</sup> A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of FGBU National Medical Research Center of Radiology (a branch of FGBU National Medical Research Center of Radiology)

10, Marshala Zhukova Str., Obninsk, 249036, Russian Federation

<sup>5</sup> National Medical Research Center of Radiology (NMC Radiology of the Ministry)  
4, Koroleva Str., Obninsk, 249036, Russian Federation

<sup>6</sup> Avtsyn Research Institute of Human Morphology  
3, Tsyurupy Str., Moscow, 117418, Russian Federation

## ABSTRACT

**Aim.** To evaluate changes in the transcriptome of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) tissue cells in patients after proton therapy.

**Materials and methods.** Biopsy material obtained from 3 HNSCC patients before and after proton therapy at a total dose of 10 isoGy was homogenized, purified, and concentrated. Then total RNA was isolated with further purification and concentration with the RNA Clean & Concentrator kit (Zymo Research). Library quantitation was assessed using the Qubit 2.0 instrument (Invitrogen, Life Technologies). After isolation of 1 µg total RNA for sequencing, libraries were prepared on the Illumina platform using the TruSeq RNA Sample Prep Kit v2 with a 10-cycle enrichment step according to the manufacturer's recommendations. The quality of RNA and the resulting libraries was checked using the Agilent 2100 Bioanalyzer system (Agilent Tec. Inc., USA). The RIN parameter for RNA was at least 7. The library concentration was assessed by real-time PCR on the CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, USA). Final libraries were pooled in equimolar ratios before sequencing on the Illumina HiSeq 2500 platform using 50 base-pair paired-end reads. The Q20 parameter for all samples was > 97%, and the number of reads averaged 60.2 million per sample. Raw reads were processed using the RTA 1.17.21.3 and Casava 1.8.2 (Illumina). The enrichment analysis was performed using the PANTHER 17.0 software.

**Results.** The transcriptome analysis of HNSCC after proton radiation therapy (5 x 2 isoGy) at a total dose of 10 isoGy revealed 1,414 significantly differentially expressed genes. The 10 most and least expressed genes and their associated signaling pathways were identified. A number of signaling pathways associated with the underexpressed genes were detected in HNSCC after proton therapy, such as: STAT5; PD-1 signaling pathway; marked MET-mediated activation of PTK2 signaling pathway, PDGF signaling; CD22-mediated regulation of BCR; and FCER1-mediated MAPK activation. In addition to the above signaling pathways, activation of collagen degradation, FCGR3A-mediated phagocytosis, and FCGR3A-mediated interleukin (IL)-10 synthesis are of interest. In the enrichment analysis among highly expressed genes, keratinization and biological oxidation processes were activated in HNSCC tissues after proton therapy.

**Conclusion.** Proton therapy in HNSCC leads to overexpression of genes involved in the regulation of keratinization and biological oxidation processes as well as to underexpression of genes associated with suppression of signaling pathways: STAT5, PD-1, MET-mediated activation of PTK2 signaling pathway, PDGF signaling; CD22-mediated regulation of BCR; FCER1-mediated MAPK activation, collagen degradation, FCGR3A-mediated phagocytosis activation, and FCGR3A-mediated IL-10 synthesis. All signaling pathways of underexpressed genes function in HNSCC cells if there is no negative influence on the tumor from outside (irradiation or delivery of antitumor drugs). The predominance of suppressed signaling pathways over activated ones most likely indicates a decrease in the functional potential of cells after proton therapy. The dose-dependence of PT effects necessitates further study of changes in cellular and molecular-genetic signatures of HNSCC after proton irradiation with different doses.

**Keywords:** head and neck squamous cell carcinoma, transcriptome, proton therapy, signaling pathways

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

**Source of financing.** The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement No. 075-15-2022-294 dated April 15, 2022) and the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, agreement No. 075-15-2021-1356 dated October 7, 2021 (identifier RF 0951.61321X0012, No. 15.SIN.21.0011).

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. Before enrollment in the study, the study protocol and patient information and informed consent forms were approved by an independent Ethics Committee (Protocol No. 634 of 17.11.2021, Protocol No. 684 of 02.03.2022).

**For citation:** Jumaniyazova E.D., Vishnyakova P.A., Chirkova M.V., Karpulevich E.A., Eremina I.Z., Gordon K.B., Kaprin A.D., Fatkhudinov T.H. Study of head and neck squamous cell carcinoma transcriptome after proton therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):37–47. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-37-47>.

## ВВЕДЕНИЕ

Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) занимает 7-е место в структуре общей заболеваемости злокачественными новообразованиями, частота встречаемости которого составляет 0,7 млн новых случаев в год [1, 2]. Характерными чертами ПРГШ являются частые рецидивы и низкая 5-летняя выживаемость как при локализованной, так и при распространенной стадии заболевания (69 и 34% соответственно) [1]. Низкая выживаемость пациентов связана с поздней диагностикой, плохим ответом на различные виды лечения и высокой частотой рецидивов [2–4]. В большинстве случаев ПРГШ диагностируется на местнораспространенной стадии, для которой лучевая терапия (ЛТ) с сопутствующей радиосенсибилизирующей химиотерапией или без нее является одним из основных подходов лечения, используемым в 80% случаев [5].

Протонная терапия (ПТ) представляет собой один из наиболее перспективных видов корпускулярного облучения, внедрение которого в практику позволяет минимизировать возникновение нежелательных явлений, ассоциированных с облучением. Терапевтический эффект ПТ состоит в стойком повреждении генетического материала опухолевых клеток, ведущем к их гибели [6]. При этом цитотоксический эффект протонов обусловлен как прямым повреждением цепи ДНК опухолевых клеток, так и косвенным путем – за счет индукции образования активных форм кислорода [7] и стимуляции апоптоза (за счет активации каспазы-3 протонами) [8].

В нашем прошлом обзоре [9] мы описали биологические эффекты ПТ. Считается, что плоскоклеточный рак носоглотки является одним из основных показаний для ПТ ввиду сложной анатомии и близости расположения критических анатомических структур и органов, таких как перекрест зрительных нервов, височные доли и ствол головного мозга, мышцы-констрикторы глотки, слюнные железы [10]. В нескольких исследованиях продемонстрировали значимое снижение частоты возникновения острых постлучевых осложнений у пациентов с плоскоклеточным раком носоглотки, получающих ПТ, по сравнению с пациентами, получающих классическую ЛТ [11].

Накапливающийся клинический опыт применения протонного облучения значительно опережает фундаментальные радиобиологические исследования и способствует увеличению числа протонных центров в разных странах мира [12]. Однако ограниченные знания о молекулярно-генетических изменениях, индуцированных ПТ в опухолевых клетках,

препятствуют разработке новых терапевтических и комбинированных стратегий. Данное исследование посвящено описанию транскрипционных изменений в клетках ПРГШ после облучения протонами.

Целью нашего исследования являлась оценка изменений транскриптома клеток ткани плоскоклеточного рака головы и шеи у пациентов после протонного облучения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биопсийный материал опухолевой ткани был получен от трех пациентов с ПРГШ до и после протонного облучения СОД 10 изoГр (коэффициент относительной биологической эффективности – 1,1). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено независимым комитетом по этике (протокол № 634 от 17.11.2021, протокол № 684 от 02.03.2022). Исследование соответствует этическим стандартам, разработанным 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. Участников идентифицировали только по номеру пациента.

Облучение пациентов протонами проведено с использованием горизонтально фиксированного активного сканирующего пучка протонов в положении сидя на комплексе ПТ «Прометеус» (ЗАО «Протом», Россия). Всем пациентам ежедневно выполнялась верификация положения с использованием встроенного конусно-лучевого компьютерного томографа. Толщина срезов составляла 1 мм. Фиксацию пациента осуществляли с помощью усиленной термопластической маски и подголовников.

Обработка биоматериала выполнялась в асептических условиях с использованием стерильных инструментов. Тотальную РНК выделяли из ткани после гомогенизации с тefлоновыми бусинами в QIAzol (Qiagen) с последующей очисткой и концентрацией набором RNA Clean & Concentrator (Zymo Research), количество оценивали с помощью прибора Qubit 2.0 (Invitrogen, Life Technologies). После выделения тотальной РНК из 1 мкг для секвенирования на платформе Illumina были приготовлены библиотеки с использованием набора TruSeq RNA Sample Prep Kit v2 с этапом обогащения в 10 циклов в соответствии с рекомендациями производителя.

Качество РНК и полученных библиотек проверялось с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec. Inc.,

США). Параметр RIN для РНК составлял не менее 7. Концентрацию библиотек оценивали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Окончательные библиотеки объединяли в эквимоллярных пропорциях перед секвенированием на платформе Illumina HiSeq 2500 с использованием парно-концевых прочтений по 50 оснований. Параметр Q20 для всех образцов составил > 97%, а количество прочтений в среднем равнялось 60,2 млн на образец. Сырые прочтения были обработаны с использованием RTA 1.17.21.3 и Casava 1.8.2 (Illumina).

Для получения матриц экспрессий из fastq файлов использовался пайплайн nf-core/rnaseq версии 3.0. Пайплайн запускался с референсным геномом GRCh38, выравнивание проводилось с помощью инструмента STAR, а квантификация – с помощью Salmon. Анализ дифференциальной экспрессии проводился между опухолевыми образцами до и после облучения. Анализ дифференциальной экспрессии проведен независимо с помощью нескольких инструментов DESeq2, EBSeq, limma-voom, NOISeq и edgeR, для каждого из которых были получены таблицы с оценкой дифференциальной экспрессии. Полученные результаты сравнивались с помощью Hobotnica [13].

Hobotnica – инструмент для оценки качества инструментов вычисления дифференциальной экспрессии. Инструмент создан при использовании количественной оценки качества на концепции способности к разделению данных разных экспериментов, которые построены на основе матриц расстояний. Порогом дифференциальной экспрессируемости считались значения  $|\log_2FC| > 1$ , статистической значимости  $p < 0,05$  для DESeq2, limma-voom и edgeR,  $q > 0,9$  для NOISeq и  $|\log_2FC| > 1$ , PPDE > 0,95 для EBSeq. Для множественного сравнения для расчета  $p$  использовалась поправка Бонферрони совместно с максиминным критерием Вальда (критерий крайнего пессимизма).

По итогам сравнения DESeq2 показал лучшие результаты при сравнении опухолевых образцов до и после облучения. Анализ обогащения был выполнен с помощью программного обеспечения PANTHER 17.0. Порогом статистической значимости для включения сигнального пути в список обогащенных являлось значение  $p < 0,05$  (табл. 1).

Таблица 1

| Значение оценки качества инструмента дифференциальной экспрессии, полученной с помощью инструмента Hobotnica |                 |
|--|-----------------|
| Инструмент   | Hobotnica score |
| DESeq2   | 1               |
| EBSeq  | 0,96            |
| edgeR  | 0,5             |
| limma-voom   | 0,5             |
| NOISeq   | 0,67            |

Для установления значимости данные подвергали анализу с помощью парного критерия Стьюдента с использованием статистического пакета программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software). Критерий значимости был установлен на уровне  $p \leq 0,05$ . Для множественного сравнения использовалась поправка Бонферрони совместно с максиминным критерием Вальда (критерий крайнего пессимизма), который принято считать самым «осторожным».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе транскриптомного анализа опухолевой ткани ПРГШ после пятикратного облучения пациентов протонами (2 изоГр) в суммарной дозе 10 изоГр было обнаружено 1 414 значимо дифференциально экспрессированных генов. Нами было выделено 10 генов на основании минимальных (с наиболее пониженной экспрессией) и максимальных (с наиболее повышенной экспрессией) значений LOG2FC. Наименьшая экспрессия после протонного облучения была отмечена в следующих генах: *CLEC4E*, *IGHV2-70*, *P2RX1*, *SLC5A3*, *MYBPC1*, *RP11-551L14.1*, *FCRLA*, *FAM30A*, *IGHV2-26*, *IGHV2-5* (табл. 2).

Таблица 2

| Наиболее низкоэкспрессируемые гены в образцах биопсий ПРГШ после протонного облучения |          |        |   |  |
|---|----------|--------|---|--|
| Ген   | $p$      | LOG2FC | Расшифровка названия  | Функция  |
| <i>CLEC4E</i>   | 1,89E-06 | –5,0   | C-Type Lectin Domain Family 4 Member E – член E семейства 4 доменов лектинов C-типа | Кодирует члена суперсемейства лектинов C-типа/лектиноподобных доменов C-типа (CTL/CTLD), участвующего в клеточной адгезии, передаче сигналов между клетками, обмене гликопротеинов, в воспалении и иммунном ответе |
| <i>IGHV2-70</i>   | 8,57E-06 | –5,1   | Immunoglobulin Heavy Variable 2-70 – тяжелая переменная иммуноглобулина 2-70        | Обеспечивает антигенсвязывающую активность и активность связывания рецепторов иммуноглобулинов; участвует в активации иммунного ответа, защитной реакции на другой организм и фагоцитоз                            |

Окончание табл. 2

| Ген                  | <i>p</i> | LOG2FC | Расшифровка названия   | Функция  |
|----------------------|----------|--------|--|--|
| <i>P2RX1</i>         | 3,99E-05 | -5,2   | Purinergic Receptor P2X 1 – пуринергический рецептор P2X 1   | Белок, кодируемый этим геном, принадлежит к семейству P2X-рецепторов, связанных с G-белком. Функционирует как АТФ-управляемый ионный канал и обеспечивает быструю и селективную проницаемость для катионов |
| <i>SLC5A3</i>        | 2,37E-05 | -5,2   | Solute Carrier Family 5 Member 3 – семейство переносчиков растворителей 5 член 3                       | Участвует в метаболическом процессе инозитола; транс-мембранном транспорте моносахаридов; импорте миоинозитола через плазматическую мембрану   |
| <i>MYBPC1</i>        | 0,000185 | -5,2   | Myosin Binding Protein C1 – миозинсвязывающий белок C1   | Участие в сокращении поперечно-полосатой мускулатуры   |
| <i>RP11-551L14,1</i> | 0,011218 | -5,3   | Нет данных   | Нет данных   |
| <i>FCRLA</i>         | 0,000857 | -5,3   | Fc Receptor Like A – рецептор Fc, подобный A   | Участвует в гуморальном иммунитете: разрушение покрытых IgG антигенов и клеток, индуцированное антителами  |
| <i>FAM30A</i>        | 0,000853 | -5,3   | Family With Sequence Similarity 30 Member A – семейство со сходством последовательностей, член A из 30 | Точная функция неясна, однако его активацию связывают с раковыми заболеваниями   |
| <i>IGHV2-26</i>      | 0,002372 | -5,4   | Immunoglobulin Heavy Variable 2-26 – тяжелая переменная иммуноглобулина 2-26                           | Принимает участие в активации иммунного ответа; защитной реакции на другой организм; фагоцитоза  |
| <i>IGHV2-5</i>       | 0,018504 | -5,4   | Immunoglobulin Heavy Variable 2-5 – тяжелая переменная иммуноглобулина 2-5                             | Обеспечивает антигенсвязывающую активность и активность связывания рецепторов иммуноглобулинов. Активирует иммунного ответа; защитная реакция на другой организм; фагоцитоз                                |

Наибольшая экспрессия в образцах биопсий ПРГШ после протонного облучения была отмечена в генах *PIK3R2*; *CTD-3074O7,11*; *GOLGA6L9*; *GP1BB*; *NPIPA2*; *RP11-96O20,4*; *AC008132,13*; *SNX31*; *RP1-127D3,4*; *RPL21P119* (табл. 3).

Для определения принадлежности значимо высоко- и низкоэкспрессированных генов к тем или иным сигнальным путям был проведен анализ обогащения для каждой из этих групп генов по отдельности. В образцах опухолевой ткани после протонного облучения по сравнению с опухолевой тканью до протонного облучения среди низкоэкспрессируемых генов изменения были отмечены в сигнальных путях, представленных в табл. 4. В ПРГШ после облучения

протонами был обнаружен ряд сигнальных путей, связанных с низкоэкспрессированными генами, таких как STAT5; сигнальный путь PD-1; отмечена MET-опосредованная активация сигнального пути PTK2, передача сигналов PDGF; CD22-опосредованная регуляция BCR; активация MAPK, опосредованная FCER1. Кроме вышеназванных сигнальных путей обращает на себя внимание процесс распада коллагена, активация FCGR3A-опосредованного фагоцитоза и FCGR3A-опосредованного синтеза IL10 (табл. 4).

При анализе обогащения среди высокоэкспрессируемых генов в ткани ПРГШ после протонного облучения были активированы процессы ороговения и биологического окисления (табл. 5).

Таблица 3

| Наиболее высокоэкспрессируемые гены в образцах биопсий ПРГШ после протонного облучения |             |        |  |   |
|--|-------------|--------|--|---|
| Ген  | <i>p</i>    | LOG2FC | Расшифровка названия   | Функция   |
| <i>PIK3R2</i>  | 0,001165114 | 4,9    | Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 2 – регуляторная субъединица 2 фосфоинозитид-3-киназы                           | Фосфорилирует фосфатидилинозитол и подобные соединения, создавая вторичные мессенджеры, важные в сигнальных путях роста |
| <i>CTD-3074O7,11</i>   | 2,72E-06    | 4,6    | Нет данных   | Принимает участие в развитии глаз, конечностей, сердца и репродуктивной системы   |
| <i>GOLGA6L9</i>  | 1,59E-07    | 4,5    | Gene – Golgin A6 Family Like 9 – семейство голгина A6 подобное 9   | Нет данных  |
| <i>GP1BB</i>   | 4,01E-10    | 4,3    | Glycoprotein Ib Platelet Subunit Beta – гликопротеин Ib тромбоцитарная субъединица бета                                      | Опосредует адгезию тромбоцитов  |
| <i>NPIPA2</i>  | 8,65E-10    | 4,0    | Nuclear Pore Complex Interacting Protein Family Member A2 – ядерный комплекс пор, член семейства взаимодействующих белков A2 | Участвует в транспорте мРНК и транспорте белков   |

| Ген                 | <i>p</i> | LOG2FC | Расшифровка названия  | Функция  |
|---------------------|----------|--------|---|--|
| <i>RP11-96O20,4</i> | 3,93E-11 | 3,8    | Нет данных  | Нет данных                                     |
| <i>AC008132,13</i>  | 1,07E-11 | 3,6    | Нет данных  | Нет данных                                     |
| <i>SNX31</i>        | 7,48E-13 | 3,4    | Sorting Nexin 31 – сортировка Нексина 31                                      | Участвует во внутриклеточном транспорте белков |
| <i>RPI-127D3,4</i>  | 7,48E-13 | 3,4    | Нет данных  | Нет данных                                     |
| <i>RPL21P119</i>    | 4,15E-12 | 3,4    | Ribosomal Protein L21 Pseudogene 119 – рибосомальный белок L21, псевдоген 119 | Псевдоген                                      |

Таблица 4

| Сигнальные пути ПРГШ, ассоциированные с низкоэкспрессированными генами, после протонного облучения |   |   |                      |          |  |
|--|---|---|----------------------|----------|--|
| Reactome pathways  | Кол-во генов из референс-списка базы данных | Количество генов, связанных с данным сигнальным путем в представленных образцах | Обогащение кратности | <i>p</i> | Вероятность ложноположительных результатов |
| Активация STAT5<br>R-HSA-9702518.2   | 10  | 4   | 15,63                | 3.15E-04 | 1.60E-02                                   |
| Сигнальный путь PD-1<br>R-HSA-389948.3   | 29  | 7   | 9,43                 | 2.58E-05 | 2.22E-03                                   |
| Распад коллагена<br>R-HSA-1442490.4  | 64  | 14  | 8,55                 | 7.25E-09 | 6.03E-06                                   |
| МЕТ-опосредованная активация сигнального пути PTK2<br>R-HSA-8874081.2                              | 30  | 6   | 7,81                 | 2.42E-04 | 1.31E-02                                   |
| Передача сигналов PDGF<br>R-HSA-186797.5   | 54  | 8   | 5,79                 | 1.48E-04 | 9.44E-03                                   |
| Сигнальный путь AKT1 E17K при раке<br>R-HSA-5674400.2  | 26  | 5   | 7,51                 | 9.44E-04 | 4.13E-02                                   |
| CD22-опосредованная регуляция BCR<br>R-HSA-5690714.3   | 67  | 9   | 5,25                 | 1.13E-04 | 7.43E-03                                   |
| Сигналинг интерферона гамма<br>R-HSA-877300.6  | 91  | 12  | 5.15                 | 1.00E-05 | 1.09E-03                                   |
| Активация MAPK, опосредованная FCER1<br>R-HSA-2871796.3  | 89  | 11  | 4,83                 | 4.03E-05 | 3.14E-03                                   |
| FCGR3A-опосредованный синтез IL10<br>R-HSA-9664323.2   | 100   | 12  | 4,69                 | 2.37E-05 | 2.11E-03                                   |

Примечание. Обогащение кратности определяется как процент генов в представленных образцах, принадлежащих к указанному пути, по сравнению с фоновой популяцией генов (здесь и в табл. 5).

Таблица 5

| Активированные сигнальные пути ПРГШ, связанные с высокоэкспрессированными генами, после протонного облучения |   |   |                      |          |  |
|--|---|---|----------------------|----------|--|
| Reactome pathways  | Кол-во генов из референс-списка базы данных | Количество генов, связанных с данным сигнальным путем в представленных образцах | Обогащение кратности | <i>p</i> | Вероятность ложноположительных результатов |
| Формирование ороговевающей оболочки<br>R-HSA-6809371.5   | 129   | 14  | 6,96                 | 4.57E-08 | 1.14E-04                                   |
| Биологическое окисление<br>R-HSA-211859.3  | 220   | 15  | 4,37                 | 3.83E-06 | 4.77E-03                                   |

Полученные данные в ходе данной исследовательской работы являются уникальными в своем роде, поскольку в литературных источниках информация об изменениях на уровне транскриптома, индуцированных ПТ, ограничена. Это связано, во-первых, со сложностью сбора биопсий пациентов, так как для такого анализа необходимо собрать материал до ПТ и после облучения с целью выявления значимо измененных сигнатур. Во-вторых, не во всех центрах имеется необходимое дорогостоящее оборудование для проведения ПТ, зачастую клиницисты ограничиваются назначением классической фотонной ЛТ. В-третьих, сам транскрипционный анализ и биоинформатическая обработка данных довольно сложны, требуют высокой квалификации специалистов.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Транскриптом – динамически изменяющаяся под действием различных факторов система. В качестве прецизионного онкологического исследования транскрипционный анализ начал применяться сравнительно недавно [14, 15]. В литературных источниках отсутствуют данные, описывающие изменения на уровне транскриптома ПРГШ, вызванные протонным облучением. На наш взгляд, понимание транскрипционной гетерогенности ПРГШ способствует разработке диагностических и прогностических биомаркеров, которые позволят осуществлять подбор терапии персонализировано, что приведет к увеличению положительных ответов на противоопухолевую терапию и улучшит исходы/увеличит число положительных ответов на лечение.

Ключевая роль активации преобразователей сигналов и активаторов транскрипции 5 (STAT5) обнаружена при многих злокачественных образованиях. В большинстве случаев STAT5 усиливает рост клеток плоского эпителия, увеличивает миграцию и инвазию клеток плоскоклеточного рака, вызывает фенотипические и молекулярные изменения, связанные с эпителиально-мезенхимальным переходом [16]. При ПРГШ активация STAT5 коррелирует с усилением роста опухоли, инвазией и эпителиально-мезенхимальным переходом [17]. После протонного облучения ПРГШ отмечено подавление STAT5.

Нерецепторная протеинтирозинкиназа 2 (PTK2), также известная как киназа фокальной адгезии (FAK), является многофункциональным регулятором клеточного сигнала между опухолевыми клетками и микроокружением опухоли. Активированная PTK2 участвует в регуляции ряда клеточных функций: адгезии, пролиферации и миграции [18, 19]. Протеомный анализ показал, что гиперэкспрессия PTK2/FAK является биомаркером радиорезистент-

ности ПРГШ. Комбинации ингибирования PTK2/FAK с ЛТ в настоящее время изучаются в качестве терапевтической стратегии для улучшения местного контроля при ВПЧ-негативном ПРГШ [20].

Активация сигнального пути PD-1/PD-L1 ассоциирована с индукцией и поддержанием иммунной толерантности в опухолевой ткани, путем подавления эффекторных функций Т-клеток [21]. Уровни экспрессии PD-L1 при ПРГШ в значительной степени коррелируют с выраженным клиническим прогрессированием и плохой выживаемостью пациентов [22]. Активность PD-1 и его лигандов PD-L1 или PD-L2 отвечает за активацию, пролиферацию и цитотоксическую секрецию Т-лимфоцитов [23]. В ходе нашего транскриптомного анализа выявлено подавление данного сигнального пути.

Синтез интерлейкина 10 (IL-10) в опухолевой ткани ПРГШ также был снижен после облучения протонами. В процессе канцерогенеза IL-10 функционирует и как проонкогенный цитокин, ингибируя противоопухолевый иммунитет, и в качестве противоопухолевого цитокина, выполняя антиангиальную роль [24]. Важно отметить, что он участвует в контроле пролиферации и инвазии опухолевых клеток через сигнальный путь JAK/STAT [25, 26].

Сигнальный путь PDGF/PDGFR играет одну из ключевых ролей в прогрессировании опухолей [27]. Гиперэкспрессия PDGF способствует росту опухолевых клеток [28] и индуцирует ангиогенез [29], воздействуя на клетки микроокружения опухоли, тем самым провоцируя прогрессирование опухоли. Кроме этого, имеются сведения о том, что повышенная активность PDGF в опухоли сопряжена с резистентностью к лекарственному лечению, вызванной нарушением капиллярного кровотока в опухоли из-за повышения давления интерстициальной жидкости [30]. В данном исследовании облучение протонами вызвало подавление сигнального пути PDGF в ПРГШ.

Сигнальный путь митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) является ключевым посредником, объединяющим внеклеточные сигналы для контроля клеточной пролиферации, выживания, дифференцировки, старения, а также лекарственной устойчивости [31]. Для пациентов ПРГШ с высокой внутриопухолевой экспрессией p-MAPK1/3 (p-ERK1/2) характерна худшая выживаемость [32]. Считают, что измененная киназная сигнальная сеть, включающая EGFR, PDGFR, PAK1, PTK2 (FAK) и MAP2K2, по-видимому, регулирует aberrантные изменения в опухолевой ткани, сопровождающие рецидив [33].

Выявление изменений ПРГШ после ПТ на транскриптомном уровне позволит разделить пациентов

на группы с разным прогнозом заболевания и ответом на лечение. Так, например, общая выживаемость пациентов с ПРГШ зависит от активности процесса кератинизации, особенно у пациентов с ПРГШ неассоциированного с вирусом папилломы человека. Активация процесса кератинизации в ПРГШ связана с неблагоприятным прогнозом и меньшей общей выживаемостью пациентов [34].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, облучение протонами при ПРГШ приводит к гиперэкспрессии генов, вовлеченных в регуляцию процессов ороговения и биологического окисления; гипоекспрессии генов, связанных с подавлением сигнальных путей: STAT5, PD-1, MET-опосредованной активации сигнального пути PTK2, передачи сигналов PDGF; CD22-опосредованной регуляции BCR; активации MAPK, опосредованной FCER1, процесса распада коллагена, активации FCGR3A-опосредованного фагоцитоза и FCGR3A-опосредованного синтеза IL10.

Обобщая полученные результаты в ходе транскриптомного исследования ПРГШ после протонного облучения в суммарной дозе 10 изoГр, обращает на себя внимание преобладающее количество подавленных сигнальных путей над активированными. При этом часть из обнаруженных сигнальных путей соответствует данным, описанным в литературных источниках, а часть путей, изменившихся в ходе исследования, отличается от имеющихся данных. Все сигнальные пути гипоекспрессированных генов функционируют в клетках ПРГШ, если негативного влияния на опухоль не оказывается извне (облучение или поступление противоопухолевых препаратов). Преобладание подавленных сигнальных путей над активированными, вероятнее всего, свидетельствует о снижении функционального потенциала клеток после облучения протонами. Дозозависимость эффектов ПТ обуславливает необходимость дальнейшего изучения изменений клеточных и молекулярно-генетических сигнатур ПРГШ после протонного облучения разными дозами.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*. 2021;71(3):209–249. DOI: 10.3322/caac.21660.
2. Bhat G.R., Hyole R.G., Li J. Head and neck cancer: Current challenges and future perspectives. *In Advances in Cancer Research*. 2021;152(1):67–102. DOI: 10.1016/bs.acr.2021.05.002.
3. Johnson D.E., Burtneis B., Leemans C.R., Lui W.Y., Bauman J.E., Grandis J.R. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*. 2020;6(1):92–112. DOI: 10.1038/s41572-020-00224-3.
4. Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V. et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2095–2128. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
5. Borrás J.M., Barton M., Grau C., Corral J., Verhoeven R., Lemmens V. et al. The impact of cancer incidence and stage on optimal utilization of radiotherapy: Methodology of a population based analysis by the ESTRO-HERO project. *Radiotherapy and Oncology*. 2015;116(1):45–50. DOI: 10.1016/j.radonc.2015.04.021.
6. Vitti E.T., Parsons J.L. The radiobiological effects of proton beam therapy: Impact on DNA damage and repair. *Cancers*. 2019;11(7):1–15. DOI: 10.3390/cancers11070946.
7. Răileanu M., Straticiuc M., Iancu D.A., Andrei R.F. Proton irradiation induced reactive oxygen species promote morphological and functional changes in HepG2 cells. *Journal of Structural Biology*. 2022;214(4):1–11. DOI: 10.1016/j.jsb.2022.107919.
8. Alan Mitteer R., Wang Y., Shah J., Gordon S., Fager M., Butter P.P. et al. Proton beam radiation induces DNA damage and cell apoptosis in glioma stem cells through reactive oxygen species. *Scientific Reports*. 2015;5(1):1–12. DOI: 10.1038/srep13961.
9. Jumaniyazova E.D., Smyk D.I., Vishnyakova P.A., Fatkhudinov T.Kh., Gordon K.B. Photon- and proton-mediated biological effects: what has been learned? *Life*. 2022;3(1):30–46. DOI: 10.3390/life13010030.
10. Nuyts S., Bollen H., Ng S.P., Corry J., Eisbruch A., Mendenhall W.M. et al. Proton therapy for squamous cell carcinoma of the head and neck: early clinical experience and current challenges. *Cancers*. 2022;14(11):1–18. DOI: 10.3390/cancers14112587.
11. Holliday E.B., Garden A.S., Rosenthal D.I., Fuller C.D., Morrison W.H., Gunn G.B. et al. Proton therapy reduces treatment-related toxicities for patients with nasopharyngeal cancer: a case-match control study of intensity-modulated proton therapy and intensity-modulated photon therapy. *International Journal of Particle Therapy*. 2015;2(1):19–28. DOI: 10.14338/IJPT-15-00011.1.
12. Tian X., Liu K., Hou Y., Cheng J., Zhang J. The evolution of proton beam therapy: Current and future status. *Molecular and Clinical Oncology*. 2018;8(1):15–21. DOI: 10.3892/mco.2017.1499.
13. Stupnikov A., Szykh A., Budkina A., Szykh A., Budkina A., Favorov A. et al. Hobotnica: exploring molecular signature quality [version 2; peer review: 2 approved]. *F1000Research*. 2022;10:1260. DOI: 10.12688/f1000research.74846.2.
14. Rodon J., Soria J.C., Berger R., Miller W.H., Rubin E., Kugel A. et al. Genomic and transcriptomic profiling expands precision cancer medicine: the WINTHER trial. *Nature Medicine*. 2019;25(5):751–758. DOI: 10.1038/s41591-019-0424-4.
15. Worst B.C., van Tilburg C.M., Balasubramanian G.P., Fiesel P., Witt R., Freitag A. et al. S. Next-generation person-

- alised medicine for high-risk paediatric cancer patients—The INFORM pilot study. *European Journal of Cancer*. 2016;65(1):91–101. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.06.009.
16. Choi S., Myers J.N. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *Journal of Dental Research*. 2008;87(1):14–32. DOI: 10.1177/154405910808700104.
17. Koppikar P., Lui V.W.Y., Man D., Xi S., Chai R.L., Nelson E. et al. Constitutive activation of STAT5 contributes to tumor growth, epithelial-mesenchymal transition, and resistance to EGFR targeting. *Clinical Cancer Research*. 2008;14(23):7682–7690. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1328.
18. Zhou J., Yi Q., Tang, L. The roles of nuclear focal adhesion kinase (FAK) on Cancer: a focused review. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2019;38(1):1–11. DOI: 10.1186/s13046-019-1265-1.
19. Zhang Z., Li J., Jiao S., Han G., Zhu J., Liu T. Functional and clinical characteristics of focal adhesion kinases in cancer progression. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10(1):1040311–1040335. DOI: 10.3389/fcell.2022.1040311.
20. Skinner H.D., Giri U., Yang L., Woo S.H., Story M.D., Pickering C.R. et al. Proteomic profiling identifies PTK2/FAK as a driver of radioresistance in HPV-negative head and neck cancer. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(18):4643–4650. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2785.
21. Chen L., Han X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *The Journal of Clinical Investigation*. 2015;125(9):3384–3391. DOI: 10.1172/JCI80011.
22. Cui P., Jing P., Liu X., Xu W. Prognostic significance of PD-L1 expression and its tumor-intrinsic functions in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Management and Research*. 2020;1:5893–5902. DOI: 10.2147/CMAR.S257299.
23. Han Y., Liu D., Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *American Journal of Cancer Research*. 2020;10(3):727–742.
24. Howell W.M., Rose-Zerilli M.J. Cytokine gene polymorphisms, cancer susceptibility, and prognosis. *The Journal of Nutrition*. 2007;137(1):194S–199S. DOI: 10.1093/jn/137.1.194S.
25. Jiang Y. IL10 receptor is a novel therapeutic target in DLBCLs. *Leukemia*. 2015;29(8):1684–1694. DOI: 10.1038/leu.2015.57.
26. Han Y., Ding Z., Chen B., Liu Y., Liu Y. A novel inflammatory response-related gene signature improves high-risk survival prediction in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Frontiers in Genetics*. 2022;13(1):1–15. DOI: 10.3389/fgene.2022.767166.
27. Heldin C.H. Targeting the PDGF signaling pathway in tumor treatment. *Cell Communication and Signaling*. 2013;11:1–18. DOI: 10.1186/1478-811X-11-97.
28. Pietras K., Sjöblom T., Rubin K., Heldin C.H., Östman A. PDGF receptors as cancer drug targets. *Cancer Cell*. 2003;3(5):439–443. DOI: 10.1016/s1535-6108(03)00089-8.
29. Lindahl P., Johansson B.R., Leveen P., Betsholtz C. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science*. 1997;277(5323):242–245. DOI: 10.1126/science.277.5323.242.
30. Heldin C.H., Rubin K., Pietras K., Östman A. High interstitial fluid pressure—an obstacle in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 2004;4(10):806–813. DOI: 10.1038/nrc1456.
31. Braicu C., Buse M., Busuioc C., Drula R., Gulei D., Raduly L. et al. A comprehensive review on MAPK: a promising therapeutic target in cancer. *Cancers*. 2019;11(10):1–25. DOI: 10.3390/cancers11101618.
32. Theocharis S., Kotta-Loizou I., Kljanić J., Giaginis C., Alexandrou P., Rodriguez J. et al. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) expression and activation in mobile tongue squamous cell carcinoma: associations with clinicopathological parameters and patients survival. *Tumor Biology*. 2014;35:6455–6465. DOI: 10.1007/s13277-014-1853-9.
33. Kaneko T., Zeng P.Y., Liu X., Abdo R., Barrett J.W., Zhang Q. et al. Proteome and phosphoproteome signatures of recurrence for HPV+ head and neck squamous cell carcinoma. *Communications Medicine*. 2022;2(1):95–110. DOI: 10.1038/s43856-022-00159-8.
34. Cooper T., Biron V.L., Adam B., Klimowicz A.C., Puttagunta L., Seikaly H. Association of keratinization with 5-year disease-specific survival in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;141(3):250–256. DOI: 10.1001/jamaoto.2014.3335.

## Вклад авторов

Джуманиязова Э.Д. – анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Вишнякова П.А. – разработка концепции и дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Чиркова М.В., Карпулевич Е.А. – биоинформатический анализ полученных результатов. Еремина И.З., Каприн А.Д. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Гордон К.Б. – поставка биологического материала, проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Фатхудинов Т.Х. – разработка концепции и дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Информация об авторах

Джуманиязова Энар Денисовна – ассистент, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Медицинский институт, стажер-исследователь, лаборатория молекулярной патофизиологии клетки, НИИ МКМ РУДН, г. Москва, enar2017@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8226-0433>

**Вишнякова Полина Александровна** – канд. биол. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Медицинский институт, РУДН; зав. лабораторией регенеративной медицины, НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова; зав. лабораторией молекулярной патофизиологии клетки, НИИ МКМ РУДН, г. Москва, Россия, p\_vishnyakova@oparina4.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8650-8240>

**Чиркова Мирослава Васильевна** – лаборант, ИСП РАН, г. Москва, mirachirkova@ispras.ru, <http://orcid.org/0009-0008-3659-0360>

**Карпулевич Евгений Андреевич** – науч. сотрудник, ИСП РАН, г. Москва, karpulevich@ispras.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6771-2163>

**Еремина Ирина Здиславовна** – канд. биол. наук, доцент, зав. учебной частью, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, eremina\_iz@rudn.university, <http://orcid.org/0000-0002-5093-6232>

**Гордон Константин Борисович** – канд. мед. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Медицинский институт, РУДН, врач-радиотерапевт, науч. сотрудник, отделение протонной и фотонной терапии, МРНЦ им. А. Цыба, г. Москва, Россия, drgordonkb@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2759-297X>

**Каприн Андрей Дмитриевич** – д-р мед. наук, академик РАН, зав. кафедрой онкологии и рентгенодиагностики им. акад. РАН В.П. Харченко, Медицинский институт, РУДН; генеральный директор «НМИЦ радиологии», г. Москва, karpin-ad@rudn.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

**Фатхудинов Тимур Хайсамудинович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, зам. директора по научной работе, Медицинский институт РУДН; зам. директора НИИМЧ им. академика А.П. Авцына; директор НИИ МКМ РУДН, г. Москва, tfat@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6498-5764>

(✉) **Джуманиязова Энар Денисовна**, enar2017@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.09.2023;  
одобрена после рецензирования 27.10.2023;  
принята к публикации 16.11.2023

УДК 616.379-008.64:613.65:577.125]-092.9  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-48-55>



## Окислительное фосфорилирование в ткани бурого жира у мышей с моделью сахарного диабета II типа после принудительных беговых нагрузок

Захарова А.Н.<sup>1</sup>, Милованова К.Г.<sup>1</sup>, Орлова А.А.<sup>1</sup>, Коллантай О.В.<sup>1</sup>, Шувалов И.Ю.<sup>1</sup>, Капилевич Л.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)*  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

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

### РЕЗЮМЕ

**Цель:** изучить влияние принудительных физических нагрузок на содержание и показатели окислительного фосфорилирования в ткани бурого жира у мышей с моделью сахарного диабета (СД) II типа.

**Материалы и методы.** Для формирования модели заболевания использовалась высокожировая диета, физические нагрузки в виде принудительного бега проводились в течение 4 нед. Содержание ферментов окислительного фосфорилирования в бурой жировой ткани определялось методом вестерн-блоттинга.

**Результаты.** Формирование диабетических расстройств у экспериментальных животных сопровождается возрастанием количества как белой, так и бурой жировой ткани. Однако в бурой жировой ткани при этом снижается содержание всех компонентов системы окислительного фосфорилирования. По-видимому, при формировании модели СД II типа у мышей происходит снижение «энергетической эффективности» бурой жировой ткани, что частично компенсируется увеличением ее содержания в организме.

Регулярные физические нагрузки у мышей с моделью СД II типа, в отличие от здоровых животных, способствуют снижению содержания бурой жировой ткани. В то же время при этом в буром жире возрастает содержание большинства компонентов системы окислительного фосфорилирования, в некоторых случаях – даже выше исходных значений. Последнее характерно для нагрузок, применяемым в переменном режиме – когда время выполнения нагрузок периодически изменяется.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют предположить, что метаболические перестройки бурой жировой ткани могут служить одним из механизмов профилактических и проекторных эффектов физических нагрузок при сахарном диабете второго типа.

**Ключевые слова:** бурый жир, беговая нагрузка, сахарный диабет, ожирение

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

**Источник финансирования.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 19-15-00118, <https://rscf.ru/project/19-15-00118-p>).

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено комитетом по биоэтике Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета (протокол № 32 от 02.12.2019).

**Для цитирования:** Захарова А.Н., Милованова К.Г., Орлова А.А., Коллантай О.В., Шувалов И.Ю., Капилевич Л.В. Окислительное фосфорилирование в ткани бурого жира у мышей с моделью сахарного диабета

## Oxidative phosphorylation in brown adipose tissue in a type II diabetes mellitus mouse model after forced treadmill running

Zakharova A.N.<sup>1</sup>, Milovanova K.G.<sup>1</sup>, Orlova A.A.<sup>1</sup>, Kollantay O.V.<sup>1</sup>, Shuvalov I.Yu.<sup>1</sup>, Kapilevich L.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> National Research Tomsk State University  
36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

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

### ABSTRACT

**Aim.** To study the effect of forced exercises on the content and parameters of oxidative phosphorylation in brown adipose tissue of mice with type II diabetes mellitus.

**Materials and methods.** To model the disease, we used a high-fat diet and physical exercises in the form of forced treadmill running for 4 weeks. The content of oxidative phosphorylation enzymes in brown adipose tissue was determined by Western blotting.

**Results.** Modeling diabetes in experimental animals was accompanied by expansion of adipose tissue. However, in brown adipose tissue, the content of all oxidative phosphorylation components decreases. Apparently, during type II diabetes mellitus modeling in mice, there is a decrease in the “energy efficiency” in brown adipose tissue, which is partially offset by an increase in its content in the body.

Regular physical activity in mice with type II diabetes mellitus, in contrast to healthy animals, contributes to a decrease in the content of brown adipose tissue. At the same time, the content of most oxidative phosphorylation components in brown adipose tissue increases, in some cases it even exceeds the baseline values. The latter is typical of a variable load mode – when the execution time of exercises periodically changes.

**Conclusion.** The obtained results suggest that metabolic rearrangements in brown adipose tissue may serve as some of the mechanisms of preventive and projective effects of physical activity in type 2 diabetes mellitus.

**Keywords:** brown fat, running load, diabetes, 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 supported by the Russian Science Foundation grant (No. 19-15-00118, <https://rscf.ru/project/19-15-00118-p>).

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the Bioethics Committee at the Biology Institute of National Research Tomsk State University (Protocol No. 32 of 02.12.2019).

**For citation:** Zakharova A.N., Milovanova K.G., Orlova A.A., Kollantay O.V., Shuvalov I.Yu., Kapilevich L.V. Oxidative phosphorylation in brown adipose tissue in a type II diabetes mellitus mouse model after forced treadmill running. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):48–55. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-48-55>.

## ВВЕДЕНИЕ

Бурый жир (он же термогенный жир) – тип жировой ткани, основной функцией которой является термогенез [1, 2]. Бурая жировая ткань способна рас-

ходовать энергию, в отличие от белого жира, который ее накапливает. Вследствие этого бурая жировая ткань оказывает регулирующее влияние на метаболизм и может участвовать в контроле уровня глюкозы в крови [3].

У пациентов с сахарным диабетом II (СД II) типа может наблюдаться недостаток бурого жира, что может приводить к ухудшению управления уровнем глюкозы и повышению риска развития осложнений. Некоторые исследования показывают, что стимулирование накопления бурого жира может улучшить управление уровнем глюкозы и снизить риск развития диабетических осложнений [4]. Способы стимуляции роста бурой жировой ткани могут включать физическую активность, потребление некоторых продуктов, а также использование лекарственных препаратов [5].

Физические нагрузки разной интенсивности приводят к запуску большого количества биохимических, молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов, лежащих в основе адаптационных реакций организма на физиологический стресс [6, 7]. В частности, показано, что физические нагрузки оказывают положительное воздействие при метаболических нарушениях [7, 8]. Эксперименты с животными доказали, что физическая нагрузка повышает чувствительность к инсулину и улучшает толерантность к глюкозе, вызванную диетой с высоким содержанием жира, не только у самих животных, но и у их потомков [9]. Также показано, что циркадные ритмы влияют на эффект от физических упражнений. Поглощение глюкозы мышцами и толерантность к инсулину также имеют циркадный характер, и физические тренировки не влияют на циркадную ритмичность данных показателей [10].

В связи с вышеизложенным целью нашего исследования было изучить влияние принудительных физических нагрузок на содержание и показатели окислительного фосфорилирования в ткани бурого жира у мышей с моделью СД II типа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали самцов мышей линии C57bl/6. Мыши были получены из вивария Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга. Возраст мышей к началу эксперимента – 32 нед. Режим содержания животных: день/ночь: 12/12 ч, начало светового дня в 6.00, свободный доступ к пище и воде, температура в помещении 24 °С.

Исследование проведено в соответствии с принципами Базельской декларации и одобрено комиссией по биоэтике Биологического института Томского государственного университета (протокол № 32 от 2.12.2019). Исследование выполнено с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах

Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Эксперимент длился 16 нед. До 12-й нед мышей делили на две подгруппы:

- животные на жировой диете, 28 мышей;
- животные, получавшие стандартный рацион, 28 мышей.

Для формирования модели типа СД II использовалась высокожировая диета в течение 12 нед, разработанная специально для данного эксперимента. Состав и энергетическая ценность корма подробно описаны в нашей предыдущей работе [11].

Начиная с 12-й нед, каждая группа животных была разделена на две подгруппы: подвергавшиеся (основная, 21 животное) и не подвергавшиеся (контроль, 7 животных) форсированным беговым нагрузкам.

Подгруппы мышей основной группы подвергались беговой нагрузке в разное время суток:

Группа А – подвергавшиеся беговой нагрузке в светлое время суток (с 8.00 до 10.00 ч), 7 животных;

Группа Б – подвергавшиеся беговой нагрузке в темное время суток (с 19.00 до 21.00), 7 животных;

Группа С – время форсированной беговой нагрузки чередовалось (посменный режим тренировок): первая и третья недели в темное время суток (с 19.00 до 21.00), вторая и четвертая недели – в дневное время (с 8.00 до 10.00), 7 животных.

Для нормализации физической нагрузки использовали беговую дорожку для мышей BMELAB SID-TM10 [12].

Форсированные беговые нагрузки проводились в течение 4 нед 6 раз в неделю. Продолжительность нагрузки постепенно увеличивалась в течение первых 6 дней с 10 до 60 мин (увеличение на 10 мин в день) и более не менялась в течение последующих 3 нед. Каждую неделю меняли угол подъема беговой дорожки (от 0 до 10°) и скорость ее вращения (от 15 до 18 м/мин). Раз в неделю нагрузку не выполняли (на 7-й день).

Массу тела измеряли с помощью лабораторных весов. Каждая особь измерялась отдельно. Измерения проводились 11 раз в течение 16 нед.

Забой подопытных животных проводили декапитацией через 24 ч после последней нагрузки. Выделялась белая и бурая жировая ткань. Собранные образцы взвешивались, затем замораживались в жидком азоте и хранились в морозильной камере при температуре –80 °С.

Для гомогенизации жировой ткани использовали 500 мкл буфера на 50 мг ткани, использовался вихревой лабораторный миксер Digital Vortex-Genie 2 на 15 мин при 4 °С с металлическими шариками, затем оставляли на мини-ротор-шейкере в холодильнике на 1 ч, после –

в штативе на холоде на 15 мин, далее снова помещали в вихревой лабораторный миксер на 15 мин при 4 °С. После этого переносили пробирки в центрифугу при 4 °С и крутили 5 мин при 8 000 об/мин. Затем аккуратно убирали липидный слой, снова помещали в центрифугу на 15 мин, после чего собирали прозрачный супернатант под оставшимся липидным слоем. Общий белок в образце определяли методом Бредфорда.

Электрофорез в полиакриламидном геле проводили в денатурирующих условиях и по методике, описанной Laemmli, с 5%-м концентрирующим и 10%-м разделяющим гелями с использованием системы электрофореза (электрофоретическая ячейка (Mini-PROTEAN Tetra, США), источник тока (PowerPacBasic, США)). Количество общего белка, нанесенного на каждую лунку, составляет 10 мкг. С помощью системы блоттинга (Trans-Blot Turbo, США) белки переносили из геля на мембрану PVDF (Bio-Rad, США) с последующим блокированием 5%-м обезжиренным молоком (Bio-Rad, США) в TBSt 1X (TBS с добавлением 0,1% Tween 20) в течение 1 ч при комнатной температуре.

Белки-мишени определяли путем инкубации в течение ночи при 4 °С в 5%-м сухом молоке в TBSt в разведении 1 : 1 000 с кроличьими поликлональными антителами против цитратсинтетазы (кат. № ab96600, abcam, Великобритания), с кроличьими поликлональными антителами против гексокиназы (кат. № ab227198, abcam, Великобритания) и коктейлем с антителами Total OXPHOS Rodent WB (кат. № ab110413, abcam, Великобритания), содержащий пять мышинных антител, по одному против субъединиц NDUFB8, SDHB, UQCRC2, MTCO1, ATP5A. Затем образец инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена

(антимышинные, кат. № 1706516, антикроличьи, кат. № 1706515, Bio-Rad, США) в течение 1 ч при комнатной температуре в 5%-м сухом молоке в TBSt.

Комплексы антиген-антитело визуализировали с помощью набора ECL (SuperSigna West Dura, Thermo Scientific, США) и системы документирования (ChemiDoc-It 2, UVP, Великобритания). Денситометрический анализ проводили с помощью программного обеспечения ImageJ. Данные вестерн-блоттинга представлены в относительных единицах по сравнению со стандартным образцом (один и тот же образец присутствовал на всех блотах). Значения стандартного образца приняты за 100%.

Данные представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего ( $M \pm m$ ). После проверки нормальности распределения данных с помощью критерия Колмогорова – Смирнова результаты были проанализированы с помощью двухфакторного дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ GraphPad Prism.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 представлена динамика массы тела мышей в процессе эксперимента. Уже начиная с 4-й нед наблюдалось статистически значимое увеличение массы тела мышей, получавших жировую диету ( $p < 0,05$ ). Средний показатель массы тела у группы, находящейся на высокожировой диете, составил  $35,2 \pm 2,0$  г, а масса тела у группы на нормальном питании –  $32,7 \pm 1,3$  г. На 12-й нед различия между группой, находящейся на высокожировой диете (масса тела составила  $44,3 \pm 2,6$  г), и группой, питающейся стандартным кормом ( $32,2 \pm 1,2$  г), увеличились.

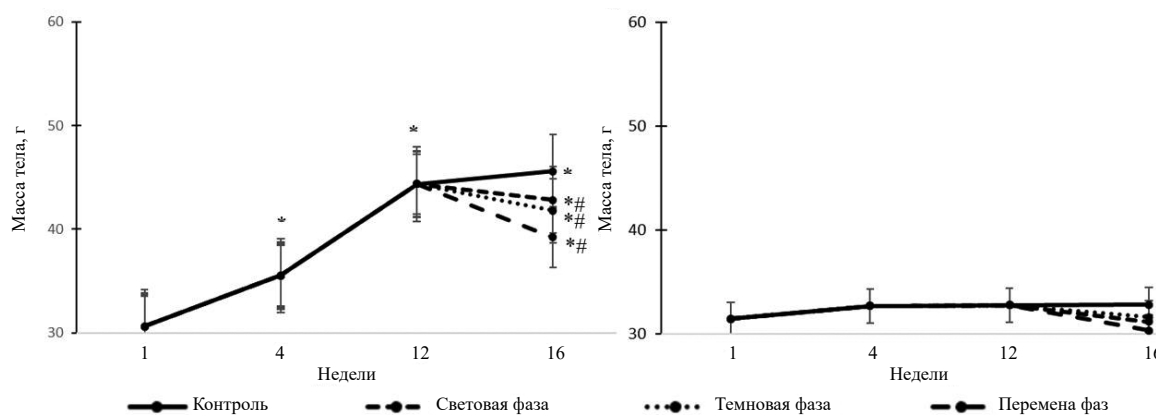


Рис. 1. Изменение массы тела мышей в процессе эксперимента: а – группа, получавшая высокожировую диету; б – группа, получавшая стандартную диету. Здесь и на рис. 2, 3  $M \pm m$ ,  $n = 6$ . \* – уровень статистической значимости различий с показателем на 1-й нед ( $p < 0,05$ ), # – уровень статистической значимости различий с группой без физической нагрузки ( $p < 0,05$ )

Начиная с 12-й нед, обе группы были разделены на четыре подгруппы, в которых воздействие физической нагрузки оказывалось в разное время суток (утром, вечером и попеременно утром/вечером). На 16-й нед (заключительной) эксперимента мы наблюдали, что в группах мышей на высокожировой диете ( $45,6 \pm 4,5$  г) и мышей, которые питались нормальным кормом ( $32,8 \pm 2,4$  г), показатели разницы по массе тела остались статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

У группы с жировым типом питания статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по массе тела с контрольной группой наблюдались у всех трех подгрупп, на которых оказывалось влияние физической нагрузки. Самой эффективной оказалась нагрузка с попеременным воздействием физической нагрузки ( $39,2 \pm 4,4$  г). В данной группе масса тела ниже в 1,2 раза, чем в контрольной группе.

На рис. 2 представлено количество белой абдоминальной жировой ткани и бурой жировой ткани у мышей после завершения эксперимента. Увеличение массы тела у мышей в значительной степени происходит за счет увеличения количества белой жировой ткани, но и содержание бурой жировой ткани в организме существенно возрастает. При этом важно отметить, что принудительные физические нагрузки, вызывая снижение количества белой жировой ткани во всех подгруппах, на содержание бурой жировой ткани влияют гораздо слабее. Только физические нагрузки, выполняемые с переменной фазы суточного ритма, способствовали снижению количества бурого жира вдвое.

На рис. 3, а представлены результаты определения содержания цитратсинтазы и белков OXFOFOS в бурой жировой ткани мышей. Результаты представлены в процентах от контрольного образца. Как видно, содержание цитратсинтазы в бурой жировой ткани не зависело от типа питания и несколько воз-

растало лишь при применении принудительного бега с переменной фазы суточного цикла.

Концентрация АТР5А (рис. 3, б) снижается у мышей, находившихся на жировой диете, в сравнении с группой, получавшей стандартное питание. Физические нагрузки у мышей, получавших жировую диету, способствуют увеличению содержания данного белка, более выражен эффект вечерних нагрузок и тренировок в переменном режиме. У мышей же, получавших стандартную диету, напротив, физические нагрузки приводили к снижению содержания данного белка.

Концентрация МТСО1 (рис. 3, с) значительно снижается у мышей, находившихся на жировой диете, в сравнении с группой, получавшей стандартное питание. Физические нагрузки у мышей, получавших жировую диету, способствуют увеличению содержания данного белка, если применяются в переменном режиме.

Концентрация SD HB (рис. 3, d) у мышей, находившихся на жировой диете, несколько снижалась в сравнении с группой, получавшей стандартное питание. Физические нагрузки у мышей, получавших жировую диету, способствуют увеличению содержания данного белка. Эффект нагрузок был более выражен в вечерние часы и в переменном режиме. У мышей же, получавших стандартную диету, напротив, физические нагрузки приводили к снижению содержания данного белка.

Концентрация UQCRC2 (см. рис. 3, e) снижается у мышей, находившихся на жировой диете, в сравнении с группой, получавшей стандартное питание. Физические нагрузки у мышей, получавших жировую диету, приводили к значительным изменениям – к снижению при применении нагрузок в утренние или вечерние часы и к увеличению, если нагрузки применялись в переменном режиме.

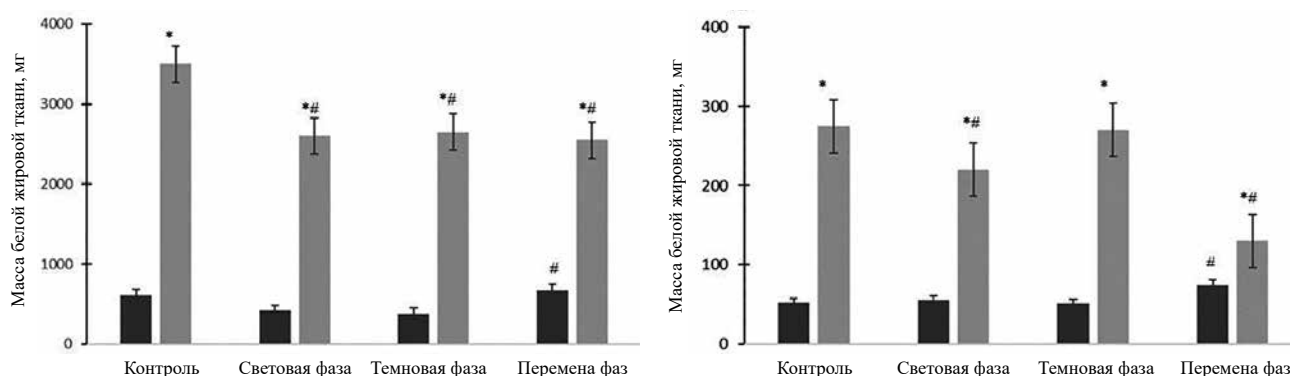


Рис. 2. Масса белой и бурой жировой ткани у мышей на 16-й нед эксперимента: светлые столбцы – группа, получавшая высокожировую диету; темные столбцы – группа, получавшая стандартную диету.

Здесь и на рис. 3: \* уровень статистической значимости различий с группой, получавшей стандартную диету ( $p < 0,05$ ), # уровень статистической значимости различий с группой контроля ( $p < 0,05$ )

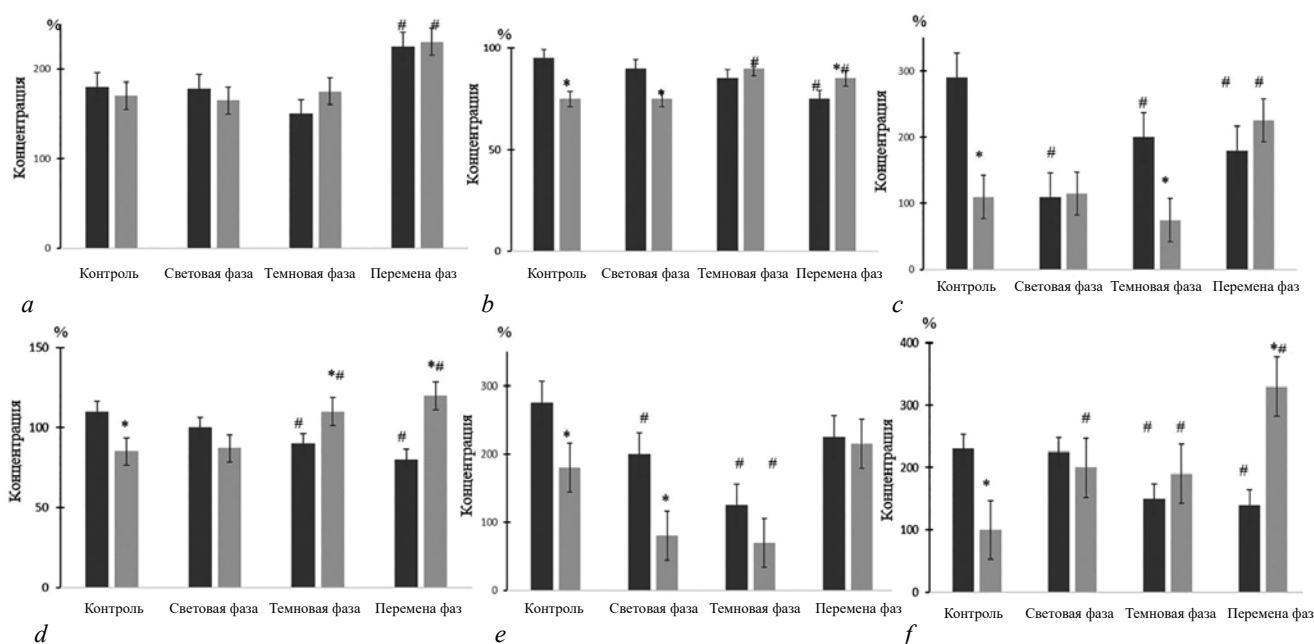


Рис. 3. Содержание цитратсинтазы и белков OXPHOS в бурой жировой ткани мышей: светлые столбцы – группа, получавшая высокожировую диету; темные столбцы – группа, получавшая стандартную диету. Цитратсинтаза (a), ATP5A (b), MTCO1 (c), SD HB (d), UQCRC2 (e), NDUFB8 (f)

У мышей же, получавших стандартную диету, физические нагрузки приводили к аналогичным, но менее выраженным сдвигам.

Концентрация NDUFB8 (см. рис. 3, f) снижается у мышей, находившихся на жировой диете, в сравнении с группой, получавшей стандартное питание. Физические нагрузки у мышей, получавших жировую диету, способствуют увеличению содержания данного белка, особенно если применяются в переменном режиме. У мышей же, получавших стандартную диету, напротив, физические нагрузки приводили к снижению содержания данного белка.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что использование высокожировой диеты у мышей приводит к увеличению массы тела и формированию ожирения (масса тела более, чем на 25% выше, чем в контрольной группе). Принудительные физические нагрузки в виде ежедневного бега на тредмиле оказывают выраженный эффект на метаболизм у мышей с моделью СД II типа. Прежде всего это проявляется в снижении массы тела животных и зависит от времени суток, в которое выполняется нагрузка. Как прирост, так и уменьшение массы тела в основном происходят за счет изменения количества белого абдоминального жира, содержание бурого жира изменяется в меньшей степени.

В то же время со стороны бурой жировой ткани отмечаются значительные метаболические пере-

стройки. Формирование модели СД II типа сопровождается снижением содержания всех компонентов системы окислительного фосфорилирования (OXPHOS). В наибольшей степени снижается содержание MTCO1 и NDUFB8. По-видимому, при формировании модели СД II типа у мышей происходит снижение «энергетической эффективности» бурой жировой ткани, что частично компенсируется увеличением ее содержания в организме.

Эффекты физических нагрузок на содержание бурого жира оказались несколько противоречивыми. По литературным данным, регулярные физические нагрузки способствуют увеличению количества бурого жира в организме [13]. Так, здоровые молодые мужчины, кто выполнял ежедневные физические упражнения в течение 12 нед, имели большее количество активного бурого жира, чем те, кто не занимался спортом [14]. Аналогичные результаты мы наблюдали у мышей без метаболических нарушений, питавшихся стандартным кормом – у них отмечалось возрастание содержания бурого жира после регулярных принудительных физических нагрузок. Однако у мышей с моделью СД II типа мы наблюдали противоположный эффект – содержание бурого жира в организме снижалось на фоне регулярных физических нагрузок. Это может связано с тем, что у этих животных при развитии патологии содержание бурого жира возрастало в 5 раз.

Однако снижение содержания бурого жира после физических нагрузок у мышей с моделью СД

II типа сопровождалось увеличением содержания большинства компонентов ОХРНOS, в некоторых случаях – даже выше исходных значений. Последнее характерно для нагрузок, применяемым в переменном режиме – когда время выполнения нагрузок периодически изменяется. Аналогичные изменения отмечались и со стороны цитратсинтазы. По всей вероятности, в условиях метаболических расстройств эффекты физических нагрузок могут реализовываться не за счет увеличения количества бурой жировой ткани, а за счет улучшения ее «энергетической эффективности».

Как уже упоминалось выше, стимулирование накопления бурого жира может улучшить управление уровнем глюкозы и снизить риск развития диабетических осложнений [15]. По всей вероятности, метаболические перестройки бурой жировой ткани могут служить одним из механизмов профилактических и проекторных эффектов физических нагрузок при СД II типа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют сделать несколько важных заключений.

Во-первых, формирование диабетических расстройств у экспериментальных животных сопровождается возрастанием количества как белой, так и бурой жировой ткани. Однако в бурой жировой ткани при этом снижается содержание всех компонентов системы окислительного фосфорилирования (ОХРНOS). В наибольшей степени снижается содержание МТСО1 и NDUFB8. По-видимому, при формировании модели СД II типа у мышей происходит снижение «энергетической эффективности» бурой жировой ткани, что частично компенсируется увеличением ее содержания в организме.

Во-вторых, регулярные физические нагрузки у мышей с моделью СД II типа, в отличие от здоровых животных, способствуют снижению содержания бурой жировой ткани. В то же время при этом в буром жире возрастает содержание большинства компонентов ОХРНOS, в некоторых случаях – даже выше исходных значений. Последнее характерно для нагрузок, применяемым в переменном режиме – когда время выполнения нагрузок периодически изменяется. Аналогичные изменения отмечались и со стороны цитратсинтазы.

Полученные результаты позволяют предположить, что метаболические перестройки бурой жировой ткани могут служить одним из механизмов профилактических и проекторных эффектов физических нагрузок при СД II типа.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Betz M.J., Enerbäck S. Targeting thermogenesis in brown fat and muscle to treat obesity and metabolic disease. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2018;14(2):77–87. DOI: 10.1038/nrendo.2017.132.
2. Jung S.M., Sanchez-Gurmaches J., Guertin D.A. Brown adipose tissue development and metabolism. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2019;251:3–36. DOI: 10.1007/164\_2018\_168.
3. Кокшарова Е.О., Майоров А.Ю., Шестакова М.В., Дедов И.И. Метаболические особенности и терапевтический потенциал бурой и «бежевой» жировой ткани. *Сахарный диабет.* 2014;17(4):5–15. DOI: 10.14341/DM201445-15.
4. Cheng L., Wang J., Dai H., Duan Y., An Y., Shi L. et al. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. *Adipocyte.* 2021;10(1):48–65. DOI: 10.1080/21623945.2020.1870060.
5. Kaisanlahti A., Glumoff T. Browning of white fat: agents and implications for beige adipose tissue to type 2 diabetes. *J. Physiol. Biochem.* 2019;75(1):1–10. DOI: 10.1007/s13105-018-0658-5.
6. Coffey V.G., Hawley J.A. The molecular bases of training adaptation. *Sports Med.* 2007;37(9):737–763. DOI: 10.2165/00007256-200737090-00001.
7. Karstoft K., Pedersen B.K. Exercise and type 2 diabetes: focus on metabolism and inflammation. *Immunol. Cell Biol.* 2016;94(2):146–150. DOI: 10.1038/icb.2015.101.
8. Pedersen B.K., Saltin B. Exercise as medicine – evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 2015;25:1–72. DOI: 10.1111/sms.12581.
9. Stanford K.I., Rasmussen M., Baer L.A., Lehnig A.C., Rowland L.A., White J.D. et al. Paternal Exercise improves glucose metabolism in adult offspring. *Diabetes.* 2018;67(12):2530–2540. DOI: 10.2337/db18-0667.
10. Basse A.L., Dalbram E., Larsson L., Gerhart-Hines Z., Zierath J.R., Treebak J.T. Skeletal muscle insulin sensitivity show circadian rhythmicity which is independent of exercise training status. *Front Physiol.* 2018;9:1198. DOI: 10.3389/fphys.2018.01198.
11. Kapilevich L.V., Zakharova A.N., Dyakova E.Yu., Kalinnikova J.G., Chibalin A.V. Mice experimental model of diabetes mellitus type ii based on high fat diet. *Bull. Siberian Med.* 2019;18(3):53–61. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-53-61.
12. Zakharova A.N., Kalinnikova Yu.G., Negodenko E.S., Orlova A.A., Kapilevich L.V. Experimental simulation of cyclic training loads. *Teor. Prakt. Fizich. Kult.* 2020;10:26–27.
13. Lehnig A.C., Stanford K.I. Exercise-induced adaptations to white and brown adipose tissue. *J. Exp. Biol.* 2018;221(Pt. Suppl.):jeb161570. DOI: 10.1242/jeb.161570.
14. Aldiss P., Betts J., Sale C., Pope M., Budge H., Symonds M.E. Exercise-induced ‘browning’ of adipose tissues. *Metabolism.* 2018;81:63–70. DOI: 10.1016/j.metabol.2017.11.009.
15. Mu W.J., Zhu J.Y., Chen M., Guo L. Exercise-mediated browning of white adipose tissue: its significance, mechanism and effectiveness. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(21):11512. DOI: 10.3390/ijms222111512.

## Вклад авторов

Капилевич Л.В. – научное руководство, концепция исследования, редактирование текста, окончательное утверждение версии для публикации. Захарова А.Н. – концепция и дизайн работы, анализ и интерпретация данных исследования, написание текста статьи. Милованова К.Г., Коллонтай О.В., Орлова А.А., Шувалов И.Ю. – сбор, анализ данных, обработка и интерпретация результатов.

## Информация об авторах

**Захарова Анна Николаевна** – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, azakharova91@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1102-2830>

**Милованова Ксения Геннадьевна** – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, naffys@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3038-3298>

**Орлова Анна Алексеевна** – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, anna.orlova.96@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9886-9454>

**Коллонтай Олеся Вадимовна** – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, olesya.tay@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-2445-0124>

**Шувалов Игорь Юрьевич** – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, oleg-100500-lol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1096-807X>

**Капилевич Леонид Владимирович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ; СибГМУ, г. Томск, kapil@yandex.ru <http://orcid.org/0000-0002-2316-576X>

(✉) Капилевич Леонид Владимирович, kapil@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.04.2023;  
одобрена после рецензирования 28.04.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК 612.017.1:612.112.91  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-56-63>



## Противоинфекционная защита организма человека с участием нейтрофильных сетей

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ступин В.А., Ким А.Э., Титова Е.Г., Рогожина Л.С.

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

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Нейтрофильные экстраклеточные ловушки (НЭЛ) в форме сетей исследованы при воспалительных заболеваниях. Присутствие нейтрофильных сетей у инфицированных людей без клинических симптомов не изучено.

**Цель.** Выявление НЭЛ у неболевших людей в период пандемии гриппа H1N1 и вне этого периода, а также исследование функциональной активности НЭЛ.

**Пациенты и методы.** Две группы волонтеров (по 10 человек) в возрасте 20–25 лет. Первая группа добровольцев обследована в спокойный эпидемиологический период, при отсутствии острых заболеваний в течение 1 мес до исследования и хронических заболеваний в анамнезе. Волонтеры 2-й группы контактировали с больными гриппом, но при этом не заболели. В исследование также были включены больные (12 человек) с острым воспалением в брюшной полости (аппендицит, холецистит, абсцесс) и 9 – с неспецифическим язвенным колитом. Нейтрофилы выделяли из крови традиционным методом на градиенте фикола. Определяли количество, морфологию и функциональную активность НЭЛ (по захвату *Klebsiella pneumoniae*). Для визуализации и подсчета НЭЛ использовали флуоресцентную микроскопию с красителем SYBR Green.

**Результаты.** У здоровых волонтеров, не контактировавших с больными, спонтанного формирования НЭЛ не возникало. Нейтрофилы же добровольцев, контактировавших с больными, спонтанно формировали нейтрофильные сети. Количество НЭЛ у них достигало  $8,58 \pm 0,51\%$ , а размеры НЭЛ –  $39,68 \pm 3,52$  мкм. НЭЛ эффективно захватывали клетки тестового микроорганизма, что сопровождалось ретракцией волокон сети и преобразованием сетевидной структуры в вуалеобразную, которая удерживает  $89,38 \pm 5,86$  микробных клеток. Для сравнения: нейтрофильная сеть больных с острым воспалением брюшной полости захватывает и связывает  $20,2 \pm 1,67$  микробных клеток, при неспецифическом язвенном колите –  $5,53 \pm 0,34$ .

**Заключение.** Высокая связывающая способность нейтрофильных сетей является фактором эффективной защиты от развития инфекционного заболевания с манифестацией клинических симптомов.

**Ключевые слова:** функциональная активность нейтрофильных сетей, нейтрофильные экстраклеточные ловушки, вуалеобразная форма, не болеющие волонтеры, грипп H1N1, *Klebsiella pneumoniae*, воспалительные заболевания

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

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

**Соответствие принципам этики.** Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 203 от 21.12.2021).

**Для цитирования:** Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ступин В.А., Ким А.Э., Титова Е.Г., Рогожина Л.С. Противоинфекционная защита организма человека с участием нейтрофильных сетей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):56–63. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-56-63>.

## Neutrophil extracellular traps in the anti-infectious defense of human organism

Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Stupin V.A., Kim A.E., Titova E.G., Rogozhina L.S.

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

### ABSTRACT

**Background.** Neutrophil extracellular traps (NETs) are net-like structures that have been investigated in inflammatory diseases. However, the presence of NETs in infected persons without clinical symptoms has not been yet studied.

**Aim.** To reveal NETs in healthy persons during and after the H1N1 influenza pandemic as well as to study the functional activity of NETs.

**Materials and methods.** The study included two groups of volunteers ( $n = 10$  in each group) aged 20–25 years. The first group of volunteers was examined in the absence of acute diseases during one month before the study and in the absence of chronic diseases in the medical history. Volunteers of the second group were in contact with patients with influenza, but did not get sick. The comparative study also included patients with acute inflammation in the abdominal cavity (appendicitis, cholecystitis, abscess; 12 patients) and 9 patients with non-specific ulcerative colitis. Neutrophils were isolated from the blood by the traditional method of Ficoll density centrifugation. The number, morphology, and functional activity of NETs were determined (by capture of *Klebsiella pneumoniae*). SYBR Green I-based fluorescence microscopy was used to visualize and quantify NETs.

**Results.** In healthy volunteers who were not in contact with infected patients, spontaneous NETs formation did not occur. Neutrophils of persons who were in contact with infected patients spontaneously formed NETs. In this case the number of NETs reached  $8.58 \pm 0.51\%$ , and the size of NETs amounted to  $39.68 \pm 3.52 \mu\text{m}$ . NETs effectively captured cells of the tested microorganism, which was accompanied by retraction of network fibers and transformation of the network structure into a cloud-like one, which retained  $89.38 \pm 5.86$  microbial cells. For comparison, the NETs in patients with acute inflammation in the abdominal cavity captured and bound  $20.2 \pm 1.67$  microbial cells and with non-specific ulcerative colitis –  $5.53 \pm 0.34$  cells.

**Conclusion.** High binding capacity of NETs is a factor contributing to effective defense of the body against the development of an infectious disease with manifested clinical symptoms.

**Keywords:** functional activity of NETs, neutrophil extracellular traps, cloud-like appearance, healthy volunteers, H1N1 influenza, *Klebsiella pneumoniae*, inflammatory diseases

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

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

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol No. 203 of 21.12.2021).

**For citation:** Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Stupin V.A., Kim A.E., Titova E.G., Rogozhina L.S. Neutrophil extracellular traps in the anti-infectious defense of human organism. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):56–63. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-56-63>.

## ВВЕДЕНИЕ

Нейтрофилы формируют нейтрофильные экстраклеточные ловушки (НЭЛ, NETs) в качестве защитного механизма против патогенов, вторгающихся в организм человека. В ранее проведенных исследованиях, касающихся реакций клеток врожденно-

го иммунитета (нейтрофилов) в ответ на вирусное инфицирование (хантавирусы, аденовирусы, вирус иммунодефицита человека, вирусы гриппа), были получены данные о формировании нейтрофильных экстраклеточных ловушек у заболевших людей при различных острых вирусных заболеваниях [1–3]. В это же время исследователи обнаружили, что избы-

точное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек опасно, поскольку может вызвать тканевое повреждение и привести к осложнениям основного заболевания [3–6]. Роль нейтрофилов при вирусном инфицировании имеет свои нюансы, и порог, при котором защитные функции уступают место механизмам повреждения, в том числе иммунопатологическим, еще недостаточно изучен.

В исследованиях последних лет установлено, что вирусы гриппа непосредственно способны индуцировать формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в крови у здоровых доноров в экспериментах *in vitro* [7, 8]. В то же время выявлено, что формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в форме нейтрофильных сетей, как реакция клеток врожденного иммунитета, способствующая естественному процессу борьбы с острой вирусной инфекцией, сопровождается выраженным противовирусным эффектом, который помогает контролировать системные уровни вируса [9]. Принято считать, что НЭЛ отсутствуют в организме здоровых людей и обнаруживаются только при воспалении. Нейтрофильные сети довольно подробно описаны, но их присутствие в организме людей без клинических проявлений заболевания неизвестно. Точных данных о наличии нейтрофильных сетей в периферической крови людей, находящихся в контакте с инфицированными индивидами, но не болеющими при этом, нет. Кроме того, механизмы, лежащие в основе формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек, все еще остаются неясными.

Неизвестны большинству исследователей различные варианты существующих морфологических форм нейтрофильных экстраклеточных ловушек, не изучена их функциональная активность. Один из подходов к выяснению этих вопросов заключается в определении численности нейтрофильных экстраклеточных ловушек, их морфологического строения и функциональной активности у не болеющих людей в период пандемии вируса гриппа и вне эпидемической обстановки.

Цель – выявление нейтрофильных экстраклеточных ловушек у неболеющих людей в период пандемии вируса гриппа H1N1 и вне этого периода, а также исследование их функциональной активности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены две группы волонтеров по 10 человек в каждой в возрасте 20–25 лет. Критерий включения – отсутствие острых заболеваний на момент исследования и указаний на хронические заболевания в анамнезе. Критерий исключения – острые инфекционные заболевания в течение 1 мес до дня исследования.

Волонтеры 1-й группы подвергались исследованию в мае – июне 2022 г. В этот период регистрировали самую спокойную эпидемическую обстановку по гриппу и COVID-19. Члены этой группы не имели контактов с людьми, болеющими острыми респираторными заболеваниями.

Волонтеры 2-й группы были исследованы в декабре 2022 г. В этот период регистрировали превышение эпидемического порога по гриппу H1N1 у детей и взрослых. Более того, волонтеры 2-й группы в течение 1 мес, предшествующего дню обследования, находились в постоянном контакте с больными гриппом H1N1, но сами при этом не заболели.

В исследование также были включены больные, находящиеся на лечении в ГКБ № 51 г. Москвы. Больные 1-й группы (12 человек) были госпитализированы с острым инфекционным воспалением в брюшной полости (острый аппендицит, острый холецистит, абсцесс). Больные 2-й группы (9 человек) имели диагноз «неспецифический язвенный колит».

Исследование проб крови проводили на кафедре патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Все процедуры выполнялись в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации ВМА (в редакции 2004 г.) и письменного информированного согласия пациентов. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 203 от 21.12.2021).

*Определение содержания нейтрофильных экстраклеточных ловушек.* Получение клеточных фракций нейтрофилов. Для взятия проб крови волонтеров использовали вакуутайнер с ЭДТА для предотвращения свертывания. Выделение нейтрофилов из венозной крови, обработанной ЭДТА, проводили с помощью градиентного центрифугирования. Для этого кровь разводили в 4 раза натрий-фосфатным буферным раствором (рН 7,4) и наслаивали на двойной градиент плотности фиколла-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляла 1,077 г/см<sup>3</sup>, нижнего – 1,190 г/см<sup>3</sup>. После центрифугирования (1 600 об/мин, 30 мин) на границе между градиентами возникало скопление нейтрофилов с чистотой 98–100%. Нейтрофилы дважды отмывали от примесей фиколла натрий-фосфатным буферным раствором (50 мМ, рН 7,4). Осаждение клеток крови проводили при центрифугировании (1 200 об/мин, 15 мин). Выделенные нейтрофилы в среде RPMI-1640 использовали в экспериментах по кратковременному культивированию. Жизнеспособность выделенных нейтрофилов составляла не менее 95% (тест с 0,1%-м раствором трипанового синего).

**Иммунофлуоресцентное определение нейтрофильных экстраклеточных ловушек.** Для обнаружения и подсчета нейтрофильных экстраклеточных ловушек использовали флуоресцентную микроскопию [10]. Результаты выражали в процентах, в виде отношения количества экстраклеточных ловушек к общему числу клеток в поле зрения. Выявление нейтрофильных экстраклеточных ловушек осуществляли с использованием флуоресцентного красителя SYBR Green (Evrogen, Россия), специфично взаимодействующего с двухцепочечной ДНК. Микроскопирование, подсчет и фоторегистрацию клеток и экстраклеточных структур проводили при увеличении  $\times 1\,000$ .

**Захват тестового микроорганизма.** Определение функциональной активности внеклеточных структур (нейтрофильных сетей) проводили с помощью теста на захват микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603). Для этого к нейтрофилам, иммобилизованным на стекле, покрытым полилизинном, добавляли микробную культуру *Klebsiella pneumoniae* в среде RPMI-1640 в концентрации  $10^3$ /мкл. Нейтрофильные сети захватывали тестовый микроорганизм в соответствии с потенциальной функциональной активностью НЭЛ. После окрашивания (SYBR Green, 15 мин) и отмывания избытка красителя в ходе микроскопирования определяли количество клеток *Klebsiella pneumoniae*, связанное каждой экстраклеточной структурой.

Полученные результаты обрабатывали в программе Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Сравнение количественных признаков проводили по ранговому *U*-критерию Манна – Уитни и данным дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при значениях  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании *in vitro* определяли количественные и качественные характеристики нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Определяли их варианты морфологической структуры, численность, размеры, функциональную активность нейтрофильных сетей (в тесте с захватом микроорганизма *Klebsiella pneumoniae*).

Результаты исследования двух групп волонтеров, не имевших контактов с заболевшими (1-я группа) и контактировавших с больными людьми, но при этом не имеющих клинических признаков заболевания (2-я группа), приведены в таблице.

У здоровых волонтеров, не имевших контактов с больными людьми и обследованных вне периода пандемии (1-я группа), спонтанного формиро-

вания нейтрофильных экстраклеточных ловушек не возникало.

Т а б л и ц а

| Результаты исследования нейтрофильных сетей<br>неболеющих волонтеров, $M \pm m$ |                               |                   |                    |
|---|-------------------------------|-------------------|--------------------|
| Показатель  | Параметры нейтрофильных сетей |                   |                    |
|   | Морфологическая структура НЭЛ | Количество НЭЛ, % | Размеры НЭЛ, мкм   |
| Волонтеры, не имевшие контактов с больными, контроль, $n = 10$                  | —                             | 0,00              | 0,00               |
| Контактировавшие с больными и незаболевшие, $n = 10$                            | сети                          | $8,58 \pm 0,51^*$ | $39,68 \pm 3,52^*$ |

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

Нейтрофилы 1-й группы волонтеров были представлены в виде классических зрелых сегментоядерных гранулоцитов (рис. 1).

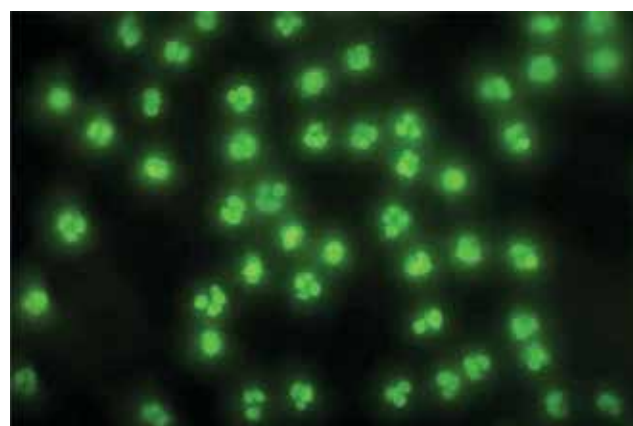


Рис. 1. Нейтрофилы здоровых людей, не имевших контактов с больными людьми: окрашивание SYBR Green,  $\times 1\,000$

У неболеющих волонтеров, но имевших контакты с больными людьми (2-я группа), результаты оказались иные. Нейтрофилы этих неболеющих людей спонтанно формировали нейтрофильные сети (рис. 2, 3). Количество нейтрофильных экстраклеточных ловушек у них составляло  $8,58 \pm 0,51\%$ , а размеры НЭЛ соответствовали  $39,68 \pm 3,52$  мкм. Нейтрофилы в этой группе испытуемых спонтанно, без всякой дополнительной стимуляции формировали нейтрофильные сети. Следовательно, участники этой группы волонтеров, имевшие контакты с больными пациентами, сами были инфицированы, а их нейтрофилы были предварительно активированы.

В следующей серии экспериментов определяли функциональную активность нейтрофильных сетей, обнаруженных у неболеющих волонтеров, но

имевших контакты с больными людьми (2-я группа), в тесте с захватом микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

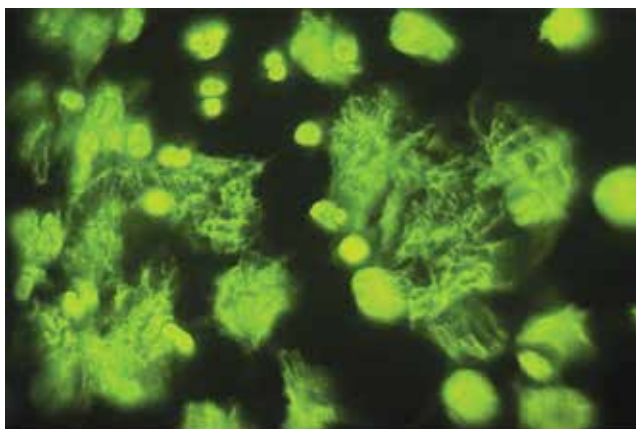


Рис. 2. Нейтрофильные сети неболевших людей (волонтер А.), находящихся в контакте с больными пациентами: время инкубации 1 ч, окрашивание CYBR Green,  $\times 1\,000$

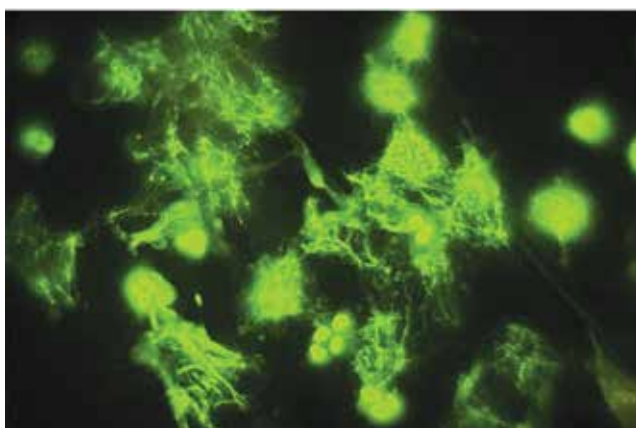


Рис. 3. Нейтрофильные сети неболевших людей (волонтер К.), находящихся в контакте с больными пациентами, время инкубации 1 ч, окрашивание CYBR Green,  $\times 1\,000$

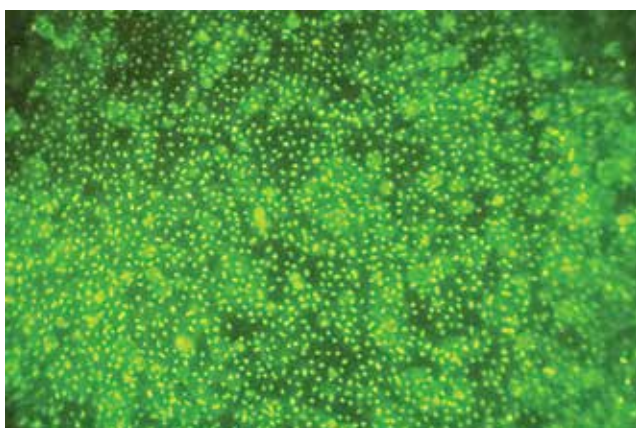


Рис. 4. Клетки *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), размещенные на стекле: окрашивание CYBR Green,  $\times 1\,000$

К клеткам тестового микроорганизма *Klebsiella pneumoniae*, размещенным на стекле (рис. 4), добавляли нейтрофилы неболевших волонтеров 2-й группы. Нейтрофилы этих волонтеров, обследованных в неблагоприятный эпидемиологический период, но не имевших клинических признаков заболевания, формировали нейтрофильные сети (см. рис. 2, 3) и захватывали клетки тестового микроорганизма. Мы наблюдали, что в ходе этого процесса развивается ретракция волокон сети и происходит преобразование сетевидной структуры в вуалеобразную. Причем размеры вторично образующихся нейтрофильных «вуалей» вместе с захваченными клетками *Klebsiella pneumoniae* становились в 2–3 раза меньше, чем размеры исходных нейтрофильных сетей (рис. 5). Наши наблюдения показывают, что захват клеток тестового микроорганизма был очень эффективным. Сплошной газон клеток *Klebsiella pneumoniae* практически полностью очищался от этого патогена, а все микроорганизмы были сосредоточены внутри вуалеобразных нейтрофильных структур (см. рис. 4). Каждая вуалеобразная структура, происходящая из нейтрофильной сети неболевших волонтеров, но имевших контакты с больными людьми, захватывает и удерживает  $89,38 \pm 5,86$  клеток тестового микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (рис. 5).

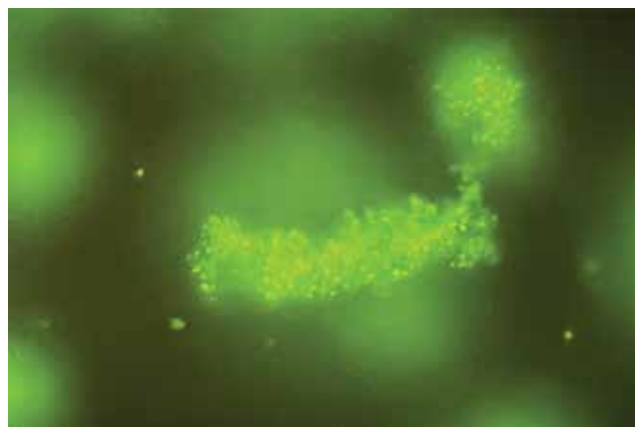


Рис. 5. Нейтрофильные сети эффективно захватывают и связывают клетки *Klebsiella pneumoniae* и превращаются в вуалеобразные структуры: время инкубации нейтрофильных сетей с клетками *Klebsiella pneumoniae* 2 ч, окрашивание CYBR Green,  $\times 1\,000$

Для сравнения: уровень функциональной активности нейтрофилов волонтеров, успешно преодолевающих вирусную инфекционную нагрузку, сопоставляли с результатами, полученными в тесте с захватом микроорганизма *Klebsiella pneumoniae*, у двух групп больных. Исследовали захват и связывание клеток тестового микроорганизма нейтрофильными сетями у больных с острым инфекционным

воспалением в брюшной полости (острый аппендицит, острый холецистит, абсцесс) и у больных с неспецифическим язвенным колитом.

Функциональная активность нейтрофильных сетей у больных с острыми воспалительными процессами в брюшной полости оказалась пониженной. Каждая нейтрофильная сеть у таких больных захватывает и связывает  $20,2 \pm 1,67$  микробных тел. Наблюдалось снижение этой связывающей способности по сравнению с клинически здоровыми, не болеющими волонтерами, более чем в 4 раза (рис. 6).

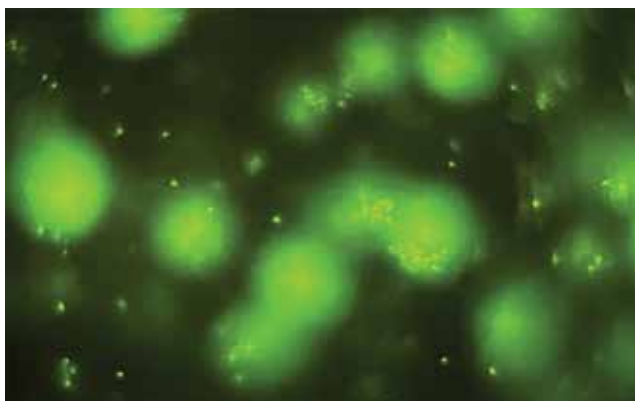


Рис. 6. Ослабление связывания патогена у больных с острыми воспалительными процессами брюшной полости. Нейтрофильные сети больных с воспалительными процессами в брюшной полости захватывают и связывают клетки *Klebsiella pneumoniae* и превращаются в вуалеобразные структуры: время инкубации нейтрофильных сетей с клетками *Klebsiella pneumoniae* 2 ч, окрашивание CYBR Green,  $\times 1\,000$

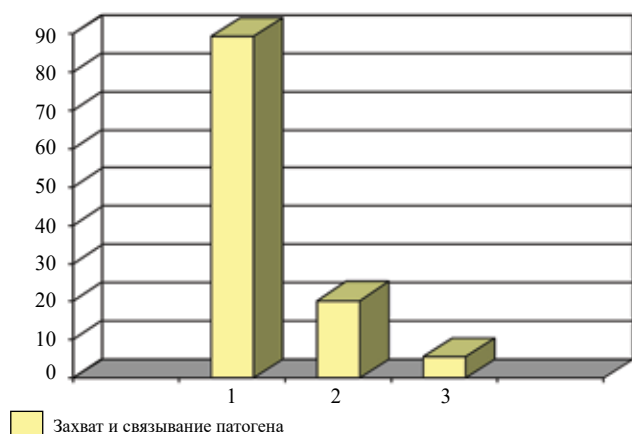


Рис. 7. Захват и связывание патогена *Klebsiella pneumoniae* нейтрофильными сетями у неболевших людей и у больных с различными воспалительными заболеваниями: по оси ОУ – количество микробных тел, захваченных одной нейтрофильной структурой, по оси ОХ – не болеющие волонтеры, имевшие контакты с больными людьми (1); больные с острым инфекционным воспалением в брюшной полости (2); больные неспецифическим язвенным колитом (3)

Исследование захвата и связывания патогена нейтрофильными сетями больных неспецифическим язвенным колитом выявило очень слабую функциональную способность нейтрофильных сетей у данной группы больных. Количество захваченных микроорганизмов *Klebsiella pneumoniae* нейтрофильными сетями больных язвенным колитом составляло всего  $5,53 \pm 0,34$  микробных тел.

Таким образом, результаты сравнительного исследования связывания клеток тестового микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (рис. 7) показывают, что наиболее высокой связывающей способностью обладают нейтрофильные сети неболевших волонтеров, имевшие контакты с больными людьми. Высокая связывающая способность нейтрофильных сетей этих людей, по-видимому, является фактором эффективной защиты их от развития инфекционного заболевания с манифестацией клинических симптомов.

Нейтрофильные сети больных с острым инфекционным воспалением (аппендицит, холецистит, абсцесс) обладают пониженной способностью к захвату и связыванию патогенов, но эта их способность сохраняется на довольно высоком уровне. Преобразование нейтрофильных сетей этих больных в вуалеобразные структуры сопровождается ослаблением их связывающей способности по отношению к клеткам тестового микроорганизма.

Наиболее низкой способностью связывания клеток патогена обладают нейтрофильные сети больных с неспецифическим язвенным колитом. Ослабление захвата и связывания тестового микроорганизма у больных с этим хроническим аутоиммунным заболеванием свидетельствует о пониженной функциональной активности нейтрофильных сетей и, видимо, лежит в основе коморбидности больных с неспецифическим язвенным колитом.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получение детальной информации о морфологических вариантах нейтрофильных экстраклеточных ловушек опирается на адекватный метод их визуализации, описанный нами прежде [10]. Результаты проведенного исследования *in vitro* демонстрируют строение нейтрофильных экстраклеточных ловушек, изменение их морфологии в ходе реакции нейтрофилов на патоген, что указывает на ведущую роль этих клеток врожденного иммунитета в противоинфекционной защите организма.

Полученные результаты показывают, что группа неболевших волонтеров, находящихся в контакте с больными людьми, защищена от инфекции благодаря эффективной работе нейтрофильного звена врожденного иммунитета. Нейтрофилы этих людей

уже были предварительно активированы, поскольку способны спонтанно формировать нейтрофильные сети. Сетевидные структуры весьма эффективно захватывают клетки патогена, развивают ретракцию волокон и превращаются в ходе этого процесса в компактные вуалеобразные структуры. Затем эти образования закономерно подвергаются фагоцитозу, развиваются процессы внутриклеточного гидролиза и происходит презентация антигенов. С этого момента начинается включение реакций адаптивного иммунитета.

У больных с острым инфекционным воспалением (аппендицит, холецистит, абсцесс) в эксперименте подтверждено ослабление захвата и связывания нейтрофильными сетями клеток тестового микроорганизма, что в клинических условиях может повысить риск развития осложнений основного заболевания. Резко ослаблена функциональная активность нейтрофильных сетей у больных с неспецифическим язвенным колитом, что объясняет повышенную чувствительность к инфекции и высокую коморбидность этих больных.

Результаты проведенного исследования показывают, что противоинфекционная защита организма с участием клеток врожденного иммунитета состоит в эффективном захвате и связывании патогена. Ослабление связывания клеток микроорганизма нейтрофильными сетями несет потенциальный риск развития осложнений.

Авторы обращают внимание на то, что это первое исследование, посвященное изучению функциональной активности нейтрофильных сетей в организме человека.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Raftery M.J., Lalwani P., Krautkrämer E., Peters T., Scharffetter-Kochanek K., Krüger R. et al.  $\beta 2$  integrin mediates hantavirus-induced release of neutrophil extracellular traps. *J. Exp. Med.* 2014;211(7):1485–1497. DOI: 10.1084/jem.20131092.
2. Saitoh T., Komano J., Saitoh Y., Misawa T., Takahama M., Kozaki T. et al. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell. Host. Microb.* 2012;12(1):109–116. DOI: 10.1016/j.chom.2012.05.015.
3. Jenne C.N., Kubes P. Virus-induced NETs-critical component of host defense or pathogenic mediator? *PLoS Pathog.* 2015;11(1):e1004546. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004546.
4. Veras F.P., Gomes G.F., Silva B.M.S., Caetité D.B., Almeida C.J.L.R., Silva C.M.S. et al. Targeting neutrophils extracellular traps (NETs) reduces multiple organ injury in a COVID-19 mouse model. *Respir. Res.* 2023;24(1):66. DOI: 10.1186/s12931-023-02336-2.
5. Narasaru T., Yang E., Samy R.P., Ng H.H., Poh W.P., Liew A.A. et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonia. *Am. J. Pathol.* 2011;179(1):199–210. DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.03.013.
6. Liuluan Z., Lu L., Yue Z., Lin P., Jingyuan L., Xingwang L. et al. High level of neutrophil extracellular traps correlates with poor prognosis of severe influenza A infection. *The Journal of Infectious Disease.* 2018;217(3):428–437. DOI: 10.1093/infdis/jix475.
7. Chan L.L.Y., Nicholls J.M., Peiris J.S.M., Lau Y.L., Chan M.C.W., Chan R.W.Y. Host DNA released by NETosis in neutrophils exposed to seasonal H1N1 and highly pathogenic H5N1 influenza viruses. *Respir. Res.* 2020;21(1):160. DOI: 10.1186/s12931-020-01425-w.
8. George S.T., Lai J., Ma J., Stacey H.D., Miller M.S., Mullarkey C.E. Neutrophils and influenza: a thin line between helpful and harmful. *Vaccines.* 2021;9(6):597. DOI: 10.3390/vaccines9060597.
9. Hiroki C.H., Toller-Kawahisa J.E., Fumagalli M.J., Colon D.F., Figueiredo L.T.M., Fonseca B.A.L.D. et al. Neutrophil extracellular traps effectively control acute chikungunya virus infection. *Front. Immunol.* 2020; 10:3108. DOI: 10.3389/fimmu.2019.03108.
10. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И. Новые возможности диагностики и исследования патогенеза различных видов воспаления. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022;66(2):34–42. DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.34-42.

#### Вклад авторов

Казимирский А.Н. – экспериментальные исследования, подготовка иллюстративного материала, написание текста. Салмаси Ж.М. – редактирование. Порядин Г.В., Ступин В.А. – концепция и дизайн исследования. Панина М.И. – редактирование, статистическая обработка материала. Ким А.Э. – экспериментальные исследования. Титова Е.Г. – экспериментальные исследования, сбор и обработка материала. Рогожина Л.С. – сбор и обработка материала.

#### Информация об авторах

Казимирский Александр Николаевич – д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, отдел молекулярных технологий, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, alnica10@mail.ru, 0000-0002-3079-4089

**Салмаси Жеан Мустафаевич** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, profjms@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8524-0019>

**Порядин Геннадий Васильевич** – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, poryadin\_GV@rsmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2010-3296>

**Панина Марина Ивановна** – д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, pan-mar@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7651-0037>.

**Ступин Виктор Александрович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии № 1, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, stvictor@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9522-8061>

**Ким Анна Эрнестовна** – ассистент, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, infoanu@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8119-772X>

**Титова Екатерина Геннадиевна** – ст. преподаватель, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, Eka-gen@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1655-322X>

**Рогожина Людмила Сергеевна** – ассистент, кафедра госпитальной хирургии № 1, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, lusy-090909@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3983-7890>

(✉) **Казимирский Александр Николаевич**, alnica10@mail.ru

Поступила в редакцию 14.06.2023;  
одобрена после рецензирования 24.07.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК 616.36-06:616.37-002.2  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-64-68>



## Ассоциация вариантов нуклеотидной последовательности гена *GSS* с риском развития острого билиарного панкреатита

Самгина Т.А.<sup>1</sup>, Кочетова Л.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Курский государственный медицинский университет (КГМУ)  
Россия, 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3

<sup>2</sup> Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого  
Россия, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

### РЕЗЮМЕ

**Цель:** исследовать вклад вариантов нуклеотидной последовательности rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* и некоторых средовых факторов в развитие острого билиарного панкреатита (ОБП) и его осложнений.

**Материалы и методы.** От 84 пациентов с ОБП и 573 здоровых индивидов были получены образцы крови для выделения геномной ДНК. Обе группы были сопоставимы по полу и возрасту. Диагностику заболевания проводили с использованием клинических рекомендаций, разработанных рабочей группой Российского общества хирургов. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Мультиплексное генотипирование SNPs проводили по технологии iPLEX на генетическом анализаторе MALDI-TOF MassARRAY-4. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Statistica 10, SNPStats.

**Результаты.** Установлено, что недостаточное употребление свежих овощей и фруктов повышает риск развития ОБП у носителей генотипов G/A-A/A rs1801310 *GSS* ( $p = 0,02$ ). Проведенный анализ установил ассоциацию аллеля T rs6088660 с вероятностью развития гнойного парапанкреатита ( $p = 0,007$ ) и дигестивных свищей ( $p = 0,02$ ). Высокая вероятность смертельного исхода была связана с носительством SNPs rs1801310 (генотип G/A,  $p = 0,002$ ) и rs6088660 (генотип C/T,  $p = 0,01$ ) гена *GSS*.

**Заключение.** Варианты нуклеотидной последовательности rs6088660 и rs1801310 гена *GSS* можно использовать для прогнозирования течения ОБП.

**Ключевые слова:** острый билиарный панкреатит, rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена *GSS*

**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 лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено региональным этическим комитетом при КГМУ (протокол № 3 от 11.03.2013).

**Для цитирования:** Самгина Т.А., Кочетова Л.В. Ассоциация вариантов нуклеотидной последовательности гена *GSS* с риском развития острого билиарного панкреатита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):64–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-64-68>.

# Association of polymorphic loci of the *GSS* gene with the risk of acute biliary pancreatitis

Samgina T.A.<sup>1</sup>, Kochetova L.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kursk State Medical University  
3, Karla Marksa Str., Kursk, 305041, Russian Federation

<sup>2</sup> Krasnoyarsk State Medical University  
1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

## ABSTRACT

**Aim.** To investigate the role of single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs13041792, rs1801310, and rs6088660 in the *GSS* gene and environmental factors in the development of acute biliary pancreatitis (ABP) and its complications.

**Materials and methods.** The material for the study was blood samples obtained from 84 patients with ABP and 573 healthy individuals. Both groups were comparable in terms of gender and age. To diagnose ABP, we used the clinical guidelines recommended by the working group of the Russian Society of Surgeons. DNA was isolated by phenol / chloroform extraction. Multiplex genotyping of SNPs was performed by the iPLEX assay on the MALDI-TOF MassARRAY-4 genetic analyzer. Statistical data processing was performed using Statistica 10 and SNPStat software.

**Results.** We found that insufficient consumption of fresh vegetables and fruits increased the probability of ABP in carriers of genotypes G/A-A/A at rs1801310 in *GSS* ( $p = 0.02$ ). The analysis revealed the association of the T allele at rs6088660 with the odds for developing acute pancreatitis ( $p = 0.007$ ) and digestive fistulas ( $p = 0.02$ ). A high probability of death was associated with rs1801310 (G/A genotype,  $p = 0.002$ ) and rs6088660 (C/T genotype,  $p = 0.01$ ) in the *GSS* gene.

**Conclusion.** SNPs rs6088660 and rs1801310 in the *GSS* gene can be used to predict the course of ABP.

**Keywords:** acute biliary pancreatitis, rs13041792, rs1801310, rs6088660 in the *GSS* gene

**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 individuals included in the study signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the regional Ethics Committee at Kursk State Medical university (Protocol No. 3 of 11.03.2013).

**For citation:** Samgina T.A., Kochetova L.V. Association of polymorphic loci of the *GSS* gene with the risk of acute biliary pancreatitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):64–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-64-68>.

## ВВЕДЕНИЕ

Острый билиарный панкреатит (ОБП) является осложнением желчнокаменной болезни и возникает вследствие нарушения оттока желчи и панкреатического сока, относится к группе мультифакторных заболеваний, развитие которых наступает вследствие взаимодействия генетических и средовых факторов. Поскольку в патогенезе заболевания ведущую роль выполняют ферменты поджелудочной железы, калликреин-кининовая система и цитокины, то основное количество исследований в мире посвящено изуче-

нию роли генов, ответственных за синтез именно этих ферментов [1–3]. К средовым факторам риска относят употребление жирной, жареной, острой пищи, стимулирующей экзокринную функцию поджелудочной железы, недостаточное употребление свежих овощей и фруктов, богатых витаминами и антиоксидантами, а также злоупотребление алкоголем и курение [4, 5].

Нарушения в системе редокс-гомеостаза, развивающиеся при ОБП вследствие преждевременной внутрипротоковой активации ферментов поджелудочной железы и гипертензии, приводят к повышению концентрации ионов кальция в ацинарных

клетках, именно этот механизм служит связующим звеном между активацией трипсиногена, ядерного фактора  $\kappa B$  (NF $\kappa B$ ), развитием митохондриальной дисфункции и гибелью клетки [6].

Наблюдаемое в начале развития острого панкреатита истощение внутриклеточного глутатиона [7, 8] побудило нас изучить вклад генов ферментов метаболизма глутатиона в патогенез развития ОБП. В литературе известны лишь единичные работы [9].

Основным ферментом биосинтеза глутатиона является глутатионсинтетаза, которая экспрессируется в печени и поджелудочной железе. Исследований, посвященных изучению его роли в развитии ОБП и его осложнений, в мире не проводилось.

Цель: исследовать вклад вариантов нуклеотидной последовательности rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* и некоторых средовых факторов в развитие острого билиарного панкреатита и его осложнений.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами были обследованы и пролечены 84 пациента с острым билиарным панкреатитом (24 женщины и 60 мужчин) русской национальности (самоидентифицированы), находившиеся на стационарном лечении в хирургических отделениях больниц г. Курска – клинических базах кафедры хирургических болезней № 2 – в период с 2015 по 2021 г. Материалом исследования послужили образцы крови, полученные от 84 пациентов с ОБП и 573 (161 женщина и 412 мужчин) здоровых индивидов, отобранных в процессе проведенных за этот же период медицинских профилактических осмотров. Средний возраст больных составил  $48,9 \pm 13,1$  года, здоровых лиц –  $47,8 \pm 12,1$  года. Диагностику ОБП проводили с использованием клинических рекомендаций, разработанных рабочей группой Российского общества хирургов [10]. Все участники клинического исследования подписали добровольное информированное согласие, региональный этический комитет при Курском государственном медицинском университете одобрил протокол исследования (протокол № 3 от 11.03.2013). Также все участники исследования отвечали на вопросы анкеты, с помощью которой проведен анализ влияния средовых факторов риска заболевания [11].

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Мультиплексное генотипирование SNPs проводили по технологии iPLEX на генетическом анализаторе MALDI-TOF MassARRAY-4 (AgenaBioscience, США).

Для сравнения категориальных переменных между группами использовали критерий  $\chi^2$ , для сравнения

количественных переменных – критерии Стьюдента (для нормально распределенных признаков) и Манна – Уитни (для признаков, отличных от нормальных). Поскольку распределение исследуемых количественных показателей крови статистически значимо отличалось от нормального ( $p < 0,05$ , тест Колмогорова – Смирнова), данные показатели представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_1/Q_3)$ . Для оценки влияния исследуемых SNPs на нормализованные количественные показатели использовали метод линейного регрессионного анализа.

Ассоциации аллелей и генотипов с вероятностью развития заболевания оценивали по величине отношения шансов (OR). Расчет отношения шансов и 95%-го доверительного интервала (95%CI) проводили методом логистического регрессионного анализа с коррекцией по полу и возрасту с помощью статистического пакета SNPStats. Для оценки ассоциаций ДНК-маркеров с клиническими характеристиками (клинические формы, симптомы, характер течения, степень тяжести болезни, эффективность лечения) также использовали логистический регрессионный анализ. Поправку на множественность тестов проводили процедурой пермутационных тестов ( $P_{perm}$ ) с использованием программы PLINK.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Частоты генотипов изучаемых SNPs гена *GSS* находились в равновесии Харди – Вайнберга в обеих исследуемых группах. Ассоциации изучаемых вариантов нуклеотидной последовательности с ОБП мы не обнаружили.

Проведенный анализ вклада средовых факторов риска (злоупотребление алкоголем по частоте, объему и длительности, курению, содержанию белков, жиров и углеводов в потребляемой пище) в развитие заболевания установил, что недостаточное употребление свежих овощей и фруктов (менее 27 г/сут) повышает вероятность развития ОБП у носителей генотипов G/A-A/A rs1801310 *GSS* (табл. 1). Представлены только статистически значимые результаты.

Анализ влияния SNPs на лабораторные показатели: уровень амилазы, окисленного глутатиона, лейкоцитов крови установил ассоциацию *GSS* (rs1801310) с лейкоцитозом крови (табл. 2).

В ходе исследования также было установлено, что частота генотипа GG rs1801310 *GSS* была наименьшей у пациентов с тяжелой формой острого панкреатита ( $p = 0,01$ ) в сравнении с легкой и средней степенью тяжести болезни.

Проведенный анализ ассоциаций вариантов нуклеотидных последовательностей гена *GSS* с вероятностью развития осложнений установил, что

rs6088660 *GSS* (аллель Т, OR = 1,62; 95%CI 1,14–2,29;  $p = 0,007$ ) ассоциирован с развитием гнойного парапанкреатита и формированием дигестивных свищей (аллель Т, OR = 4,54; 95%CI 1,19–17,33;  $p = 0,02$ ).

Высокая вероятность смертельного исхода наблюдалась у носителей генотипа G/A (OR = 6,76; 95%CI 1,51–30,38;  $p = 0,002$ ) rs1801310 и генотипа C/T rs6088660 (OR = 4,01; 95%CI 1,24–13,04;  $p = 0,01$ ) гена *GSS*.

Таблица 1

| Влияние употребления в пищу свежих овощей и фруктов на развитие ОБП у носителей изучаемых вариантов нуклеотидной последовательности rs1801310 гена <i>GSS</i> |                          |             |                                  |                       |             |                                  |
|---|--------------------------|-------------|----------------------------------|-----------------------|-------------|----------------------------------|
| Генотип   | Отсутствие фактора риска |             |                                  | Наличие фактора риска |             |                                  |
|   | Здоровые                 | Больные ОБП | OR (95% CI) <sup>1</sup> , $P^2$ | Здоровые              | Больные ОБП | OR (95% CI) <sup>1</sup> , $P^2$ |
| G/G   | 61 (35,5)                | 13 (40,6)   | 0,74 (0,33–1,62)<br>0,6          | 13 (59,1)             | 16 (30,8)   | 4,12 (1,38–12,28)<br>0,02        |
| G/A-A/A   | 111 (64,5)               | 19 (59,4)   |                                  | 9 (40,9)              | 36 (69,2)   |                                  |

<sup>1</sup> отношение шансов и 95%-й доверительный интервал ассоциаций SNPs с вероятностью развития болезни;

<sup>2</sup> уровень значимости для наиболее значимых генетических моделей ассоциаций SNPs с вероятностью развития заболевания.

Таблица 2

| Установленные связи исследованных SNPs гена <i>GSS</i> с количественными показателями лейкоцитов крови больных ОБП |           |            |                     |
|--|-----------|------------|---------------------|
| Показатель   | <i>Me</i> | $Q_1/Q_3$  | $p^*$               |
| <i>GSS</i> G>A (rs1801310)   | 7,50      | 6,50/11,80 | 0,0005 <sup>D</sup> |
|  | 9,10      | 6,75/15,00 |                     |
|  | 7,90      | 6,60/11,20 |                     |

Примечание. D – доминантная модель.

\*уровень статистической значимости связи SNP с нормализованными показателями крови (линейный регрессионный анализ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Нарушение в системе редокс-гомеостаза лежит в основе многих острых и хронических заболеваний, в связи с этим изучение роли генов ферментов метаболизма глутатиона заинтересовало исследователей. При изучении влияния rs1801310 гена *GSS* на риск развития миомы матки О.К. Кудрявцева и соавт. не обнаружили ассоциации локуса с заболеванием [12]. Однако были установлены ассоциации rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* с вероятностью развития ишемического инсульта у мужчин и женщин [13].

Ю.Э. Азарова и соавт. при изучении диабета 2-го типа установили ассоциацию rs13041792 и rs6088660 *GSS* с изменением уровня глюкозы крови натощак у мужчин, SNP rs6088660 *GSS* – со снижением уровня перекиси водорода у женщин и SNP rs1801310 *GSS* – со снижением уровня общего глутатиона у женщин [14]. W. Tang и соавт. установили ассоциацию rs13041792 гена *GSS* с уровнем протеина С в плазме крови [15].

Анализ коэффициентов установил корреляцию экспрессии генов ферментов метаболизма глутатиона (ГФМГ) друг с другом и генами ферментов антиоксидантной системы (*GPX2*, *GSTP1*), также обращает на себя внимание их ко-экспрессия с генами-кандидатами панкреатита. Экспрессия гена *GSS* была поло-

жительно ассоциирована с уровнем мРНК гена *GGT6* ( $r = 0,283$ ;  $p = 0,0001$ ). SNPs rs1801310 и rs6088660 ассоциировались с повышением транскрипционной активности гена *GSS* в поджелудочной железе ( $p = 0,01$ ) и печени ( $p \leq 0,05$ ). Для вариантов нуклеотидной последовательностей ГФМГ установлены многочисленные eQTLs, ассоциированные с экспрессией молекулярных шаперонов в поджелудочной железе.

Аллель А rs13041792 гена *GSS* ассоциировался с повышенной экспрессией генов *HSPE1* ( $p = 0,0056$ ;  $\beta = 0,11$ ), *HSPA1A* ( $p = 0,0032$ ;  $\beta = 0,16$ ), *HSPBP1* ( $p = 0,0037$ ;  $\beta = 0,15$ ), *HSPA4* ( $p = 0,034$ ;  $\beta = 0,095$ ), *HSPH1* ( $p = 0,026$ ;  $\beta = 0,12$ ), *DNAJ1* ( $p = 0,019$ ;  $\beta = 0,12$ ) и пониженной экспрессией *HSPA12A* ( $p = 0,0019$ ;  $\beta = -0,27$ ). Аллель Т rs6088660 *GSS* был ассоциирован с пониженной экспрессией генов шаперонов *HSPE1* ( $p = 0,030$ ,  $\beta = -0,071$ ), *HSPA1A* ( $p = 0,016$ ;  $\beta = -0,11$ ), *HSPA1B* ( $p = 0,0019$ ;  $\beta = -0,13$ ), *HSPH1* ( $p = 0,021$ ;  $\beta = -0,10$ ) и *DNAJB1* ( $p = 0,022$ ;  $\beta = -0,11$ ). Аллель G rs1801310 гена *GSS* ассоциировался с повышением мРНК гена *HSPB1* ( $p = 0,023$ ;  $\beta = 0,083$ ). Аллель G rs1801310 гена *GSS* положительно коррелировал с уровнем экспрессии гена катепсина *CTSG* ( $p = 0,048$ ;  $\beta = 0,13$ ). Аллель G rs1801310 гена *GSS* – с повышенным уровнем экспрессии генов *AMY2A* ( $p = 0,05$ ;  $\beta = 0,075$ ), *CTRL* ( $p = 0,011$ ;  $\beta = 0,081$ ), *PRSSI* ( $p = 0,043$ ;  $\beta = 0,046$ ) и *SPINK1* ( $p = 0,032$ ;  $\beta = 0,096$ ). Аллель А rs13041792 *GSS* ассоциировался с увеличением транскрипционной активности гена *SPINK1* ( $p = 0,032$ ;  $\beta = 0,096$ ). Аллель Т rs6088660 *GSS* ассоциирован с повышенным уровнем экспрессии гена *CPA3* ( $p = 0,035$ ;  $\beta = -0,12$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования мы установили, что недостаточное употребление свежих овощей и фруктов повышает вероятность развития ОБП

у носителей генотипов G/A-A/A rs1801310 GSS ( $p = 0,02$ ). Проведенный анализ ассоциаций вариантов нуклеотидной последовательности гена GSS с повышенной вероятностью развития осложнений установил ассоциацию аллеля T rs6088660 с развитием гнойного парапанкреатита ( $p = 0,007$ ) и формированием дигестивных свищей ( $p = 0,02$ ). Высокая вероятность смертельного исхода наблюдалась у носителей генотипа G/A rs1801310 ( $p = 0,002$ ) и генотипа C/T rs6088660 ( $p = 0,01$ ) гена GSS. Варианты нуклеотидной последовательности rs6088660 и rs1801310 гена GSS можно использовать для прогнозирования течения острого билиарного панкреатита.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Whitcomb D.C. Pancreatitis: TIGAR-O version 2 risk/etiology checklist with topic reviews, updates, and use primers. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 2019;10(6):27–41. DOI: 10.14309/ctg.0000000000000027.
2. Mayerle J., Sendler M., Hegyi E., Beyer G., Lerch M.M., Sahin-Tóth M. Genetics, cell biology, and pathophysiology of pancreatitis. *Gastroenterology*. 2019;156(7):1951–1968. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.11.081.
3. Дунаевская С.С., Сергеева Е.Ю., Деулина В.В., Доморацкая Е.А., Замбрицкая М.К. Роль полиморфизмов rs16944 (-511C/T) гена *IL1B* и rs1143634 (+3954 C/T) гена *IL1B* как генетических предикторов развития острого панкреатита. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2022;(8):28–34. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-204-8-28-34.
4. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Рисник Д.В., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы. *Вопросы питания*. 2017;86(4):113–124. DOI: 10.24411/0042-8833-2017-00067.
5. Исаков В.А., Морозов С.В., Пилипенко В.И. Глава 16. Лечебное питание при заболеваниях гепатобилиарной системы и поджелудочной железы. В кн.: Нутрициология и клиническая диетология; под ред. В.А. Тутельяна, Д.Б. Никитюка. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021:415–435.
6. Ачкасов Е.Е., Винник Ю.С., Дунаевская С.С. Иммунопатогенез острого панкреатита. М.: ИНФРА-М, 2021:162.
7. Rau B., Poch B., Gansauge F. Pathophysiologic role of oxygen free radicals in acute pancreatitis: initiating event or mediator of tissue damage? *Ann. Surg.* 2000;231(3):352–360. DOI: 10.1097/0000658-200003000-00008.
8. Siegmund E., Weber H., Kasper M., Jonas L. Role of PGE2 in the development of pancreatic injury induced by chronic alcohol feeding in rats. *Pancreatol.* 2003;3(1):26–35. DOI: 10.1159/000069141.
9. Schneider A., Tögel S., Barmada M., Whitcomb D.C. Genetic analysis of the glutathione s-transferase genes MGST1, GSTM3, GSTT1, and GSTM1 in patients with hereditary pancreatitis. *Journal of Gastroenterology*. 2004;39:783–787. DOI: 10.1007/s00535-004-1389-7.
10. Кубышкин В.А., Затевахин И.И., Багненко С.Ф., Благовестнов Д.А., Вишневский В.А., Гальперин Э.И. Национальные клинические рекомендации по острому панкреатиту. URL: <http://xn-9sdbdx7bduahou3a5d.xn-plai/stranica-pravlenija/unkr/urgentnaja-abdominalnaja-hirurgija/nacionalnye-klinicheskie-rekomendaci-po-ostromu-pankreatitu.html>
11. Самгина Т.А., Лазаренко В.А. Роль полиморфных вариантов rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7* и некоторых факторов а в развитии острого панкреатита. *Вопросы питания*. 2022;91(2):43–50. DOI: 10.33029/0042-8833-2022-91-2-43-50.
12. Кудрявцева О.К., Барышева Е.М., Вдовина И.Н., Клиновская А.А., Новикова Е.А., Полоников А.В. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов, вовлеченных в метаболизм глутатиона, с риском развития миомы матки. *Медицинская генетика*. 2020;19(6):52–54. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.52-54.
13. Бочарова Ю.А. Исследование ассоциаций трёх полиморфных вариантов гена глутатионсинтазы (GSS) с риском развития ишемического инсульта. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2020;6(4):476–487. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-4.
14. Azarova I., Klyosova E., Polonikov A. The link between type 2 diabetes mellitus and the polymorphisms of glutathione-metabolizing genes suggests a new hypothesis explaining disease initiation and progression. *Life*. 2021;11(9):886. DOI: 10.3390/life11090886.
15. Tang W., Basu S., Kong X., Pankow J.S., Aleksic N., Tan A. et al. Genome-wide association study identifies novel loci for plasma levels of protein C: The ARIC study. *Blood*. 2010;116:5032–5036. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283739.

### Информация об авторах

**Самгина Татьяна Александровна** – канд. мед. наук, доцент, кафедра хирургических болезней № 2, КГМУ, г. Курск, tass@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7781-3793>

**Кочетова Людмила Викторовна** – канд. мед. наук, доцент, кафедра общей хирургии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Яснецкого, г. Красноярск, e-mail: [kochetovav@bk.ru](mailto:kochetovav@bk.ru), <http://orcid.org/0000-0001-5784-7067>

(✉) Самгина Татьяна Александровна, tass@list.ru

Поступила в редакцию 01.05.2023;  
одобрена после рецензирования 26.05.2023;  
принята к публикации 14.09.2023



УДК 616.127-005.8-036.8-037-073.43-8  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-69-76>



## Роль спекл-трекинг эхокардиографии в трехмерном режиме для прогнозирования отдаленных исходов после первого инфаркта миокарда

Тимофеева Т.М.<sup>1,2</sup>, Ефимова В.П.<sup>2</sup>, Сафарова А.Ф.<sup>1,2</sup>, Кобалава Ж.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы (РУДН)  
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8

<sup>2</sup> Городская клиническая больница (ГКБ) им. В.В. Виноградова ДЗМ  
Россия, 117292, г. Москва, ул. Вавилова, 61

### РЕЗЮМЕ

**Цель:** определение роли параметров эхокардиографии в 3D-режиме (3D-ЭхоКГ) в прогнозе развития сердечно-сосудистых осложнений в отдаленном периоде у пациентов с первым острым инфарктом миокарда (ОИМ).

**Материалы и методы.** В проспективное одноцентровое наблюдательное исследование включены 46 пациентов с первым ОИМ, успешным чрескожным коронарным вмешательством без анамнеза сердечной недостаточности (СН), одышки при поступлении. Обследование пациентов выполняли в соответствии с российскими стандартами оказания медицинской помощи, дополнительно выполняли трехмерную эхокардиографию и определяли мозговой натрийуретический гормон (NT-proBNP). Основными оцениваемыми исходами были госпитализация с СН, сердечно-сосудистая смерть и комбинированная конечная точка. Медиана периода наблюдения – 554 сут, IQR 550–785.

**Результаты.** За период наблюдения зарегистрировано девять госпитализаций с СН, три сердечно-сосудистые смерти, 12 комбинированных точек. Влияния параметров 3D-ЭхоКГ на развитие сердечно-сосудистой смерти и комбинированной конечной точки не получено. Оценивали влияние изучаемых параметров на развитие СН в течение периода наблюдения, потребовавшей госпитализации. Выявлено статистически значимое повышение индекса сферичности левого желудочка в группе пациентов с зарегистрированным исходом. Выявлены значимые прямые корреляционные связи объемных показателей левого желудочка с назначением диуретиков в постгоспитальном периоде; госпитализации с СН в постинфарктном периоде с уровнем NT-proBNP, объемом левого предсердия и продолжительностью индексной госпитализации, срока бессобытийной выживаемости с элевацией ST; отрицательная корреляционная связь радиальной деформации с назначением диуретиков в постгоспитальном периоде. Выявлены предикторы госпитализации с СН в постинфарктном периоде – показатели радиальной деформации, а также деформации площади и циркулярной деформации, которые вошли в модель расчета риска наступления изучаемого исхода.

**Заключение.** У пациентов с первым ОИМ при отсутствии клинических признаков СН для расчета риска госпитализации с СН в течение 550 сут после ИМ целесообразно учитывать уровень радиальной деформации и использовать прогностическую модель (1), включающую показатели циркулярной деформации и деформации площади (по данным 3D-ЭхоКГ).

**Ключевые слова:** трехмерная эхокардиография, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность

**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.

✉ Тимофеева Татьяна Михайловна, [timtan@bk.ru](mailto:timtan@bk.ru)

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено комитетом по этике Медицинского института РУДН.

**Для цитирования:** Тимофеева Т.М., Ефимова В.П., Сафарова А.Ф., Кобалава Ж.Д. Роль спекл-трекинг эхокардиографии в трехмерном режиме для прогнозирования отдаленных исходов после первого инфаркта миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):69–76. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-69-76>.

## The role of 3D speckle-tracking echocardiography in predicting long-term outcomes after a first myocardial infarction

Timofeeva T. M.<sup>1,2</sup>, Efimova V.P.<sup>2</sup>, Safarova A. F.<sup>1,2</sup>, Kobalava Zh.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University)  
8, Mikluho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

<sup>2</sup> Vinogradov City Clinical Hospital  
61, Vavilova Str., Moscow, 117292, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To determine the role of 3D echocardiography parameters in the prognosis of long-term cardiovascular complications in patients with a first acute myocardial infarction (AMI).

**Materials and methods.** A prospective, single-center, observational study included 46 patients with a first AMI and successful PCI without a history of heart failure (HF) and shortness of breath upon admission. The examination of patients was performed in accordance with the Russian standards of medical care provision. Additionally, 3D echocardiography was performed, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) was determined. The main outcomes assessed were hospitalization with HF, sudden cardiac death, and combined endpoint. Median follow-up was 554 days (IQR 550–785).

**Results.** During the follow-up period, 9 hospitalizations with HF, 3 sudden cardiac deaths, and 12 combined endpoints were registered. The effect of 3D echocardiography parameters on the development of sudden cardiac death and combined endpoint has not been revealed. The effect of the studied parameters on the development of HF during the follow-up period that required hospitalization was evaluated. A statistically significant increase in the LV sphericity index was revealed in the group of patients with the registered outcome. We found significant direct correlations of left ventricular volume indices with prescription of diuretics in the post-discharge period; hospitalization with HF in the post-infarction period with the level of NT-pro-BNP, left atrial volume with the duration of index hospitalization, duration of eventless survival with ST elevation. We found a negative correlation of radial strain with prescription of diuretics in the post-discharge period. Predictors of hospitalization with HF in the post-infarction period were identified – parameters of radial strain, area strain, and circumferential strain, which were included in the model for calculating the risk of the outcome under study.

**Conclusion.** In patients with the first AMI in the absence of clinical signs of HF, to calculate the risk of hospitalization with HF within 550 days after MI, it is advisable to take into account the level of radial strain and use a prognostic model (1), including parameters of circumferential and area strain (according to 3D echocardiography data).

**Keywords:** three-dimensional echocardiography, myocardial infarction, heart failure

**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 individuals signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at RUDN University.

**For citation:** Timofeeva T.M., Efimova V.P., Safarova A.F., Kobalava Zh.D. The role of 3D speckle-tracking echocardiography in predicting long-term outcomes after a first myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):69–76. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-69-76>.

## ВВЕДЕНИЕ

Острый инфаркт миокарда (ОИМ) сопряжен с высоким риском развития неблагоприятных исходов: более половины выживших пациентов нуждаются в повторной госпитализации в течение этого же года [1]. Одним из ключевых факторов в формировании неблагоприятного прогноза является снижение функции левого желудочка (ЛЖ) [2], традиционно оцениваемой по фракции выброса (ФВ) ЛЖ [3]. Однако этот общепринятый показатель имеет ряд существенных ограничений, в том числе значимая меж- и внутриоператорская вариабельность, недооценка субклинической дисфункции миокарда ЛЖ. На ранней стадии недостаточность одних мышечных слоев сердца компенсируется другими, что способствует относительному сохранению ФВ ЛЖ. В последние десятилетия для более тонкой оценки систолической функции сердца используется трехмерная эхокардиография (3D-ЭхоКГ) с оценкой продольной, циркулярной, радиальной деформации и параметров ротации ЛЖ в режиме спекл-трекинг. Кроме того, определение объема ЛЖ, индекса сферичности при 3D-ЭхоКГ дает более корректные данные, свидетельствующие о раннем постинфарктном ремоделировании [4–8].

Таким образом, целью нашего исследования явилось определение роли параметров 3D-ЭхоКГ в прогнозе развития сердечно-сосудистых осложнений в отдаленном периоде у пациентов с первым ОИМ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное одноцентровое наблюдательное исследование включены 46 пациентов, госпитализированных в ОРИТ ГБУЗ ГКБ им. В.В. Виноградова. Критерии включения: первый ОИМ, диагностированный в соответствии с четвертым универсальным определением ИМ [3]; успешное первичное чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) у пациентов с ИМ с подъемом сегмента ST (ИМпST), ранним (в течение 24 ч) ЧКВ у пациентов с ИМ без подъема сегмента ST (ИМбпST), т.е. достижение кровотока TIMI III в пораженном сосуде; отсутствие анамнеза сердечной недостаточности (СН), одышки при поступлении, Killip I.

Критерии не включения: применение диуретиков и вазопрессоров, патология легких, развитие осложнений ОИМ (разрыв межжелудочковой перегородки, отрыв папиллярной мышцы), тяжелые нарушения ритма и проводимости сердца на момент включения, в том числе фибрилляция (трепетание) предсердий.

Исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской

декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» и «Правилами клинической практики в Российской Федерации». Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено комитетом по этике Медицинского института РУДН.

У всех пациентов, включенных в исследование, при поступлении проводили сбор анамнеза, стандартное физическое обследование, электрокардиографию, рентгенологическое исследование органов грудной полости, эхокардиографию (ЭхоКГ), коронароангиографию и ангиопластику со стентированием коронарных артерий. Лабораторные исследования выполняли в соответствии с российскими стандартами оказания медицинской помощи: общий и биохимический анализ крови, в том числе определяли уровень тропонина I при поступлении и через 6–12 ч после госпитализации, дополнительно – мозговой натрийуретический гормон (NT-proBNP).

ЭхоКГ выполняли на аппарате экспертного класса Vivid E90 (GE Healthcare, США) при выписке с последующей постобработкой на станции EchoPAC™ (GE Healthcare, США) с полуавтоматической оценкой ФВ ЛЖ. Диастолическую функцию ЛЖ оценивали в соответствии с современными рекомендациями [9].

Все пациенты в госпитальном периоде и в течение 1 года после выписки находились на стандартной двойной антиагрегантной терапии до и после вмешательства.

Основными оцениваемыми исходами были госпитализация с СН, сердечно-сосудистая смерть и комбинированная конечная точка. Данные были получены в единой медицинской информационно-аналитической системе, а также по данным телефонных контактов за период наблюдения (фиксированный период наблюдения 550 сут; медиана периода наблюдения (случайное цензурирование) – 554 сут (IQR 550–785)).

Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения SPSS (версия 23.0). Количественные переменные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ) (при нормальном распределении) или медианы и интерквартильного размаха ( $Me [IQR]$ ) (при асимметричном распределении). Достоверность различий между двумя группами по количественным переменным оценивали при помощи *U*-критерия Манна – Уитни (при нормальном распределении) или при помощи *t*-критерия Стьюдента (при асимметричном распределении); по качественным переменным – при помощи критериев

хи-квадрат Пирсона ( $\chi^2$ ) или точного критерия Фишера в зависимости от минимального предполагаемого числа. Значимым считали  $p < 0,05$ .

Направление и силу корреляции между показателями оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (непараметрический корреляционный анализ). Зависимость бинарных показателей от количественных и категориальных выявлялась методом бинарной логистической регрессии (одно- и многофакторный анализ) с определением отношения шансов. Для оценки прогностического значения использовали ROC-анализ с определением площади под ROC-кривой (AUC). Влияние изучаемых параметров на риск развития конечных точек оценивали при одно- и многофакторном регрессионном анализе Кокса с определением отношения рисков (HR). Количественные показатели с отрицательными значениями анализировали по модулю.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинико-демографическая, лабораторная, ЭхоКГ характеристики пациентов представлены в табл. 1.

Для выявления предикторов развития неблагоприятных исходов пациенты были разделены на группы с зарегистрированными исходами и без них. За период наблюдения зарегистрировано девять госпитализаций с СН, три сердечно-сосудистые смерти, 12 комбинированных точек. Влияния параметров 3D-ЭхоКГ на развитие сердечно-сосудистой смерти

и комбинированной конечной точки не получено. Оценивали влияние изучаемых параметров на развитие СН в течение периода наблюдения, потребовавшей госпитализации. Выявлено статистически значимое повышение индекса сферичности ЛЖ в группе пациентов с зарегистрированным исходом (табл. 2).

Таблица 1

| Характеристика пациентов, $n = 46$         |                                      |
|--|--------------------------------------|
| Показатель                                 | Значение                             |
| Возраст, лет, $M \pm SD$                   | $61,13 \pm 8,84$                     |
| Мужчины, $n$ (%)                           | 32 (69,6)                            |
| Индекс массы тела, $кг/м^2$ , $M \pm SD$   | $28,26 \pm 3,99$                     |
| Курение, $n$ (%)                           | 18 (39,1)                            |
| САД/ДАД, мм рт. ст., $M \pm SD$            | $141,10 \pm 23,86 / 81,84 \pm 12,76$ |
| Фибрилляция предсердий в анамнезе, $n$ (%) | 3 (6,5%)                             |
| ИМпСТ, $n$ (%)                             | 12 (26,1)                            |
| Передний ИМ, $n$ (%)                       | 22 (47,8)                            |
| Однососудистое поражение, $n$ (%)          | 14 (30,4)                            |
| Сахарный диабет 2-го типа, $n$ (%)         | 10 (21,7)                            |
| Дислипидемия, $n$ (%)                      | 20 (43,5)                            |
| Глюкоза, ммоль/л, $Me [IQR]$               | 6,89 [5,59; 8,70]                    |
| NT-proBNP, пг/мл, $Me [IQR]$               | 580,0 [264,60; 989,00]               |
| Тропонин 1, нг/мл, $Me [IQR]$              | 0,26 [0,03; 4,65]                    |
| Тропонин 2, нг/мл, $Me [IQR]$              | 7,79 [1,54; 30,61]                   |

Примечание. САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; тропонин 1 – при поступлении в реанимационное отделение; тропонин 2 – через 6–12 ч после госпитализации.

Таблица 2

| Сравнительная характеристика пациентов с СН с госпитализацией и без нее в отдаленном периоде ИМ, $n = 46$ |                              |                      |        |
|---|------------------------------|----------------------|--------|
| Показатель  | Госпитализация с СН, $n = 9$ | Без исхода, $n = 37$ | $p$    |
| Возраст, лет, $Me [IQR]$  | 63,0 [61,0; 73,0]            | 61,0 [57,0; 66,0]    | 0,146  |
| Мужской пол, $n$ (%)  | 6 (66,7)                     | 26 (70,3)            | 0,975  |
| ИМТ $кг/м^2$ , $M \pm SD$   | $27,60 \pm 3,27$             | $28,48 \pm 4,60$     | 0,613  |
| Курение, $n$ (%)  | 3 (33,3)                     | 18 (48,6)            | 0,539  |
| ГБ, $n$ (%)   | 9 (100,0)                    | 27 (73,0)            | 0,172  |
| Дислипидемия, $n$ (%)   | 7 (77,8)                     | 13 (35,1)            | 0,290  |
| Однососудистое поражение, $n$ (%)   | 3 (33,3)                     | 11 (29,7)            | 0,833  |
| Многососудистое поражение, $n$ (%)  | 6 (66,7)                     | 26 (70,3)            | 0,833  |
| ИМпСТ, $n$ (%)  | 3 (33,3)                     | 9 (24,3)             | 0,581  |
| ФВ ЛЖ при поступлении, %, $Me [IQR]$  | 47,0 [45,0; 54,0]            | 50,0 [45,0; 52,0]    | 0,845  |
| ФВ ЛЖ при выписке, %, $Me [IQR]$  | 52,0 [45,0; 54,0]            | 54,0 [51,0; 58,0]    | 0,265  |
| ИОЛП, $мл/м^2$ , $Me [IQR]$   | 27,0 [22,0; 40,0]            | 28,0 [21,0; 31,0]    | 0,454  |
| $E/e'$ , $Me [IQR]$   | 6,6 [5,6; 7,2]               | 6,5 [5,7; 7,9]       | 0,825  |
| СДЛА, мм рт. ст., $Me [IQR]$  | 28,0 [25,0; 36,0]            | 21,0 [14,0; 27,0]    | 0,108  |
| 3D ФВ ЛЖ, %, $Me [IQR]$   | 51,0 [47,0; 54,0]            | 51,0 [48,0; 55,0]    | 0,617  |
| 3D SpI, $M \pm SD$  | $0,38 \pm 0,04$              | $0,33 \pm 0,07$      | 0,025* |
| 3D КДО ЛЖ, $мл$ , $Me [IQR]$  | 106,0 [99,0; 152,0]          | 113,0 [98,0; 140,0]  | 0,901  |
| 3D КСО ЛЖ, $мл$ , $Me [IQR]$  | 52,00 [46,0; 78,0]           | 57,0 [48,0; 66,0]    | 0,945  |
| 3D МОК/СВ, $л/мин$ , $Me [IQR]$   | 4,5 [3,8; 4,6]               | 4,1 [3,6; 4,7]       | 0,438  |
| 2D-GLS, %, $Me [IQR]$   | -14,0 [-14,0; -12,0]         | -14,6 [-17,0; -11,0] | 0,290  |
| 3D-GLS, %, $Me [IQR]$   | -11,0 [-13,0; -7,0]          | -9,0 [-13,0; -7,0]   | 0,738  |
| 3D-циркулярная деформация, %, $Me [IQR]$  | -11,0 [-13,0; -6,0]          | -12,0 [-15,0; -10,0] | 0,309  |

| Показатель                              | Госпитализация с СН, $n = 9$ | Без исхода, $n = 37$ | $p$   |
|---|------------------------------|----------------------|-------|
| 3D-деформация площади, %, $Me [IQR]$    | $-18,84 \pm 7,21$            | $-18,8 \pm 4,97$     | 0,987 |
| 3D-радиальная деформация, %, $Me [IQR]$ | $28,00 \pm 12,87$            | $27,86 \pm 9,26$     | 0,971 |
| 3D-кручение, °, $Me [IQR]$              | $3,56 [1,3; 7,3]$            | $4,30 [1,8; 8,1]$    | 0,504 |
| 3D-скручивание, %/см, $Me [IQR]$        | $0,90 [0,30; 1,15]$          | $1,10 [0,6; 1,4]$    | 0,319 |

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; ГБ – гипертоническая болезнь; ИОЛП – индексированный объем левого предсердия;  $E/e'$  – соотношение скорости раннего наполнения левого желудочка к скорости движения фиброзного кольца митрального клапана в фазу раннего наполнения; СДЛА – систолическое давление в легочной артерии; Spl – индекс сферичности левого желудочка; КДО ЛЖ – конечно-диастолический объем левого желудочка; КСО ЛЖ – конечно-систолический объем левого желудочка; МОК/СВ – минутный объем крови/сердечный выброс; GLS – глобальная продольная деформация. \* различия показателей статистически значимы.

Полученные ассоциации клинических данных с параметрами 3D-ЭхоКГ в исследуемой группе по данным корреляционного анализа представлены табл. 3.

Таблица 3

| Ассоциации параметров 3D-эхокардиографии |   |        |         |
|--|---|--------|---------|
| 3D-параметр                              | Показатель  | $R$    | $p^*$   |
| 3D-КДО ЛЖ                                | ИМТ   | 0,324  | 0,028   |
|  | Назначение антагонистов минералкортикоидов в постгоспитальном периоде | 0,303  | 0,041   |
| 3D-КСО ЛЖ                                | 2D-GLS  | -0,520 | < 0,001 |
|  | Диуретики в постгоспитальном периоде                                  | 0,370  | 0,011   |
| 3D-Spl                                   | ГБ в анамнезе   | 0,455  | 0,001   |
| Радиальная деформация                    | ИМТ   | -0,303 | 0,040   |
|  | Диуретики в постгоспитальном периоде                                  | -0,469 | 0,001   |
| Госпитализация с СН                      | Уровень NT-pro-BNP  | 0,399  | 0,026   |
|  | ИОЛП > 34 мл/м <sup>2</sup>   | 0,422  | 0,003   |
|  | Продолжительность индексной госпитализации                            | 0,338  | 0,022   |
| Срок бессобытийной выживаемости          | Подъем сегмента ST при поступлении                                    | -0,805 | 0,050   |

\*корреляционная связь статистически значима.

Для выявления предикторов развития изучаемой конечной точки методом бинарной логистической регрессии была разработана прогностическая модель с использованием показателей 3D-ЭхоКГ (анализ также включал значимые факторы риска СН, подъем сегмента ST, локализацию ИМ, количество пораженных коронарных артерий, уровни NT-proBNP, тропонина, ФВ ЛЖ, параметры диастолической функции ЛЖ, 2D-GLS, все показатели 3D-эхокардиографии). Выявленная зависимость описывается уравнением (1):

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \times 100\%$$

$$z = 2,615 - 0,102 \times CS - 0,286 \times AS$$

где  $P$  – вероятность развития СН, требующей госпитализации (%),  $CS$  – показатель циркулярной деформации (%),  $AS$  – показатель деформации площади (%).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p = 0,004$ ). Исходя из коэффициента детерминации Найджелкерка, модель (1) определяет 35,4% дисперсии вероятности госпитализации с СН. Согласно значениям регрессионных коэффициентов, показатели циркулярной деформации и деформации площади имеют обратную связь с вероятностью госпитализации с СН. Характеристики факторов представлены в табл. 4.

Таблица 4

| Характеристики связи предикторов модели (1) с вероятностью госпитализации с СН в отдаленном периоде наблюдения у пациентов после первого ОИМ |                 |        |
|--|-----------------|--------|
| Показатель   | ОШ; 95%-й ДИ    | $p$    |
| Циркулярная деформация, %  | 0,40; 0,20–0,80 | 0,010* |
| Деформация площади, %  | 0,60; 0,41–0,89 | 0,012* |

Примечание. ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал. \* влияние предиктора статистически значимо.

Таким образом, при увеличении показателя циркулярной деформации на 1% шанс госпитализации с СН в течение 1,5 лет после первого ОИМ уменьшается в 2,49 раза; при увеличении показателя деформации площади на 1% шанс госпитализации с СН уменьшается в 1,67 раза.

На рис. 1 сопоставлены значения скорректированного отношения рисков с 95%-м ДИ для изучаемых факторов, вошедших в модель (1).

Пороговое значение логистической функции  $P$  (1) было определено с помощью метода анализа ROC-кривых. Полученная кривая представлена на рис. 2.

Площадь под ROC-кривой составила  $0,85 \pm 0,09$  (95%-й ДИ: 0,68–1,00). Значение логистической функции (1) в точке cut-off составило 26,6%. При значениях  $P$  (1) выше или равных 26,6% определялся высокий риск госпитализации с СН, а при меньших значениях  $P$  (1) – низкий риск. Чувствительность и специфичность модели (1) при данном пороговом значении составили 77,8 и 89,2% соответственно.

Таблица 5

| Пример использования прогностической модели (1) |   |   |
|---|---|---|
| Показатель                                      | Пациентка 1<br>Женщина, 64 года, ГБ<br>в анамнезе, ИМпСТ,<br>однососудистое<br>поражение  | Пациентка 2<br>Женщина, 58 лет, ГБ<br>в анамнезе, ИМпСТ,<br>однососудистое<br>поражение   |
| NT-proBNP,<br>пг/мл                             | 556   | 630   |
| Тропонин<br>1, 2, нг/мл                         | 0,98–1,46   | 0,76–1,72   |
| ЭхоКГ   | ИОЛП 29 мл/м <sup>2</sup><br>(< 34 мл/м <sup>2</sup> )<br>Исходная ФВ ЛЖ 44%<br>2D GLS 16%<br>CS 12,2%<br>AS 18,8%                  | ИОЛП 32 мл/м <sup>2</sup><br>(< 34 мл/м <sup>2</sup> )<br>Исходная ФВ ЛЖ 40%<br>2D GLS 10%<br>CS 6%<br>AS 9,8%                            |
| Значение $p$                                    | $z = 2,615 - 0,102 \times 12,2 - 0,286 \times 18,8 = -4$<br>$e^{(-4)} = e^4 = 54,9$<br>$p = 1/55,9 = 1,8\%$<br>(<23,8%) Риск низкий | $z = 2,615 - 0,102 \times 6 - 0,286 \times 9,8 = -0,8$<br>$e^{(-0,8)} = e^{0,8} = 2,23$<br>$p = 1/3,23 = 31,0\%$<br>(>23,8%) Риск высокий |
| Госпитализация с СН                             | Не зарегистрирована   | Зарегистрирована через 291 сут  |

Таблица 6

| Характеристики предикторов госпитализации с СН в отдаленном периоде наблюдения у пациентов после первого ОИМ |                   |        |
|--|-------------------|--------|
| Показатель   | HR; 95%-й ДИ      | $p$    |
| Циркулярная деформация, %  | 0,76; 0,597–0,968 | 0,026* |
| Радиальная деформация, %   | 0,91; 0,831–0,995 | 0,039* |

Примечание. HR – hazard ratio, отношение риска.  
\* влияние предиктора статистически значимо.

Согласно полученным данным, при повышении показателя циркулярной деформации на 1% риски развития исходной точки снижаются в 1,32 раза, радиальной деформации – в 1,1 раза.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании у пациентов с первым ОИМ с подъемом сегмента ST и без него в анамнезе СН изучены неинвазивные параметры объемов, геометрии и деформации миокарда ЛЖ по данным 3D-ЭхоКГ и установлена их прогностическая ценность в отношении развития сердечно-сосудистых осложнений в течение 1,5 лет.

У пациентов, госпитализированных с СН в течение 1,5 лет после ОИМ, показано значимое повышение индекса сферичности ЛЖ по данным 3D-ЭхоКГ. Этот результат согласуется с исследованием H.F. Mannaerts и соавт., в которое были включены 33 пациента с ОИМ; наблюдение продолжалось в течение 12 мес. Отмечено, что индекс сферичности является наиболее сильным эхокардиографическим

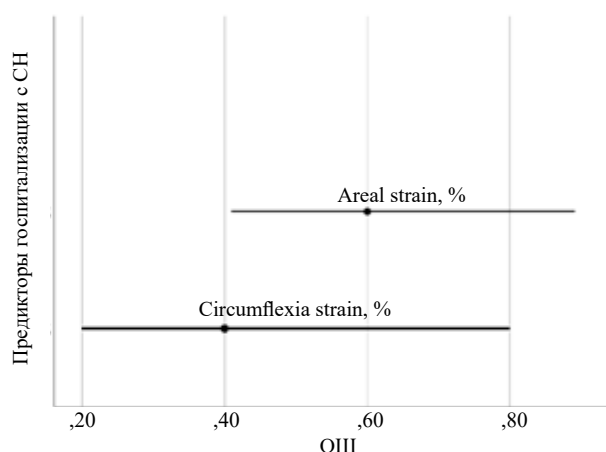
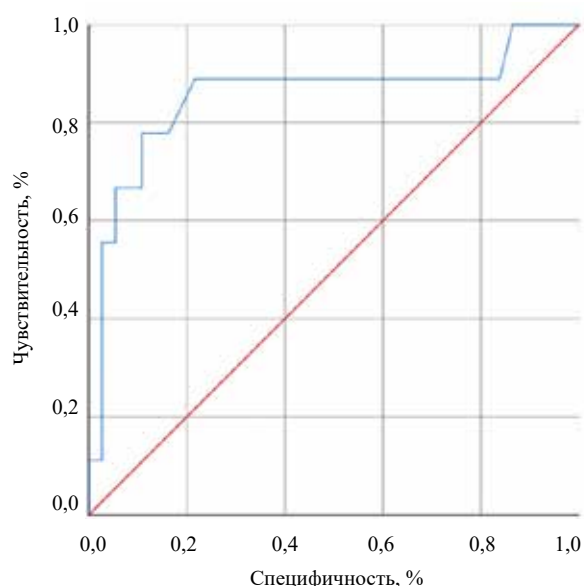


Рис. 1. Оценка отношения рисков с 95%-м ДИ для изучаемых предикторов модели (1) госпитализации с СН



$P_2 > 26,6\%$ ; чувствительность 77,8%, специфичность 89,2%,  $p = 0,026$ ,  $AUC = 0,85$

Рис. 2. ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности госпитализации с СН от значений прогностической функции (1)

В табл. 5 представлен пример использования прогностической модели (1) у двух пациенток с первым ОИМ. Мы рассчитали значения логистической регрессии  $P$  (1) с учетом значений предикторов и сделали вывод о высоком и низком риске. У пациентки 2 с высоким по результатам использования модели риском была зарегистрирована госпитализация с СН на 291-е сут наблюдения.

При однофакторном анализе зависимости изменения рисков госпитализации с СН от параметров 3D-ЭхоКГ с помощью метода регрессии Кокса были получены статистически значимые предикторы развития данной конечной точки (табл. 6).

предиктором неблагоприятного постинфарктного ремоделирования ЛЖ [6].

В исследовании R.K. Ola и соавт. также была показана информативность 3D-параметров, а именно конечно-диастолического объема ЛЖ и индекса сферичности как предикторов ремоделирования миокарда. Эти показатели были исследованы авторами на 7-е сут и через 6 мес после острого ИМпСТ. Наличие неблагоприятного ремоделирования определялось как увеличение КДО ЛЖ, измеренного с помощью 3D-ЭхоКГ, на 15% и более через 6 мес. Получено, в частности, что индекс сферичности в группе с неблагоприятным постинфарктным ремоделированием был значимо больше, чем в группе с сохранным ЛЖ ( $0,41 \pm 0,05$  и  $31 \pm 0,05$  соответственно;  $p < 0,001$ ), но снижался в обеих группах через 6 мес наблюдения ( $0,35 \pm 0,05$  и  $28 \pm 0,05$  соответственно;  $p < 0,001$ ). Таким образом, авторы делают вывод, что определение индекса сферичности позволяет на раннем этапе выявить пациентов с высоким риском развития неблагоприятного ремоделирования миокарда после ОИМ [7]. Аналогичные результаты были получены в исследовании M.L. Vieira и соавт. [10].

Предикторами развития СН, потребовавшей госпитализации в течение 1,5 лет постинфарктного периода, по данным многофакторного бинарного регрессионного анализа, в нашем исследовании стали показатели циркулярной деформации и деформации площади. При увеличении показателя циркулярной деформации на 1% шанс госпитализации с СН в течение 1,5 лет после первого ОИМ уменьшается в 2,49 раза. При увеличении показателя деформации площади на 1% – в 1,67 раза; радиальной деформации – в 1,1 раза. Эти факторы вошли в разработанную нами прогностическую модель ( $p = 0,004$ ). Согласно результатам однофакторного регрессионного анализа Кокса, при повышении показателя циркулярной деформации на 1% риски развития конечной точки снижаются в 1,32 раза ( $p = 0,026$ ), радиальной деформации – в 1,1 раза ( $p = 0,039$ ).

Опубликован ряд исследований, также описывающих применение показателей деформации, измеренных с помощью 3D-ЭхоКГ, у пациентов после ОИМ. В исследование L. Xu и соавт. были включены 110 пациентов, перенесших ИМпСТ, которым было выполнено первичное ЧКВ. Всем пациентам проводилась 3D-ЭхоКГ с определением продольной, радиальной и циркулярной деформации в трехмерном режиме, продольной деформации и традиционных ЭхоКГ-параметров в двумерном режиме. Аналогично нашим результатам было

получено, что 3D- и 2D-продольная деформация, а также 3D-радиальная деформация являются независимыми предикторами ремоделирования ЛЖ [11]. В исследовании A. Sugano и соавт. было подтверждено, что изменение циркулярной деформации является предиктором неблагоприятного ремоделирования ЛЖ. А также показано по данным магнитно-резонансной томографии, что ее снижение ассоциировано с наличием микроваскулярной обструкции у пациентов, перенесших ИМпСТ и первичное ЧКВ. Данное наблюдение имеет большое значение, поскольку известно, что наличие микроваскулярной обструкции является также независимым предиктором неблагоприятного ремоделирования ЛЖ [12].

В работе N. Iwahashi и соавт. [13], как и в нашем исследовании, изучался прогноз в отношении развития сердечной смерти, госпитализации с СН у пациентов с ИМпСТ и ЧКВ по данным 3D-ЭхоКГ. Выявлено, что показатели трехмерного исследования были более сильными предикторами исходов по сравнению с показателями двухмерной ЭхоКГ. В частности, 3D-продольная деформация была самым сильным предиктором, за которым следовала циркулярная деформация. Показатель 3D-GLS более  $-11,0\%$  был независимым предиктором изучаемых исходов ( $\chi^2 = 132,2$ ;  $p < 0,001$ ). Обнаружено, что в сочетании с циркулярной деформацией более  $-18,3\%$  пациенты имеют чрезвычайно высокий риск неблагоприятных исходов. В другом исследовании этой группы авторов [14] изучалась клиническая и прогностическая значимость показателей 3D-ЭхоКГ, полученных в динамике у 272 пациентов с первым ИМпСТ и ЧКВ. Пациенты наблюдались в среднем 108 мес. Первичной конечной точкой было возникновение «больших сердечно-сосудистых событий»: сердечная смерть и СН, требующая госпитализации. Показано, что ухудшение 2D-GLS и 3D-GLS в динамике за 1 год было значимым прогностическим фактором ( $\chi^2 = 36,7$ ;  $p < 0,001$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с первым ОИМ независимо от ФВ ЛЖ при поступлении при отсутствии клинических признаков СН для расчета риска госпитализации с СН в течение 550 сут после ИМ целесообразно учитывать уровень радиальной деформации и использовать прогностическую модель (1), включающую показатели циркулярной деформации и деформации площади (по данным 3D-ЭхоКГ). При значениях  $P(1) > 26,6\%$  определяется высокий риск госпитализации с СН (чувствительность и специфичность 77,8 и 89,2% соответственно).

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Пракопчик И.В., Гуревич О.В. Методы определения неблагоприятного прогноза после инфаркта миокарда. *Вестник Смоленской медицинской академии*. 2008;2:50–52.
2. Su W., Wang M., Zhu J., Li W., Ding X., Chen H. et al. Underweight predicts greater risk of cardiac mortality post acute myocardial infarction. *Int. Heart J.* 2020;61(4):658–664. DOI: 10.1536/ihj.19-635.
3. Ibanez B., James S., Agewall S., Antunes M.J., Bucciarelli-Ducci C., Bueno H. et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2018;39(2):119–177. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx393.
4. Benamer N., Arous Y., Ben Abdallah N., Kraiem T. Comparison between 3D echocardiography and cardiac magnetic resonance imaging (CMRI) in the measurement of left ventricular volumes and ejection fraction. *Curr. Med. Imaging Rev.* 2019;15(7):654–660. DOI: 10.2174/1573405614666180815115756.
5. Zhao L., Lu A., Tian J., Huang J., Ma X. Effects of different LVEF assessed by echocardiography and CMR on the diagnosis and therapeutic decisions of cardiovascular diseases. *Front. Physiol.* 2020;11:679. DOI: 10.3389/fphys.2020.00679.
6. Mannaerts H.F., van der Heide J.A., Kamp O., Stoel M.G., Twisk J., Visser C.A. Early identification of left ventricular remodelling after myocardial infarction, assessed by transthoracic 3D echocardiography. *Eur. Heart J.* 2004;25(8):680–687. DOI: 10.1016/j.ehj.2004.02.030.
7. Ola R.K., Meena C.B., Ramakrishnan S., Agarwal A., Bhargava S. Detection of left ventricular remodeling in acute ST elevation myocardial infarction after primary percutaneous coronary intervention by two dimensional and three dimensional echocardiography. *J. Cardiovasc. Echogr.* 2018;28(1):39–44. DOI: 10.4103/jeecho.jeecho\_32\_17.
8. Muraru D., Niero A., Rodriguez-Zanella H., Cherata D., Badano L. Three-dimensional speckle-tracking echocardiography: benefits and limitations of integrating myocardial mechanics with three-dimensional imaging. *Cardiovasc. Diagn. Ther.* 2018;8(1):101–117. DOI: 10.21037/cdt.2017.06.01.
9. Nagueh S.F., Smiseth O.A., Appleton C.P., Byrd B.F. 3<sup>rd</sup>, Dokainish H., Edvardsen T. et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of cardiovascular imaging. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2016;29(4):277–314. DOI: 10.1016/j.echo.2016.01.011.
10. Vieira M.L., Oliveira W.A., Cordovil A., Rodrigues A.C., Mónico C.G., Afonso T. et al. 3D Echo pilot study of geometric left ventricular changes after acute myocardial infarction. *Arq Bras. Cardiol.* 2013;101(1):43–51. DOI: 10.5935/abc.20130112.
11. Xu L., Huang X., Ma J., Huang J., Fan Y., Li H. et al. Value of three-dimensional strain parameters for predicting left ventricular remodeling after ST-elevation myocardial infarction. *Int. J. Cardiovasc. Imaging.* 2017;33(5):663–673. DOI: 10.1007/s10554-016-1053-3.
12. Sugano A., Seo Y., Ishizu T., Watabe H., Yamamoto M., Machino-Ohtsuka T. et al. Value of 3-dimensional speckle tracking echocardiography in the prediction of microvascular obstruction and left ventricular remodeling in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circ. J.* 2017;81(3):353–360. DOI: 10.1253/circj.CJ-16-0944.
13. Iwashita N., Kirigaya J., Gohbara M., Abe T., Horii M., Hanajima Y. et al. Global strain measured by three-dimensional speckle tracking echocardiography is a useful predictor for 10-year prognosis after a first ST-elevation acute myocardial infarction. *Circ. J.* 2021;85(10):1735–1743. DOI: 10.1253/circj.CJ-21-0183.
14. Iwashita N., Horii M., Kirigaya J., Abe T., Gohbara M., Toya N. et al. Clinical usefulness of the serial examination of three-dimensional global longitudinal strain after the onset of ST-elevation acute myocardial infarction. *Circ. J.* 2022;86(4):611–619. DOI: 10.1253/circj.CJ-21-0815.

## Информация об авторах

**Тимофеева Татьяна Михайловна** – канд. мед. наук, ассистент, кафедра 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, timtan@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6586-7404>

**Ефимова Виктория Павловна** – канд. мед. наук, зав. отделением функциональной диагностики, ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ, г. Москва, efimovavp@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4389-9752>

**Сафарова Айтэн Фуад кызы** – д-р мед. наук, профессор, кафедра 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>

**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/0000-0002-5873-1768>

(✉) Тимофеева Татьяна Михайловна, timtan@bk.ru

Поступила в редакцию 22.08.2023;  
одобрена после рецензирования 06.09.2023;  
принята к публикации 16.11.2023

УДК 616.24-002.592-071:616.15:577.15  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-77-84>



## Показатели системы «матриксные металлопротеиназы и ингибиторы» периферической крови в оценке клинического течения туберкулемы легких

Эсмедляева Д.С.<sup>1</sup>, Алексеева Н.П.<sup>2</sup>, Дьякова М.Е.<sup>1</sup>, Каростик Д.В.<sup>1</sup>, Григорьев И.В.<sup>2</sup>, Соколов Е.Г.<sup>3, 4, 5</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (СПб НИИФ)  
Россия, 191036, г. Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2-4

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ)  
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

<sup>3</sup> НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова  
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, 68

<sup>4</sup> Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний (НМИЦФтиИФ)  
Россия, 127473, г. Москва, ул. Достоевского, 4/2

<sup>5</sup> Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования  
125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить возможность использования показателей системы «матриксные металлопротеиназы (ММП) / ингибиторы периферической крови» в оценке клинического течения туберкулемы легкого.

**Материалы и методы.** Обследованы 87 больных (55 мужчин и 32 женщины), средний возраст 33 [28; 43] года, с бактериологически и морфологически верифицированным диагнозом «туберкулема», находившихся на лечении в ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России. Всем пациентам выполнены компьютерная томография органов грудной клетки, фибробронхоскопия и оценка функции внешнего дыхания (ФВД). В сыворотке крови определяли концентрации ММП-1, -8, -9 и их тканевого ингибитора ТИМП-1 методом ELISA (R&D Systems, США), а также активность  $\alpha$ 2-макроглобулина (МГ) энзиматическим методом по торможению гидролиза N-бензоил-L-аргининэтилового эфира. Применяли Statistica 10.0 и R.

**Результаты.** В исследуемой группе единичные и множественные туберкулемы определены в 37 и 63% случаев соответственно, наличие распада – в 50%, нарушения ФВД – в 48% и неспецифические поражения трахеобронхиального дерева в виде катарального эндобронхита (КЭБ) – в 77% случаев. Табакокурильщики (ТК) выявлены в 69% случаев. Выделено четыре комбинации (паттерна) из характеристик, принятых для клинко-рентгенологической оценки активности специфического процесса, соответствующие различной степени повышения концентраций ММП в периферической крови. Показано, что повышение уровня ММП-1 и ММП-9 может являться предиктором прогрессирования туберкулемы, обусловленного распространенным процессом с наличием распада и бронхогенной диссеминации (паттерны № 1, 2). Изменения уровня ММП-8, ТИМП-1 или МГ отражают значимость вклада перманентного воздействия неспецифического компонента воспаления (ТК или КЭБ) в оценку тяжести специфического процесса и не исключают возможность его прогрессирования (паттерны № 3, 4).

**Заключение.** Изменения показателей системы «ММП / ингибиторы периферической крови» могут быть использованы в качестве объективных лабораторных белковых биомаркеров для оценки клинического течения специфического процесса при туберкулезе легких.

✉ Эсмедляева Диляра Салиевна, [diljara-e@yandex.ru](mailto:diljara-e@yandex.ru)

**Ключевые слова:** внеклеточный матрикс, матриксные металлопротеиназы, ингибиторы протеиназ, туберкулема легких

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

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

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СПб НИИФ (протокол № 9 от 15.09.2016).

**Для цитирования:** Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Дьякова М.Е., Каростик Д.В., Григорьев И.В., Соловьев Е.Г. Показатели системы «матриксные металлопротеиназы и ингибиторы» периферической крови в оценке клинического течения туберкулемы легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):77–84. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-77-84>.

## Parameters of the mmp / timp system in assessing the clinical course of pulmonary tuberculoma

Esmedlyayeva D.S.<sup>1</sup>, Alekseeva N.P.<sup>2</sup>, Dyakova M.Ye.<sup>1</sup>, Karostik D.V.<sup>1</sup>, Grigoriev I.V.<sup>2</sup>, Sokolovich E.G.<sup>3,4,5</sup>

<sup>1</sup> St. Petersburg Research Institute of Phthiopulmonology  
2–4, Ligovsky Av., Saint Petersburg, 191036, Russian Federation

<sup>2</sup> St. Petersburg University  
7/9, Universitetskaya Emb., Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

<sup>3</sup> N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology  
68, Leningradskaya Str., Saint Petersburg, 197758, Russian Federation

<sup>4</sup> National Medical Research Center for Phthiopulmonology and Infectious Diseases  
2/4, Dostoevskogo Str., Moscow, 127473, Russian Federation

<sup>5</sup> Russian Medical Academy for Continuing Professional Education  
2/1 Barrikadnaya Str., Build. 1, Moscow, 125993, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To study the parameters of the matrix metalloproteinase (MMP) / tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP) system in assessing the clinical course of pulmonary tuberculoma.

**Materials and methods.** We examined 87 patients (55 men and 32 women), average age 33 [28; 43] years, with a morphologically and bacteriologically confirmed diagnosis of tuberculoma, who received treatment at St. Petersburg Research Institute of Phthiopulmonology. In all patients, computed tomography of the chest, fiberoptic bronchoscopy, and lung function tests were performed. In the blood serum, concentrations of MMP-1, -8, -9, and their tissue inhibitor TIMP-1 were determined using ELISA (R&D Systems, USA), and the activity of  $\alpha_2$ -macroglobulin (MG) was determined by the enzyme assays. For statistical data processing, Statistica 10.0 and R were used.

**Results.** In the study group, single and multiple tuberculomas were revealed in 37 and 63% of cases, respectively, necrotic areas – in 50% of patients, external respiration disorders – in 48% of cases, and catarrhal bronchitis (CB) – in 77% of cases. Tobacco smokers (TS) were identified in 69% of cases. Significant differences between MMP concentrations allowed us to distinguish four patterns from the characteristics adopted for the clinical and radiological assessment of disease intensity. It was shown that an increase in the levels of MMP-1 and MMP-9 can be a predictor of tuberculoma progression caused by a diffuse process with necrotic areas and bronchogenic

dissemination (pattern 1, 2). Changes in the levels of MMP-8, TIMP-1 or MG (pattern 3, 4) were associated with permanent exposure to a non-specific component of inflammation (TS or CB).

**Conclusion.** Changes in the MMP / TIMP system parameters can be used as objective laboratory protein biomarkers to assess the clinical course of pulmonary tuberculoma.

**Keywords:** extracellular matrix, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, pulmonary tuberculoma

**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 individuals signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology (Protocol No. 9 of 15.09.2016).

**For citation:** Esmedlyaeva D.S., Alekseeva N.P., Dyakova M.Ye., Karostik D.V., Grigoriev I.V., Sokolovich E.G. Parameters of the mmp / timp system in assessing the clinical course of pulmonary tuberculoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):77–84. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-77-84>.

## ВВЕДЕНИЕ

Туберкулема легких – клиническая форма туберкулеза, объединяющая в себе разные по генезу инкапсулированные казеозные фокусы величиной более 1,0 см в диаметре, которые рентгенологически характеризуются как синдром округлой тени. Источником формирования туберкулем в основном служат инфильтративный и очаговый туберкулез легких [1]. Кроме того, туберкулема может имитировать заполненную казеозом каверна при кавернозном туберкулезе (казеома). Удельный вес туберкулемы в структуре туберкулеза легких в России составляет около 10%.

Клинические варианты течения туберкулемы отражают морфологические различия в развитии специфического воспаления. В случае регрессирующего течения туберкулема представляет собой результат разрешения более обширного инфильтративно-пневмонического воспаления в процессе его угасания и отграничения, казеозный некроз при этом носит гомогенный характер, иногда с очагами кальцинации (гомогенные туберкулемы). В случаях прогрессирующего течения, напротив, туберкулема представлена разрастающимся из центра к периферии казеозно-пневмоническим процессом, без грубой инкапсуляции и часто без выраженных клинических проявлений (слоистая туберкулема) [2, 3].

Оценка направленности развития специфического процесса при туберкулеме сохраняет клиническую актуальность, так как вследствие ограниченного туберкулезного воспаления, как правило, отсутствуют признаки интоксикации, а нередко и бактериовыделение. Сформированная фиброзная капсула препятствует проникновению в очаг воспа-

ления противотуберкулезных химиопрепаратов. Лучевые признаки активности воспаления при наличии фиброзной капсулы ограничены и требуют оценки размеров туберкулемы в динамике 2–3 мес [4].

Потенциальная опасность наличия туберкулемы без бактериовыделения определяется вероятностью ее прогрессирования в связи с возможной лекарственной устойчивостью возбудителя и риска прерывания больным лечения ввиду субъективности самооценки состояния. Морфологическое исследование операционного материала с определением его активности является наиболее объективным методом для прогноза направленности развития туберкулезного воспаления. При этом инвазивные методы получения биологического материала имеют свои ограничения и противопоказания, поэтому поиск белковых биомаркеров будет способствовать расширению арсенала методов объективной оценки клинического течения специфического процесса [5].

В основе различных фаз клинического течения туберкулемы лежат изменения легочной паренхимы, опосредованные нарушениями метаболизма внеклеточного матрикса соединительной ткани (ВКМ), характеризующиеся увеличением объема поражения, распада, истончения капсулы туберкулемы или ее фиброзной трансформации [5]. Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству внеклеточных цинк-зависимых протеолитических ферментов, участвующих в метаболизме внеклеточного матрикса (ВКМ), и являются конечными эффекторами врожденной воспалительной реакции. Патологическая роль ММП связана с их участием в развитии и поддержании воспаления, моделированием

эффектов цитокинов, факторов роста и гормонов, что позволяет рассматривать их не только в качестве маркеров деструкции и ремоделирования соединительной ткани, но и, возможно, активности воспалительного процесса. Согласно субстратной специфичности, выделяют различные семейства ММП: коллагеназы, желатиназы, стромелизины и др. [6].

Инфицирование клеток *M. tuberculosis* приводит к повышению экспрессии про-ММП, вызывая нарушение баланса между активированными ММП и их ингибиторами, способствует деструкции легочной ткани и диссеминации [7]. Нарушение равновесия в системе «ММП – ингибиторы» лежит в основе структурных изменений легочной паренхимы, определяя функциональные нарушения системы дыхания (ФВД) при различных заболеваниях легких и туберкулезе в том числе [8, 9].

Важным условием получения значимых прогностических данных является адекватный выбор методов статистической обработки материала. Применение симптомного анализа оказывается эффективным тогда, когда для итоговой характеристики требуется оценить набор данных, информативных только в комплексе [10]. Преимуществом этого метода является возможность формировать группы, различающиеся по совокупности характеристик, которые не выявляются при их изолированной оценке.

Цель – изучить возможность использования показателей системы «матриксные металлопротеиназы – ингибиторы» периферической крови в оценке клинического течения туберкулемы легкого.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с 2017 по 2021 г. в исследование были включены 87 больных (55 мужчин и 32 женщины), средний возраст составил 33 [28; 43] года, с бактериологически и морфологически верифицированным диагнозом «туберкулема легких», находившихся на лечении в ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России. Критериями исключения служили наличие сахарного диабета, хронической обструктивной болезни легких, беременность. Контрольную группу составили 20 практически здоровых доноров с сопоставимыми по полу и возрасту характеристиками. В большинстве (95%) случаев туберкулемы сформировались в ходе инволюции инфильтративного туберкулеза легких на фоне длительной химиотерапии до 1 года. При наличии бактериовыделения до момента начала лечения в 90% случаев выявлены штаммы возбудителя с множественной лекарственной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам.

Методом твердофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли concentra-

ции коллагеназ – ММП-1 и ММП-8, желатиназы – ММП-9 и их тканевого ингибитора-1 (ТИМП-1) с использованием наборов реагентов (R&D Systems, США) согласно протоколу производителя. Активность  $\alpha_2$ -макроглобулина (МГ) определяли энзиматическим методом по торможению гидролиза N-бензоил-L-аргининэтилового эфира (ICN, Biomedicals Inc., США).

Всем больным была выполнена компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки. Исследование проводили на 64-рядном мультidetекторном компьютерном томографе-сканере Somatom Sensation (Siemens, Германия) с оценкой структурных изменений легочной паренхимы (пакет прикладных программ Lung Nodule Analysis (LUNA16) и Lung Volume Analysis (Canon Medical Informatics, Inc., США)) [11]. Исследование ФВД (спирометрия и бодиплетизмография) проводили с помощью диагностического комплекса MasterScreen (Viasys Healthcare, Германия) в соответствии со стандартами Американского торакального и Европейского респираторного обществ (ATS/ERS) [12]. Фибробронхоскопию (ФБС) по стандартному протоколу для гибкой бронхоскопии проводили с использованием бронхофиброскопа BF-B2 (Olympus, Япония).

Для статистического анализа использовали пакеты прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и R (свободная программная среда вычислений с открытым исходным кодом). Для ряда метрических переменных (показатели системы «ММП – ингибиторы») применяли логарифмическое шкалирование (*Log*), снижающее асимметрию распределений. Данные представлены в виде медианы (*Me* или *MeLog*) и интерквартильного размаха ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ). Применяли критерий Вилкоксона – Манна – Уитни, коэффициент корреляции Спирмена (*r*). При помощи симптомного анализа были выявлены наиболее значимые для показателей системы «ММП – ингибиторы» паттерны, представляемые в виде логических функций от категориальных показателей [10]. Паттерн в данном случае рассматривался как сочетание характеристик лучевых, функциональных и эндоскопических методов исследований, представленных в виде некоторой логической функции, описываемой полиномом над конечным полем характеристики два. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом «СПб НИИФ» Минздрава России (протокол № 9 от 15.09.2016).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемая группа пациентов с туберкулемой была неоднородна по результатам инструментальных методов исследования: наличие распада отме-

чалось в половине случаев, у 54 (63%) пациентов рентгенологически выявлялись множественные фокусы. Медиана суммарного объема фокусов составила 5 700 мм<sup>3</sup> [2 920; 13 600], а суммарного объема зоны распада – 192 мм<sup>3</sup> [0; 590]. Основные показатели, характеризующие вентиляционную способность, находились в пределах допустимых диапазонов, хотя нарушения проходимости дыхательных путей выявлялись у каждого второго пациента (табл. 1).

Таблица 1

| Показатели функции внешнего дыхания в группе пациентов с туберкулезом |   |                        |
|---|---|------------------------|
| Показатель  | <i>Me [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>], p</i> | Условная граница нормы |
| ФЖЕЛ, % от должной  | 108,85 [95,80; 121], >0,05                  | 80–120                 |
| ОФВ <sub>1</sub> , % от должной                                       | 99,75 [93,0; 100,2], >0,05                  | 80–120                 |
| Индекс Генслера, %  | 78,6 [71,4; 84,], >0,05                     | >70                    |
| СОС <sub>25–75</sub> , % от должной                                   | 77,0 [56,0; 94,0], >0,05                    | >60                    |

Примечание. ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха за 1 с; индекс Генслера = ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ (модификация индекса Тиффно); СОС<sub>25–75</sub> – средняя объемная скорость форсированного выдоха от 25 до 75% ФЖЕЛ; *p* – уровень статистической значимости различий с нормой (*U*-критерий Манна – Уитни).

Среди нарушений ФВД преобладал обструктивный тип (60%), рестриктивный вариант был выявлен в единичных случаях (7,1%), тогда как смешанный тип нарушения вентиляции отсутствовал.

Неспецифические изменения слизистой оболочки бронхов с картиной катарального эндобронхита (КЭБ) были отмечены у 67 пациентов (77%). Табакокурение (ТК) в анамнезе выявлено более чем у половины пациентов (69%). Медиана индекса курильщика составила 15 пачка/лет [6,30; 22,50], а средний стаж курения свыше 10 лет был выявлен в 87% случаев.

Специфический процесс в группе пациентов с туберкулезом характеризовался значимым увеличением концентраций коллагеназ (ММП-1 и ММП-8) и желатиназы ММП-9 в периферической крови. Рост уровня протеиназ происходил на фоне снижения ингибиторной активности МГ (*p* = 0,00003) и отсутствия изменений концентрации другого ингибитора ММП – ТИМП-1, что свидетельствовало о смещении баланса в системе «ММП – ингибиторы» в сторону протеолиза (табл. 2). Согласно результатам бинарной оценки, ни одна из характеристик клинко-рентгенологической активности туберкулеза не сопровождалась значимыми различиями в уровнях изучаемых биомаркеров (табл. 3).

Таблица 2

| Уровень показателей системы «ММП – ингибиторы» в периферической крови пациентов с туберкулезом, <i>Me [Q<sub>2</sub>; Q<sub>3</sub>]</i> |                          |                      |          |
|--|--------------------------|----------------------|----------|
| Аналиты  | Пациенты с туберкулезом  | Контрольная группа   | <i>p</i> |
| ММП-1Log, нг/мл  | 1,74 [1,31; 2,30]        | 1,17 [0,89; 1,72]    | 0,002    |
| ММП-8Log, нг/мл  | 3,27 [2,64; 3,94]        | 2,58 [2,22; 2,70]    | 0,003    |
| ММП-9, нг/мл   | 1638,00 [50,80; 2557,69] | 71,99 [51,33; 73,94] | 0,00004  |
| ТИМП-1Log, нг/мл   | 6,72 [6,58; 6,89]        | 6,66 [6,55; 6,80]    | 0,05     |
| МГ, нмоль/мин  | 1,70 [1,40; 2,16]        | 3,00 [2,46; 3,28]    | 0,00003  |

Примечание. Уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой – *p* (*U*-критерий Манна – Уитни).

Таблица 3

| Уровень показателей системы «ММП – ингибиторы» в зависимости от клинко-рентгенологических характеристик воспалительного процесса пациентов с туберкулезом, <i>Me и MeLog [Q<sub>2</sub>; Q<sub>3</sub>]</i> |   |                   |                   |                            |                   |                   |
|---|---|-------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|
| Патологические изменения  |   | Аналиты           |                   |                            |                   |                   |
|   |   | ММП-1Log, нг/мл   | ММП-8Log, нг/мл   | ММП-9, нг/мл               | ТИМП-1Log, нг/мл  | МГ, нмоль/мин     |
| Распад туберкулем   | 1 | 1,57 [1,02; 2,09] | 3,15 [2,59; 3,83] | 1721,00 [950,00; 2665,00]  | 6,68 [6,57; 6,84] | 1,94 [1,35; 2,25] |
|   | 2 | 1,85 [1,46; 2,37] | 3,50 [3,21; 3,93] | 1771,00 [950,00; 2665,00]  | 6,77 [6,60; 6,93] | 1,90 [1,57; 2,10] |
| Число туберкулем  | 1 | 1,84 [1,41; 2,23] | 3,12 [2,73; 3,50] | 1544,00 [924,00; 2343,00]  | 6,74 [6,61; 6,92] | 1,84 [1,38; 2,10] |
|   | 2 | 1,96 [1,48; 2,46] | 3,39 [3,07; 3,98] | 1905,00 [1140,00; 2643,00] | 6,71 [6,59; 6,89] | 2,04 [1,43; 2,25] |
| Нарушения вентиляции  | 1 | 1,54 [1,02; 1,96] | 3,51 [3,36; 3,64] | 1823,00 [1079,00; 2638,00] | 6,74 [6,57; 6,98] | 2,09 [1,35; 2,78] |
|   | 2 | 1,89 [1,38; 2,74] | 3,49 [3,07; 3,89] | 1769,00 [1100,00; 2185,00] | 6,68 [6,59; 6,83] | 1,96 [1,43; 2,16] |
| Катаральный эндобронхит   | 1 | 1,84 [1,41; 2,24] | 3,60 [2,77; 4,44] | 1355,00 [761,00; 2036,00]  | 6,58 [6,52; 6,82] | 2,09 [1,35; 2,78] |
|   | 2 | 1,80 [1,36; 2,27] | 3,21 [2,68; 3,76] | 1778,00 [1058,00; 1778,00] | 6,75 [6,65; 6,93] | 1,96 [1,43; 2,16] |
| Табакокурение   | 1 | 1,74 [1,01; 2,46] | 3,03 [2,72; 3,42] | 1574,00 [651,00; 2447,00]  | 6,59 [6,54; 6,78] | 2,30 [1,59; 2,99] |
|   | 2 | 1,85 [1,56; 2,26] | 3,53 [3,05; 3,98] | 1863,00 [1186,00; 2376,00] | 6,73 [6,59; 6,93] | 1,98 [1,50; 2,20] |

Примечание. 1 – отсутствие распада, единичные туберкулемы, отсутствие нарушений вентиляции, катарального эндобронхита, некурящие пациенты; 2 – наличие распада, множественные туберкулемы, наличие нарушений вентиляции, катарального эндобронхита, табакокурение пациенты.

Симптомный анализ позволил выявить соответствие каждого из биомаркеров определенным сочетаниям результатов инструментальных методов исследования (паттернам). Формирование паттернов возможно по любому числу характеристик, но в данном случае для получения значимых различий достаточным было рассмотрение трех из них.

В результате расслоения выборки пациентов по концентрациям коллагеназы ММП-1 или желатиназы ММП-9 был выделен паттерн № 1, включающий в себя данные о суммарном объеме поражения легочной ткани, наличии нарушений ФВД и состояния слизистой оболочки бронхов ( $p = 0,01$ ). В основной группе двукратные различия по уровню ММП-1Log позволили выделить более «тяжелую» подгруппу пациентов с множественными туберкулемами в сочетании с нарушениями ФВД и катаральным эндобронхитом. Медиана ММП-1Log в этой группе ( $n = 37$ ) достигла 1,96 нг/мл (1,66; 2,33), а в менее тяжелой ( $n = 35$ ) составила 1,23 нг/мл (0,86; 1,56). Аналогичное превышение в 1,5 раза выявлено и в отношении желатиназы: в «тяжелой», по клинико-рентгенологической оценке, подгруппе медиана ММП-9 составила 2008,00 нг/мл (1148,00; 2648,00), а в менее тяжелой – 1351,00 нг/мл (874,00; 1971,00).

Предполагается, что прогрессирование туберкулемы возрастает по мере увеличения объема поражения легочной ткани. Сформированный паттерн свидетельствует о том, что делать вывод о прогрессировании воспалительного процесса только по различиям в его распространенности не всегда корректно. Согласно паттерну № 1, увеличение объема морфологических изменений легочной паренхимы приобретает клиническое значение в случае, когда сопровождается нарушениями ФВД. Настоящим исследованием установлена прямая корреляция между нарушениями ФВД и объемом поражения легких ( $r = 0,27$ ;  $p = 0,03$ , критерий Спирмена), что согласуется с данными литературы о наличии значимой зависимости изменения параметров вентиляционной и газообменной функций легких при туберкулезе от выраженности таких изменений, как объем наиболее крупной полости, суммарный объем зон распада, наличие поражения плевры и распространенность очагов отсева [13].

Состав паттерна № 1 также свидетельствует о значимости отрицательного влияния на течение основного инфекционного процесса в легких неспецифической воспалительной реакции со стороны слизистых оболочек бронхов. Эндобронхит, нарушая дренажную функцию бронхов и изменяя микроциркуляцию в пораженных бронхолегочных сегментах, способствует утяжелению процесса [14]. Различия в

концентрации ММП-1Log позволили сформировать паттерн № 2, объединивший характеристику суммарного объема поражения, суммарного объема распада легочной паренхимы и наличие катарального эндобронхита (КЭБ) ( $p = 0,0017$ ).

В группу с более высокой концентрацией протеиназы вошли пациенты ( $n = 42$ ), у которых наблюдались множественные туберкулемы с наличием КЭБ или распадом легочной ткани. В этой группе медиана ММП-1Log составила 6,63 нг/мл (3,62; 9,83). В группе больных, у которых отсутствовал распад или сочетание множественных туберкулем с КЭБ ( $n = 19$ ), медиана ММП-1Log была в 2,5 раза ниже, составив 2,56 нг/мл (1,56; 4,09). Значимость паттерна № 2 подтверждает целесообразность применяемой в клинической практике динамической оценки изменений объема деструкции туберкулемы как одного из критериев оценки течения специфического процесса.

Известно, что туберкулемы с распадом прогрессируют чаще, чем без него (44,7 против 10,5%), при этом небольшие фокусы склонны к дальнейшему уменьшению, а крупные туберкулемы характеризуются преимущественно сохранением распада с увеличением объема деструкции. Прогрессирование туберкулем обусловлено лизисом казеозного некроза с последующей кавернизацией туберкулемы и бронхогенной диссеминацией ее содержимого [15]. Деструкция туберкулемы возникает в результате воздействием протеолитических ферментов, а ведущая роль в формировании казеозного центра принадлежит ММП-1 [16].

Таким образом, состав паттернов, сформированных при анализе подгрупп, связанных со статистически значимыми различиями в уровнях ММП-1Log и ММП-9, представляет собой наиболее неблагоприятное сочетание характеристик клинико-рентгенологической активности туберкулемы с точки зрения клинического течения заболевания. Присутствие таких характеристик, как наличие множественных туберкулем с нарушениями ФВД и воспалением трахеобронхиального дерева, как правило, является отражением прогрессирования специфического воспалительного процесса.

Различия в концентрации нейтрофильной коллагеназы (ММП-8) позволили сформировать паттерн № 3, основанный на сочетании не менее двух из обсуждаемых характеристик. Так, например, в группе курящих пациентов со множественными фокусами ( $n = 39$ ) концентрация протеиназы достигла 3,83 нг/мл (3,21; 4,46) в противоположность более благоприятной группе ( $n = 9$ ) с отсутствием этих факторов. Уровень ММП-8Log в этом случае был в 1,2 раза ниже и составил 3,09 нг/мл (2,73; 3,50).

Табакокурение является фактором риска, усугубляющим тяжесть заболевания, способствуя пролонгации неспецифического компонента воспаления, и считается одной из причин необратимых нарушений ФВД [17]. Установлено, что пациенты подгруппы с наличием паттерна № 3 отличались в 1,2 раза от остальных по величине индекса Генслера ( $r = 0,27$ ;  $p = 0,02$ ), основного показателя экспираторного маневра с форсированным выдохом, снижение которого является определяющим в диагностике обструкции нижних дыхательных путей.

Выявленная нами связь суммарного объема фокусов с числом сегментоядерных нейтрофилов ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,04$ ), являющихся источником ММП-8, соответствует данным литературы об увеличении количества нейтрофилов периферической крови у пациентов с прогрессирующим течением заболевания в сравнении с его регрессирующим и стабильным течением [18].

Изменения уровня ингибиторной защиты (ТИМП-1 и МГ) позволили сформировать паттерн № 4, обусловленный влиянием комбинации КЭБ и ТК ( $p = 0,004$ ). Установлено, что при наличии обеих характеристик концентрация ТИМП-1Log была значимо выше ( $p = 0,004$ ) и достигла 6,77 нг/мл (6,67; 6,94), тогда как при отсутствии этих факторов концентрация ТИМП-1Log составила 6,52 нг/мл (6,47; 6,67). Аналогичное снижение в 1,5 раза выявлено и в отношении МГ ( $p = 0,04$ ). Активность ингибитора была снижена до 2,00 нмоль/мин (1,50; 2,25) в более «тяжелой», по клинко-рентгенологической оценке, подгруппе, тогда как у остальных пациентов она сохранялась на референтном уровне – 2,61 нмоль/мин (2,10; 3,09).

Обоснованность состава паттерна № 4 объясняется данными литературы о наличии бронхиальной патологии неспецифического генеза у пациентов со стажем курения более 10 лет, так называемым бронхитом курильщика [19]. Выявленная комбинация характеризует сбой ингибиторной защиты и соответствует эндоскопической картине неспецифического КЭБ большой распространенности.

Анализируя структуры всех четырех паттернов, следует отметить, что их состав характеризует как специфический (распад, объем поражения), так неспецифический (КЭБ и табакокурение) компоненты воспаления, что свидетельствует о нелинейном характере взаимоотношений показателей системы «ММП – ингибиторы» с проявлениями оценки активности процесса согласно клинко-рентгенологическим критериям. Таким образом, изменения показателей системы «ММП – ингибиторы» можно рассматривать в качестве объективных лабораторных биомаркеров для оценки клинического течения специфического процесса при туберкулезе легких.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение симптомного анализа позволило из характеристик, используемых для оценки клинического течения специфического процесса, сформировать четыре паттерна, соответствующих различному уровню ММП в крови. Повышение концентрации ММП-1Log и ММП-9 в периферической крови может являться предиктором прогрессирования множественных туберкулем при наличии распада и бронхогенной диссеминации (паттерны № 1, 2). Изменения уровня ММП-8, ТИМП-1 или МГ подчеркивают значимость перманентного воздействия неспецифического компонента воспаления на оценку тяжести специфического процесса и не исключают возможности его прогрессирования (паттерны № 3, 4). Интегративный подход, сочетающий оценку сывороточных белковых биомаркеров с результатами клинко-рентгенологических исследований, является вполне перспективным неинвазивным инструментом для прогнозирования направленности развития туберкулемы легких без бактериовыделения.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации: Приказ Минздрава России от 21.03.2003 № 109 (ред. от 05.06.2017). URL: <http://www.pravo.gov.ru> (дата обращения: 27.02.2022).
2. Ариэль Б.М., Елькин А.В., Басек Т.С., Осташко О.М., Кацер Л.И. Морфологические особенности фиброзно-кавернозного туберкулеза легких на операционном материале. *Архив патологии*. 2004;66(1):14–18.
3. Холодок О.А., Григоренко А.А., Черемкин М.И. Туберкулема легкого как форма туберкулезного процесса. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2014;(53):126–131.
4. Национальные клинические рекомендации по применению хирургических методов в лечении туберкулеза легких. В кн.: Торакальная хирургия; под ред. П.К. Яблонского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014:160.
5. Валиев Р.Ш., Валиев Н.Р., Иксанов И.Я., Филатова М.С. Эпидемическое значение туберкулем легких, результаты их хирургического и нехирургического лечения по данным республики Татарстан. *Туберкулез и болезни легких*. 2014;4:18–21.
6. Lee H.S., Kim W.J. The role of matrix metalloproteinase in inflammation with a focus on infectious diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(18):10546. DOI: 10.3390/ijms231810546.
7. Krug S., Parveen S., Bishai W.R. Host-directed therapies: modulating inflammation to treat tuberculosis. *Front. Immunol.* 2021;12:660916. DOI: 10.3389/fimmu.2021.660916.
8. Uysal P., Uzun H. Relationship between circulating serpinase-9, matrix metalloproteinase-9, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 with chronic obstructive pulmonary disease severity. *Biomolecules*. 2019;9:62–73. DOI: 10.3390/biom9020062.
9. Kumar N.P., Moideen K., Viswanathan V., Shruthi B.S., Sivakumar S., Menon P.A. et al. Elevated levels of matrix metallopro-

- teinas reflect severity and extent of disease in tuberculosis-diabetes co-morbidity and are predominantly reversed following standard anti-tuberculosis or metformin treatment. *BMC Infect. Dis.* 2018;18:1–10. DOI: 10.1186/s12879-018-3246-y.
10. Alexeyeva N.P., Al-Juboori F.S., Skurat E.P. Symptom analysis of multidimensional categorical data with applications. *Periodicals of Engineering and Natural Sciences.* 2020;8(3):1517–1524. DOI: 10.21533/pen.v8i3.1539.
  11. Гаврилов П.В., Баулин И.А., Лукина О.В. Стандартизованная интерпретация и контроль выявленных одиночных образований в легких по системе lung imaging reporting and data system (lung-rads™). *Медицинский альянс.* 2017;3:17–27.
  12. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R. et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005;26(5):948–968. DOI: 10.1183/09031936.05.00035205.
  13. Кирюхина Л.Д., Гаврилов П.В., Савин И.Б., Тамм О.А., Володич О.С., Павлова М.В. и др. Вентиляционная и газообменная функции легких у больных с локальными формами туберкулеза легких. *Пульмонология.* 2013;(6):65. DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-6-807-811.
  14. Стрелис А.А., Стрелис А.К., Некрасов Е.В. Предоперационная подготовка больных туберкулемами легких с локальными катаральными эндобронхитами. *Бюллетень сибирской медицины.* 2005;4(4):117–122. DOI: 10.20538/1682-0363-2005-4-117-122.
  15. Холодок О.А., Черемкин М.И. Морфологические аспекты активности туберкулем легкого. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2013;(49):51–54.
  16. Kubler A., Luna B., Larsson C., Ammerman N.C., Andrade B.B., Orandle M. et al. Mycobacterium tuberculosis dysregulates MMP/TIMP balance to drive rapid cavitation and unrestrained bacterial proliferation. *J. Pathol.* 2015;235(3):431–444. DOI: 10.1002/path.4432.
  17. Valdez-Miramontes C.E., Trejo Martínez L.A., Torres-Juárez F., Rodríguez Carlos A., Marin- Luévano S.P., de Haro-Acosta J.P. et al. Nicotine modulates molecules of the innate immune response in epithelial cells and macrophages during infection with M. tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.* 2020;199(2):230–243. DOI: 10.1111/cei.13388.
  18. Walker N.F., Karim F., Moosa M.Y.S., Moodley S., Mazibuko M., Khan K. et al. Elevated plasma matrix metalloproteinase 8 associates with sputum culture positivity in pulmonary tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 2022;226(5):928–932. DOI: 10.1093/infdis/jiac160.
  19. Павлова Е.В. Морфологические особенности бронхолегочной системы больных туберкулезом легких. *Креативная хирургия и онкология.* 2012;3:67–70. DOI: 10.24060/2076-3093-2012-0-3-67-70.

## Вклад авторов

Эсмедляева Д.С. – разработка концепции и дизайна статьи, пробоподготовка, сбор материала, выполнение биохимического раздела исследований; анализ литературы; анализ и интерпретация данных; написание и оформление текста рукописи. Алексеева Н.П. – статистическая обработка результатов; участие в написании текста рукописи. Дьякова М.Е. – выполнение биохимического раздела исследования. Каростик Д.В. – выполнение раздела лучевых исследований. Григорьев И.В. – перевод статьи; участие в формировании концепции статьи. Соколов Е.Г. – генерация идеи исследования, формирование концепции и дизайна исследования; содержательное научное редактирование; согласование финальной версии рукописи.

## Информация об авторах

**Эсмедляева Дилара Салиевна** – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, СПб НИИФ, г. Санкт-Петербург, diljara-e@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9841-0061>

**Алексеева Нина Петровна** – канд. физ.-мат. наук, доцент, кафедра статистического моделирования, СПбГУ, г. Санкт-Петербург, ninaalexeyeva@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8837-6739>

**Дьякова Марина Евгеньевна** – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, СПб НИИФ, г. Санкт-Петербург, marinadyakova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7810-880X>

**Каростик Денис Владимирович** – аспирант, СПб НИИФ, г. Санкт-Петербург, d.karostik@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3284-1421>

**Григорьев Иван Вадимович** – канд. филол. наук, доцент, зав. кафедрой английского языка в сфере филологии и искусств, СПбГУ, г. Санкт-Петербург, ivan\_grigoriev@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9865-0199>

**Соколов Евгений Георгиевич** – д-р мед. наук, профессор, зам. зав. отделом учебно-методической работы, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова; вед. науч. сотрудник, отдел хирургии туберкулеза органов дыхания, НМИЦ ФИИФ; профессор, кафедра торакальной хирургии, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, г. Санкт-Петербург, sokole@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4794-0588>

(✉) Эсмедляева Дилара Салиевна, diljara-e@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.06.2023;  
одобрена после рецензирования 24.07.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК 616.895.8:57.08

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-85-93>

## Многофакторная модель оценки состояния больных шизофренией на основе системы биомаркеров

Черемных Е.Г., Савушкина О.К., Прохорова Т.А., Зозуля С.А., Отман И.Н.,  
Позднякова А.Н., Карпова Н.С., Шилов Ю.Е., Ключник Т.П.

Научный центр психического здоровья (НЦПЗ)  
Россия, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 34

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Проблема объективного сопоставления биологических маркеров и реальной клинической картины особенно сложна при психических расстройствах, которые классифицируются по большому количеству диагностических критериев и большому разнообразию симптомов. Поэтому разработка эффективной системы биохимических маркеров и оценка их взаимосвязи для оптимизации диагностики и лечения шизофрении являются актуальной задачей.

**Цель исследования** – разработать статистическую модель, объединяющую известные и проверенные для психических заболеваний биохимические маркеры для пациентов с шизофренией.

**Материалы и методы.** Обследованы 47 больных женщин в возрасте 18–50 лет (медианное значение – 22 года) с диагнозом «шизофрения» (МКБ-10, F20) и 25 здоровых женщин такого же возраста. В качестве основы модели были использованы функциональная активность комплемента, показатели тромбоэластики, маркеры воспаления, маркеры глутаматного и энергетического метаболизма и антиоксидантной защиты, связанные, как было показано ранее, с тяжестью течения шизофрении. Перечисленные маркеры оценивали в плазме, тромбоцитах и эритроцитах крови больных и здоровых.

**Результаты.** С помощью статистической программы выявлены парные корреляции и особенности распределения всех маркеров как случайных величин в обследованных группах, а также оценены зависимости между парами маркеров. Выявлены десять биомаркеров, объединенных в систему, которая адекватно описывается логистической моделью. Модель оценена с помощью критерия Пирсона ( $\chi^2(11) = 57,6; p = 0,001$ ) и вычисления правильных предсказаний (91 и 80%) по выборкам больных и здоровых соответственно.

**Заключение.** Результатом вычисления логистического уравнения является вероятность наличия у пациента шизофренического процесса, в который вовлечены иммунная система, гемостаз и окислительный стресс. Эта модель может рассматриваться как новый формализованный подход к диагностике психических заболеваний на доклиническом этапе.

**Ключевые слова:** шизофрения, система биомаркеров, парные корреляции, логистическая регрессионная модель

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

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

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ НЦПЗ (протокол № 301 от 05.09.2016).

**Для цитирования:** Черемных Е.Г., Савушкина О.К., Прохорова Т.А., Зозуля С.А., Отман И.Н., Позднякова А.Н., Карпова Н.С., Шилов Ю.Е., Ключник Т.П. Многофакторная модель оценки состояния больных шизофренией на основе системы биомаркеров. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):85–93. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-85-93>.

✉ Черемных Елена Григорьевна, elcher10@yandex.ru

## Multifactorial, biomarker-based model for assessing the state of patients with schizophrenia

Cheremnykh E.G., Savushkina O.K., Prokhorova T.A., Zozulya S.A., Otman I.N., Pozdnyakova A.N., Karpova N.S., Shilov Yu.E., Klyushnik T.P.

Mental Health Research Center

34, Kashirskoe Highway, Moscow, 115522, Russian Federation

### ABSTRACT

**Relevance.** Objective comparison of biological markers and real clinical presentation is especially difficult in mental disorders, which are classified according to a large number of diagnostic criteria and a wide variety of symptoms. Therefore, the development of an effective system of biochemical markers and assessment of their relationship to optimize the diagnosis and treatment of schizophrenia are relevant.

**The aim of the study** was to develop a statistical model that combines known and tested biochemical markers for mental illnesses in patients with schizophrenia.

**Materials and methods.** The study included 47 women aged 18–50 years (median age – 22 years) with the diagnosis of schizophrenia (ICD-10, F20) and 25 healthy women of the same age. The model was based on the functional activity of complement, thrombodynamics parameters, markers of inflammation, glutamate and energy metabolism, and antioxidant defense, which were shown to be associated with the severity of schizophrenia. The listed markers were evaluated in plasma, platelets, and erythrocytes of sick and healthy individuals.

**Results.** Statistical software found pair correlations and features of the distribution of all markers as random variables in the examined groups and evaluated correlations between pairs of markers. Ten biomarkers were identified and united into a system that was adequately described by the logistic regression model. The model was evaluated using the Pearson's test ( $\chi^2(11) = 57.6, p = 0.001$ ) and calculation of correct predictions (91 and 80%) for samples of patients and healthy people, respectively.

**Conclusion.** Calculating the logistic equation resulted in the probability that the patient has schizophrenia involving the immune system, hemostasis, and oxidative stress. This model can be considered as a new formalized approach to the preclinical diagnosis of mental illnesses.

**Keywords:** schizophrenia, biomarker system, pair correlations, logistic regression model

**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 individuals signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Mental Health Research Center (Protocol No. 301 of 05.09.2016).

**For citation:** Cheremnykh E.G., Savushkina O.K., Prokhorova T.A., Zozulya S.A., Otman I.N., Pozdnyakova A.N., Karpova N.S., Shilov Yu.E., Klyushnik T.P. Multifactorial, biomarker-based model for assessing the state of patients with schizophrenia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):85–93. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-85-93>.

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема объективного сопоставления биологических маркеров и реальной клинической картины особенно сложна при психических расстройствах, которые классифицируются по большому количеству диагностических критериев и большому разнообразию симптомов. Клиническая картина у больных с одинаковым диагнозом может быть разной.

Шизофрения – гетерогенное психическое заболевание с большим разнообразием клинических про-

явлений, обусловленных разными этиологическими факторами и различной биологической основой. Поэтому разработка эффективной системы биомаркеров и оценка их взаимодействия при шизофрении с целью оптимизации диагностики и лечения являются актуальной задачей.

В качестве основы такой системы предлагаем несколько групп маркеров.

1. *Комплемент и гемостаз.*

Эти две эволюционно близкие и выполняющие взаимодополняющую роль защиты организма системы –

комплемента (CS) и гемостаза имеют многочисленные связи, позволяющие рассматривать их как единую систему, которая играет роль «дирижера оркестра» во всей совокупности иммунных взаимодействий.

Особенное внимание последних лет в исследованиях этой системы уделяется двум процессам – CS и коагуляции в жидкой фазе как инструментам мгновенного реагирования на внешние и внутренние угрозы и в то же время источникам неблагоприятных развитий патологических процессов.

Процесс коагуляции также может неконтролируемо усиливаться, а совместное усиление этих систем способствует критическим осложнениям различных патологий. Известно, что диссеминированное внутрисосудистое свертывание и полиорганная недостаточность являются следствием нарушения регулирования CS и усилением положительных обратных связей CS и коагуляции [1]. Но не только в кризисных ситуациях взаимодействие этих каскадов способствует усилению патологических процессов – при атеросклерозе, диабете, раке [2], психических заболеваниях [3]. Выявлена существенная роль взаимодействия CS и коагуляции в усилении заболеваний и резистентности к терапии [4]. Направленность и общий уровень взаимодействия CS и коагуляции определяются генетическими условиями и состоянием организма в каждый момент времени.

## 2. Маркеры воспаления.

Среди многочисленных патогенетических гипотез шизофрении важное место принадлежит изучению роли воспаления в развитии этого заболевания. Вследствие существования нейроиммунных взаимосвязей активация нейровоспаления в мозге [5] ассоциирована с развитием системных воспалительных реакций, сопровождающихся повышением уровня различных медиаторов воспаления в крови пациентов [6]. Ранее было показано, что в качестве биомаркеров, отражающих активность текущего патологического процесса в мозге при шизофрении и взаимосвязанных с остротой и тяжестью клинического состояния больных, выступают [7, 8]:

- активность лейкоцитарной эластазы (LE) – сериновой протеазы, выбрасываемой активированными нейтрофилами в процессе дегрануляции в очаге воспаления;

- функциональная активность основного эндогенного ингибитора LE – острофазного белка,  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha 1$ - $\pi$ ), синтезирующегося в печени;

- уровень антител к белку S-100b (abS-100b) – маркеру активации астроглии, выполняющего также роль нейротрофического фактора для серотонинергических нейронов.

## 3. Ферменты метаболизма глутамата и антиоксидантной защиты.

Важным аспектом патологии эндогенных психозов (шизофрении) является участие глутаматной системы в развитии патологического процесса [9]. Снижение активности NMDA-рецепторов (NMDAR) на ингибирующих ГАМК-интернейронах приводит к усилению глутаматергической нейротрансмиссии и различным симптомам, возникающим при остром психозе. Получены данные, свидетельствующие о том, что гипофункция NMDAR связана с окислительным стрессом, который также способствует развитию психической патологии, связанной с шизофренией [10].

Патофизиологические процессы, связанные с нарушениями в глутаматергической системе, метаболизме глутамата и окислительным стрессом, вызванным, в частности, нарушениями в системе глутатиона, участвуют в формировании острой фазы с проявлением позитивных симптомов, а также в появлении негативных симптомов и когнитивного дефицита.

Нарушения в глутаматергической системе и метаболизме глутамата были обнаружены при исследованиях мозга [11] и крови пациентов с психозами [12].

Обнаружены изменения активности фермента обмена глутамата – глутаматдегидрогеназы (GDG), глутатион-зависимых ферментов – глутатион-S-трансферазы (GST) и глутатионредуктазы (GR), а также комплекса IV дыхательной цепи митохондрий – цитохром с-оксидазы (COX) в тромбоцитах при психических заболеваниях [13].

Оценивать биохимические связи во всей совокупности взаимодействий маркеров между собой не представляется возможным из-за сложности совокупной системы, обладающей к тому же положительными и отрицательными обратными связями, которые дополнительно усложняют процесс принятия решений на основе аналитических данных. Поэтому в качестве модели, объединяющей все перечисленные маркеры, рассматриваем статистическую модель – логистическую регрессию, целью синтеза которой является обеспечение объективных оснований психиатрического диагноза больных.

Цель исследования – разработать статистическую модель, объединяющую известные и проверенные для психических заболеваний биохимические маркеры для пациентов с шизофренией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинико-биологическое исследование проведено на базе ФГБНУ НЦПЗ. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГБНУ НЦПЗ

(протокол № 301 от 05.09.2016) и выполнено с соблюдением современных этических нормы и правил биомедицинских исследований, утвержденных Хельсинкским соглашением Всемирной медицинской ассоциации (в редакции 1975, 2000 г.).

В исследовании участвовала группа из 47 больных женщин с диагнозом «шизофрения» (МКБ-10, F20) в возрасте 18–50 лет ( $Me$  – 22 года), поступивших в стационар в стадии обострения заболевания. В группу контроля вошли 25 здоровых женщин такого же возраста.

Все перечисленные маркеры оценивали в плазме, тромбоцитах и эритроцитах крови больных и здоровых.

Критерии включения в исследование: верифицированный диагноз «шизофрения», F20 по классификации МКБ-10, острое психотическое состояние. Критерии исключения: возраст пациентов до 18 и старше 50 лет, органическое поражение ЦНС, травмы головного мозга, тяжелые соматические заболевания в стадии декомпенсации, обострение воспалительных или инфекционных заболеваний, употребление психоактивных веществ.

Оценку  $CS$  осуществляли с помощью разработанного нами метода оценки функциональной активности системы комплемента на тест организмах – инфузориях *Tetrahymena pyriformis*, гибель которых при воздействии плазмы крови связана с активацией системы комплемента. Метод, описанный в [14], состоит в циклическом подсчете живых клеток простейших в растворе плазмы крови. Подсчет производится на приборе БиоЛат [15] с программой AutoCiliata, разработанной нами.

Функциональную активность системы комплемента в плазме крови оценивали на основании вы-

численного показателя  $faCS = 100 \times 1 / T_{50}$ , где  $T_{50}$  – время гибели половины клеток.

Маркеры коагуляции – плотность сгустка ( $D$ ) и начальную скорость образования сгустка ( $Vi$ ) – оценивали методом тромбодинамики [16]. Маркеры воспаления – активность  $LE$  и функциональную активность  $\alpha 1$ - $\pi$ , а также уровень антител к белку  $S-100b$  – оценивали в соответствии с методами, приведенными в работе [7]. Маркер метаболизма глутамата и показатель энергетического обмена – активность  $GDH$  и  $COX$  соответственно – оценивали в тромбоцитах. Маркеры антиоксидантной защиты – активность глутатион-зависимых ферментов – оценивали в тромбоцитах ( $GST$ ,  $GR$ ) и эритроцитах ( $GSTer$ ,  $GRer$ ) в соответствии с методами, приведенными в работах [12, 13, 17].

Результаты измерений указанных маркеров в обследованных группах оценивали с помощью инструментов программы Statistica 10, таких как описательные статистики и критерий Шапиро – Уилка, ранговые корреляции Спирмена, квантильные регрессионные уравнения пар маркеров и логистические уравнения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В соответствии с критерием Шапиро – Уилка ( $W \geq 0,946$ ;  $p \leq 0,05$ ) только два предиктора в группе из 47 больных ( $COX$  и  $GDH$ ), а в группе из 25 здоровых только один ( $GDH$ ) ( $W \geq 0,918$ ;  $p \leq 0,05$ ) имеют нормальный закон распределения вероятностей. Поэтому для анализа статистических параметров этих групп использованы медианы, коэффициенты вариации и интерквартильные интервалы предикторов (табл. 1). Для оценки связи предикторов использовали непараметрический метод ранговых корреляций Спирмена (табл. 2, 3).

Таблица 1

| Описательные статистики предикторов групп больных и здоровых |                          |                      |                           |                      |
|--|--------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|
| Показатель   | Группа больных, $n = 47$ |                      | Группа здоровых, $n = 25$ |                      |
|  | $Me (Q_{25}; Q_{75})$    | Коэффициент вариации | $Me (Q_{25}; Q_{75})$     | Коэффициент вариации |
| $faCS$   | 4,61 (3,12; 6,76)        | 50,9                 | 6,75 (6; 7,5)             | 15,32                |
| $Vi$   | 54,5 (51; 57)            | 8,92                 | 52,6 (47; 55)             | 11,78                |
| $D$  | 22 480 (20 743; 24 671)  | 14,04                | 22 029 (20 623; 23 627)   | 11,23                |
| $LE$   | 234,4 (210,5; 265,7)     | 16,69                | 197 (187; 200)            | 5,91                 |
| $\alpha 1$ - $\pi$   | 40,70 (33,7; 47,4)       | 20,31                | 33,7 (32; 35)             | 9,31                 |
| $abS-100b$   | 0,78 (0,69; 0,89)        | 17,86                | 0,77 (0,68; 0,79)         | 9,28                 |
| $COX$  | 5,10 (4,2; 5,71)         | 22,34                | 5,47 (5,05; 6,27)         | 18,85                |
| $GDH$  | 5,93 (5,11; 6,86)        | 22,97                | 6,87 (5,77; 8,28)         | 19,04                |
| $GR$   | 9,12 (7,54; 10,32)       | 30,85                | 10,50 (8,86; 11,78)       | 27,24                |
| $GST$  | 14,73 (11,54; 17)        | 24,27                | 17,25 (13,96; 19,22)      | 18,68                |
| $GRer$   | 2,10 (1,66; 2,37)        | 19,74                | 1,65 (1,41; 2)            | 27,71                |
| $GSTer$  | 2,61 (2,23; 3,43)        | 35,69                | 2,09 (1,57; 2,74)         | 41,2                 |

Таблица 2

| Ранговые корреляции Спирмена 12 маркеров для группы больных (PKC) |              |              |       |       |                |          |              |       |              |             |             |             |
|---|--------------|--------------|-------|-------|----------------|----------|--------------|-------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| Показатель  | faCS         | Vi           | D     | LE    | $\alpha 1-\pi$ | abS-100b | COX          | GDG   | GR           | GST         | GRer        | GSTer       |
| <i>faCS</i>   | 1            | <b>-0,41</b> | -0,23 | -0,04 | 0,08           | -0,12    | 0,01         | 0,06  | 0,04         | 0,09        | -0,05       | 0,01        |
| <i>Vi</i>   | <b>-0,41</b> | 1            | 0,26  | 0,1   | -0,06          | 0,05     | -0,15        | -0,23 | 0,03         | -0,17       | -0,17       | -0,17       |
| <i>D</i>  | -0,23        | 0,26         | 1     | 0,05  | 0,23           | -0,23    | -0,01        | -0,15 | 0,17         | 0,15        | -0,01       | 0,08        |
| <i>LE</i>   | -0,04        | 0,1          | 0,05  | 1     | -0,14          | -0,08    | -0,15        | 0,1   | 0,2          | 0,01        | -0,07       | -0,04       |
| $\alpha 1-\pi$  | 0,08         | -0,06        | 0,23  | -0,14 | 1              | -0,07    | 0,17         | 0,26  | -0,01        | 0,12        | 0,12        | 0,21        |
| <i>abS-100b</i>   | -0,12        | 0,05         | -0,23 | -0,08 | -0,07          | 1        | 0,15         | 0,04  | 0,01         | -0,22       | 0,1         | 0,03        |
| <i>COX</i>  | 0,01         | -0,15        | -0,01 | -0,15 | 0,17           | 0,15     | 1            | -0,13 | <b>-0,34</b> | -0,13       | 0,13        | 0,01        |
| <i>GDG</i>  | 0,06         | -0,23        | -0,15 | 0,1   | 0,26           | 0,04     | -0,13        | 1     | 0,19         | 0,21        | 0,17        | -0,12       |
| <i>GR</i>   | 0,04         | 0,03         | 0,17  | 0,2   | -0,01          | 0,01     | <b>-0,34</b> | 0,19  | 1            | <b>0,49</b> | 0,17        | 0,13        |
| <i>GST</i>  | 0,09         | -0,17        | 0,15  | 0,01  | 0,12           | -0,22    | -0,13        | 0,21  | <b>0,49</b>  | 1           | 0,15        | <b>0,37</b> |
| <i>GRer</i>   | -0,05        | -0,17        | -0,01 | -0,07 | 0,12           | 0,10     | 0,13         | 0,17  | 0,17         | 0,15        | 1           | <b>0,35</b> |
| <i>GSTer</i>  | 0,01         | -0,17        | 0,08  | -0,04 | 0,21           | 0,04     | 0,01         | -0,12 | 0,13         | <b>0,37</b> | <b>0,35</b> | 1           |

Примечание. Выделенные жирным шрифтом значения корреляции значимы на уровне  $p \leq 0,05$  (здесь и в табл. 3).

Таблица 3

| Ранговые корреляции Спирмена 12 маркеров для группы здоровых (PKC) |       |       |       |              |                |              |             |             |              |             |       |       |
|--|-------|-------|-------|--------------|----------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------|-------|
| Показатель   | faCS  | Vi    | D     | LE           | $\alpha 1-\pi$ | abS-100b     | COX         | GDG         | GR           | GST         | GRer  | GSTer |
| <i>faCS</i>  | 1     | 0,25  | -0,07 | 0,11         | -0,35          | 0,19         | -0,17       | 0,07        | 0,09         | -0,04       | 0,15  | 0,13  |
| <i>Vi</i>  | 0,25  | 1     | 0,15  | 0,04         | -0,3           | 0,31         | -0,32       | -0,29       | -0,26        | -0,18       | -0,04 | 0,11  |
| <i>D</i>   | -0,07 | 0,15  | 1     | -0,1         | -0,02          | -0,16        | 0,14        | -0,08       | 0,15         | -0,22       | -0,08 | -0,28 |
| <i>LE</i>  | 0,11  | 0,04  | -0,1  | 1            | 0,07           | -0,05        | 0,36        | <b>0,54</b> | <b>-0,43</b> | 0,14        | 0,09  | 0,05  |
| $\alpha 1-\pi$   | -0,35 | -0,3  | -0,02 | 0,07         | 1              | <b>-0,45</b> | 0,07        | 0,1         | -0,28        | -0,09       | -0,1  | 0,01  |
| <i>abS-100b</i>  | 0,19  | 0,31  | -0,16 | -0,05        | <b>-0,45</b>   | 1            | -0,15       | -0,26       | 0,11         | 0,02        | 0,28  | -0,05 |
| <i>COX</i>   | -0,17 | -0,32 | 0,14  | 0,36         | 0,07           | -0,15        | 1           | <b>0,47</b> | 0,13         | <b>0,68</b> | -0,11 | 0,07  |
| <i>GDG</i>   | 0,07  | -0,29 | -0,08 | <b>0,54</b>  | 0,1            | -0,26        | <b>0,47</b> | 1           | 0,18         | <b>0,55</b> | -0,27 | -0,3  |
| <i>GR</i>  | 0,09  | -0,26 | 0,15  | <b>-0,43</b> | -0,28          | 0,11         | 0,13        | 0,18        | 1            | 0,25        | -0,03 | -0,36 |
| <i>GST</i>   | -0,04 | -0,18 | -0,22 | 0,14         | -0,09          | 0,02         | <b>0,68</b> | <b>0,55</b> | 0,25         | 1           | -0,19 | 0,08  |
| <i>GRer</i>  | 0,15  | -0,04 | -0,08 | 0,09         | -0,1           | 0,28         | -0,11       | -0,27       | -0,03        | -0,19       | 1     | 0,26  |
| <i>GSTer</i>   | 0,15  | 0,11  | -0,28 | 0,05         | 0,01           | -0,05        | 0,07        | -0,3        | -0,36        | 0,08        | 0,26  | 1     |

Изменение корреляционных связей в группах пациентов и контроля предположительно отражает изменения изучаемой системы, оценка которой в силу многочисленных прямых и опосредованных связей между маркерами может быть получена с помощью анализа парных корреляций.

Для выявления факта одинакового распределения пар предикторов, у которых обнаружена хотя бы слабая корреляционная связь ( $PKC \geq 0,3$ ) хотя бы в одной группе, построены графики квантильной регрессии ( $Q-Q$ ). На рисунке показаны графики  $Q-Q$  для пар предикторов группы больных с отмеченной корреляцией в сравнении с графиками  $Q-Q$  группы здоровых. Каждый график сопровождается двумя уравнениями – полиномиальным уравнением регрессии  $Q-Q$  и линейным уравнением, построенным с помощью метода наименьших квадратов.

Все биохимические маркеры находятся в сложных взаимодействиях, мощность которых может случайным образом изменяться, квантильная регрессия показывает, насколько сильно или слабо связаны между собой маркеры попарно, и эта связь, как правило, нелинейная. Поэтому графики квадратичной квантильной

регрессии дают возможность оценить силу связи. При накоплении эта информация может быть основой построения сетевых моделей биохимических взаимодействий. Такие модели для каждой конкретной патологии помогут выявить критические точки терапевтического воздействия, оптимизация которого уменьшает количество и побочные эффекты фармпрепаратов.

После оценки статистических характеристик двух исследуемых выборок было получено аналитическое уравнение (модель), которое поможет оценивать и классифицировать совокупность маркеров, характеризующих принадлежность пациента к группе больных или здоровых.

Для этого использовали логистическую регрессию, имеющую следующие особенности. Результат регрессии вычислялся как вероятность наступления события. При этом зависимая переменная должна быть категориальной, независимые переменные могут не быть нормально распределенными, или линейно связанными, или равно дисперсными, что характерно для наших результатов измерений (см. табл. 1–3). Результатом уравнения (1) логистической регрессии является вероятность принадлежности

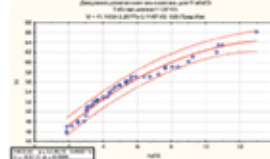
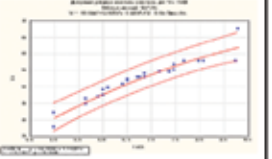
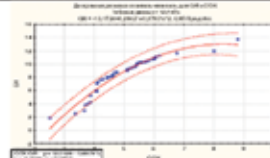
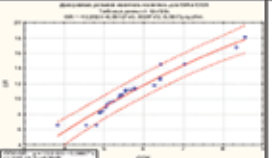
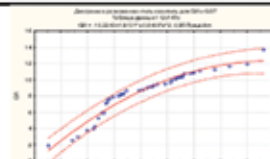
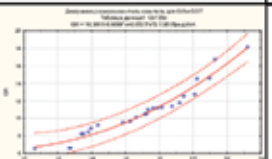
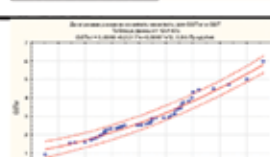
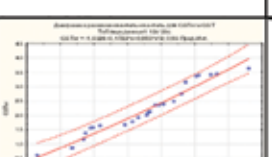

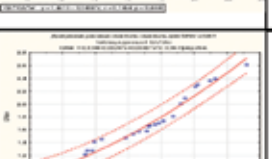
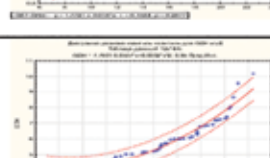
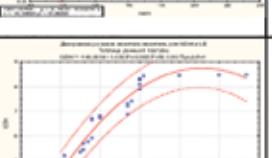
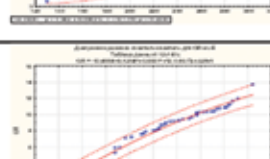
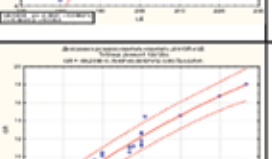
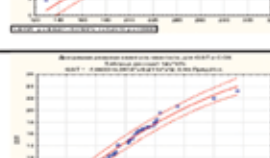
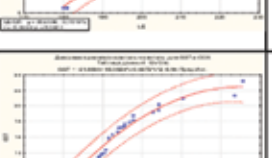
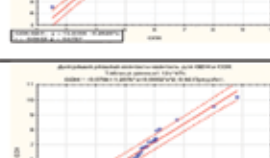
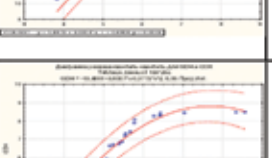
| Группа больных (47)  | Группа здоровых (25)   |
|--|--|
|  $Vi = 41,15 + 3,27 \cdot (faCS) - 0,115 \cdot (faCS)^2$ $Vi = 57,96 - 0,68 \cdot (faCS);$ $r = -0,3771; p = 0,0090$ $PKC = -0,41$  |  $Vi = -10,86 + 12,94 \cdot (faCS) - 0,53 \cdot (faCS)^2$ $Vi = 44,1 + 1,14 \cdot (faCS);$ $r = 0,1937; p = 0,3536$ $PKC = 0,25$     |
|  $GR = -13,17 + 6,29 \cdot (COX) - 0,38 \cdot (COX)^2$ $GR = 12,033 - 0,7 \cdot (COX);$ $r = -0,3002; p = 0,0403$ $PKC = -0,34$     |  $GR = -10,2 + 4,58 \cdot (COX) - 0,15 \cdot (COX)^2$ $GR = 10,51 + 0,05 \cdot (COX);$ $r = 0,0178; p = 0,9326$ $PKC = 0,13$         |
|  $GR = -10,22 + 1,91 \cdot (GST) - 0,04 \cdot (GST)^2$ $GR = 3,23 + 0,36 \cdot (GST);$ $r = 0,4876; p = 0,0005$ $PKC = 0,49$        |  $GR = 10,37 - 0,91 \cdot (GST) + 0,05 \cdot (GST)^2$ $GR = 7,86 + 0,17 \cdot (GST);$ $r = 0,1862; p = 0,3728$ $PKC = 0,25$          |
|  $GSTer = 0,61 + 0,02 \cdot (GST) + 0,01 \cdot (GST)^2$ $GSTer = 1,52 + 0,09 \cdot (GST);$ $r = 0,3189; p = 0,0289$ $PKC = 0,37$    |  $GSTer = -1,65 + 0,17 \cdot (GST) + 0,003 \cdot (GST)^2$ $GSTer = 1,46 + 0,04 \cdot (GST);$ $r = 0,1454; p = 0,4880$ $PKC = 0,08$   |
|  $GRer = -0,6 + 0,26 \cdot (GST) - 0,004 \cdot (GST)^2$ $GRer = 1,77 + 0,02 \cdot (GST);$ $r = 0,1584; p = 0,2877$ $PKC = 0,35$   |  $GRer = 0,44 - 0,003 \cdot (GST) + 0,004 \cdot (GST)^2$ $GRer = 2,14 - 0,03 \cdot (GST);$ $r = -0,1880; p = 0,3680$ $PKC = -0,19$ |
|  $GDH = 7,79 - 0,05 \cdot (LE) + 0,0002 \cdot (LE)^2$ $GDH = 4,56 + 0,006 \cdot (LE);$ $r = 0,1770; p = 0,2340$ $PKC = 0,1$       |  $GDH = -146,06 + 1,44 \cdot (LE) - 0,003 \cdot (LE)^2$ $GDH = -2,49 + 0,05 \cdot (LE);$ $r = 0,4226; p = 0,0353$ $PKC = 0,54$     |
|  $GR = -13,49 + 0,13 \cdot (LE) - 0,0001 \cdot (LE)^2$ $GR = 4,5527 + 0,02 \cdot (LE);$ $r = 0,2513; p = 0,0883$ $PKC = 0,2$      |  $GR = -89,3 + 0,76 \cdot (LE) - 0,001 \cdot (LE)^2$ $GR = 30,66 - 0,1 \cdot (LE);$ $r = -0,3999; p = 0,0477$ $PKC = -0,43$        |
|  $GST = -7,1 + 5,4 \cdot (COX) - 0,21 \cdot (COX)^2$ $GST = 15,85 - 0,26 \cdot (COX);$ $r = -0,0842; p = 0,5737$ $PKC = -0,13$    |  $GST = -21,89 + 10,38 \cdot (COX) - 0,61 \cdot (COX)^2$ $GST = 5,5 + 2,0 \cdot (COX);$ $r = 0,6808; p = 0,0002;$ $PKC = 0,68$     |
|  $GDH = -0,08 + 1,21 \cdot (COX) + 0,0002 \cdot (COX)^2$ $GDH = 6,31 - 0,06 \cdot (COX);$ $r = -0,0453; p = 0,7622$ $PKC = -0,13$ |  $GDH = -13,49 + 5,8 \cdot (COX) - 0,378 \cdot (COX)^2$ $GDH = 3,73 + 0,56 \cdot (COX);$ $r = 0,4553; p = 0,0222$ $PKC = 0,47$     |

Рисунок. Зависимости предикторов двух групп

пациента к группе больных или здоровых в соответствии с результатами исследования маркеров-предикторов. В качестве бинарной переменной добавлена переменная  $P$ , которая для группы больных равна «0», для группы здоровых – «1»:

$$P = 1 / (1 + e^{-Z}), \quad (1)$$

где  $Z = a_0 + a_1 \times x_1 + a_n \times x_n$ .

Коэффициенты  $a_0, a_1, \dots, a_n$  вычисляли с помощью процедуры «Логит регрессия» программы Statistica 10. Общее логистическое уравнение для всех 12 маркеров неправдоподобно:

$$\chi^2(13) = ---, p = 1,0 [18].$$

Удаляя по одному предиктору, строили логистическое уравнение для нахождения предикторов, приводящих к неправдоподобному результату. Такими предикторами оказались два показателя: плотность сгустка ( $D$ ), отражающая состояние системы коагуляции, и активность лейкоцитарной эластазы ( $LE$ ) – маркера дегрануляционной активности нейтрофилов.

Результирующее уравнение включает 10 независимых переменных ( $faCS$ ,  $Vi$ ,  $\alpha 1$ - $\pi$ ,  $abS$ -100b,  $COX$ ,  $GDG$ ,  $GR$ ,  $GST$ ,  $GRer$ ,  $GSTer$ ) и зависимую бинарную переменную  $P$  (2):

$$P = 1 / (1 + e^{-Z}), \quad (2)$$

где  $Z = 5,78 + 0,399 \times (faCS) - 0,014 \times Vi - 0,4 \times (\alpha 1-\pi) - 8,24 \times (abS-100b) + 1,9 \times (COX) + 0,58 \times (GDG) + 0,33 \times (GR) - 0,17 \times (GST) - 2,02 \times (GRer) + 0,27 \times (GSTer)$ .

Значение функции потерь равно 17,7 и является минимальным среди всех других вариантов уравнений. Критерий Пирсона  $\chi^2(11) = 57,6$ ;  $p = 0,001$ . Оценку значимости коэффициентов регрессии проводили с помощью теста Вальда (табл. 4).

Таблица 4

| Значимость коэффициентов уравнения регрессии |             |                  |
|--|-------------|------------------|
| Показатель                                   | Тест Вальда | $p$              |
| Св. член                                     | 1,84        | 0,175            |
| $faCS$                                       | <b>5,49</b> | <b>0,019</b>     |
| $Vi$   | <b>3,95</b> | <b>0,046</b>     |
| $\alpha 1$ - $\pi$                           | <b>13,4</b> | <b>&lt;0,001</b> |
| $abS$ -100b                                  | 0,54        | 0,462            |
| $COX$  | <b>10,5</b> | <b>0,001</b>     |
| $GDH$  | <b>4,80</b> | <b>0,029</b>     |
| $GR$   | <b>6,01</b> | <b>0,014</b>     |
| $GST$  | 3,56        | 0,059            |
| $GRer$                                       | 2,32        | 0,127            |
| $GSTer$                                      | 0,87        | 0,350            |

Примечание. Результаты, выделенные жирным шрифтом, значимы на уровне  $p \leq 0,05$ .

Оценка правдоподобия логистического уравнения дает общее представление о его коэффициентах. В соответствии с этим критерием были определены пре-

дикторы со своими коэффициентами, уравнение для которых имеет наименьшее значение функции потерь.

Правильно предсказанное значение «0» (принадлежность к группе больных) – 91,5%. Правильно предсказанное значение «1» (принадлежность к группе здоровых) – 80%.

## ОБСУЖДЕНИЕ

На основании коэффициента вариации выявлено, что маркеры в группе больных отличаются большей вариабельностью от маркеров группы здоровых (см. табл. 1). В группе больных восемь маркеров ( $faCS$ ,  $\alpha 1$ - $\pi$ ,  $GR$ ,  $GST$ ,  $COX$ ,  $GDH$ ,  $GSTer$ ,  $GRer$ ) сильно вариабельные, три маркера ( $D$ ,  $LE$ ,  $abS$ -100b) – средне вариабельные и только один маркер ( $Vi$ ) – слабо вариабельный. В группе здоровых вариабельность маркеров следующая – только три маркера ( $GR$ ,  $GRer$ ,  $GSTer$ ) сильно вариабельные, шесть маркеров ( $faCS$ ,  $Vi$ ,  $D$ ,  $COX$ ,  $GDH$ ,  $GST$ ) средне вариабельные и три маркера ( $\alpha 1$ - $\pi$ ,  $LE$ ,  $abS$ -100b) слабо вариабельные. Также отличаются диапазоны «нижний – верхний квартиль» у всех маркеров двух групп. Этот результат достаточно характерен для биохимических маркеров при сравнении групп больных здоровых.

Изменение корреляционных связей в группах пациентов и контроля предположительно отражает изменения изучаемой системы, оценка которой в силу многочисленных прямых и опосредованных связей между маркерами может быть получена с помощью анализа парных корреляций. Оценка парных корреляций по Спирмену выявила только несколько слабых связей в группе больных и немного более сильные в группе здоровых. Поэтому на следующих этапах исследования оценка парных корреляций совместно с квантильной регрессией поможет выявлять критические связи, изменения в которых ответственные за развитие патологического процесса.

Для оценки парных зависимостей случайных величин использована процедура получения уравнений и соответствующих графиков «квантиль – квантиль», так как известно, что две случайные величины распределены одинаково и имеют зависимость такую же, как зависимость их квантилей. Графики квадратичной квантильной регрессии дают возможность оценить силу связи. При накоплении эта информация может быть основой построения сетевых моделей биохимических взаимодействий. Такие модели для каждой конкретной патологии помогут выявить критические точки терапевтического воздействия, оптимизация которого уменьшает количество и побочные эффекты фармпрепаратов.

Для всех пар предикторов (см. рис.) их зависимости наилучшим образом аппроксимируются квадрат-

ным уравнением, при этом характер уравнений для пар из двух групп разный.

Нелинейность зависимостей пар маркеров является, скорее всего, общим законом для описания взаимодействий биохимических молекул. Так, для  $CS/Vi$  нелинейность возникает за счет обратных связей в общей системе «комплемент – коагуляция». Для пар лейкоцитарная эластаза/глутаматдегидрогеназа ( $LE/GDG$ ) и лейкоцитарная эластаза/глутатионредуктаза ( $LE/GR$ ) – связь нелинейная из-за сложных взаимодействий нейтрофилов и тромбоцитов, служащих источником модельных маркеров для оценки моделируемых ферментов клеток мозга.

При сравнении отдельных маркеров в группе больных и здоровых невозможно однозначно определить принадлежность пациента к группе больных, т.е. есть пациенты, у которых не все исследованные маркеры отличны от нормы. Поэтому оценка по отдельным маркерам неэффективна, модель, включающая совокупность маркеров их взаимодействий, представляет интерес с фундаментальных позиций, а практический аспект этого вопроса заключается в возможном использовании полученных результатов для ранней диагностики заболевания.

Анализ современной литературы показал, что создание панелей биомаркеров при шизофрении является актуальным направлением исследований. Например, разработаны модели с использованием белков сигнального пути NMDA-рецептора и метаболизма триптофана [19], воспалительных и иммунных биомаркеров [20]. На данном этапе разработанная модель может демонстрировать новый формализованный подход к диагностике психических заболеваний. В целом для практического применения моделей необходимо проведение исследований на разных клинических группах пациентов с шизофренией с созданием совокупности моделей, которые будут использоваться для диагностики и оптимизации терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью статистических процедур выявлены 10 биохимических маркеров, объединенных в систему, которая адекватно описывается логистической моделью и отражает вовлеченность иммунных реакций, гемостаза и окислительного стресса в развитие патологического процесса при шизофрении. Такими показателями являются: функциональная активность системы комплемента, начальная скорость образования фибринового сгустка, функциональная активность  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора и уровень антител к белку S-100b в плазме крови, активность глутаматдегидрогеназы и цитохром с-оксидазы в тромбоцитах, активность глутатион-S-трансферазы

и глутатионредуктазы в тромбоцитах и эритроцитах. Два показателя (плотность сгустка при оценке коагуляции и активность лейкоцитарной эластазы) не вошли в данную систему, что, вероятно, обусловлено особенностями протекания шизофренического процесса в рамках рассматриваемого в настоящей работе психопатологического синдрома.

Модель оценена с помощью критерия Пирсона ( $\chi^2(11) = 57,6; p = 0,001$ ) и вычисления правильных предсказаний (91 и 80%) по всей выборке, состоящей из двух групп – больных и здоровых.

Эта работа может рассматриваться как новый подход к диагностике психических заболеваний. Как правило, большинство биохимических маркеров неспецифичны, только их совокупность и выявление наиболее критических связей помогут создать эффективные модели, востребованные в клинической практике.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Markiewski M.M., Nilsson B., Ekdahl K.N., Mollnes T.E., Lambris J.D. Complement and coagulation: strangers or partners in crime? *Trends in Immunology*. 2007;28(4):184–192. DOI: 10.1016/j.it.2007.02.0062.
2. Conway E.M. Reincarnation of ancient links between coagulation and complement. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2015;13(1):S121–S132. DOI: 10.1111/jth.12950.
3. Spivak B., Radwan M., Brandon J., Baruch Y., Stawski M., Tyano S. et al. Reduced total complement haemolytic activity in schizophrenic patients. *Psychological Medicine*. 1993;23(2): 315–318. DOI: 10.1017/s0033291700028397.
4. Черемных Е.Г., Иванов П.А., Фактор М.И., Позднякова А.Н., Шилов Ю.Е., Брусов О.С. Роль системы комплемента в патогенезе вирусной инфекции SARS-CoV-2 при психических заболеваниях. *Психиатрия*. 2021;(19)4:76–89. DOI: 10.30629/2618-6667-2021-19-4-76-89.
5. Buckley P.F. Neuroinflammation and schizophrenia. *Current Psychiatry Reports*. 2019;21(8):72. DOI: 10.1007/s11920-019-1050-z.
6. Müller N. Inflammation in schizophrenia: pathogenetic aspects and therapeutic considerations. *Schizophrenia Bulletin*. 2018;44(5):973–982. DOI: 10.1093/schbul/sby024.
7. Ключник Т.П., Бархатова А.Н., Шешенин В.С., Андросова Л.В., Зозуля С.А., Отман И.Н. и др. Особенности иммунологических реакций у пациентов пожилого и молодого возраста с обострением шизофрении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2021;121(2): 53–59. DOI: 10.17116/jnevro202112102153.
8. Зозуля С.А., Омельченко М.А., Сарманова З.В., Мигалина В.В., Каледа В.Г., Ключник Т.П. Особенности воспалительного ответа при юношеских депрессиях с аттенуированными симптомами шизофренического спектра. *Психиатрия*. 2021;19(2):29–38. DOI: 10.30629/2618-6667-2021-19-2-29-38.
9. McCutcheon R.A., Krystal J.H., Howes O.D. Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment. *World Psychiatry*. 2020;19(1):15–33. DOI: 10.1002/wps.20693.
10. Hardingham G.E., Do K.Q. Linking early-life NMDAR hypofunction and oxidative stress in schizophrenia pathogene-

- sis. *Nature Reviews Neuroscience*. 2016;17(2):125–134. DOI: 10.1038/nrn.2015.19.
11. Hu W., MacDonald M.L., Elswick D.E., Sweet R.A. The glutamate hypothesis of schizophrenia: evidence from human brain tissue studies. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2015;1338(1):38–57. DOI: 10.1111/nyas.12547.
  12. Прохорова Т.А., Бокша И.С., Савушкина О.К., Терешкина Е.Б., Воробьева Е.А., Помыткин А.Н. и др. Активность тромбоцитарной глутаматдегидрогеназы у больных с эндогенными психозами. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016;116(3):44–48. DOI: 10.17116/jnevro20161163144-48.
  13. Терешкина Е.Б., Савушкина О.К., Бокша И.С., Прохорова Т.А., Воробьева Е.А., Омельченко М.А. и др. Глутатионредуктаза и глутатион-S-трансфераза в форменных элементах крови при шизофрении и расстройствах шизофренического спектра. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(2):61–65. DOI: 10.17116/jnevro201911902161.
  14. Иванов П.А., Фактор М.И., Карпова Н.С., Черемных Е.Г., Брусов О.С. Комплемент-опосредованная гибель инфузрий *Tetrahymena pyriformis* под воздействием сыворотки крови человека. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015;160(12):739–743.
  15. Черемных Е.Г., Покатаев А.С., Гридунова В.Н.; АО «БМК-ИНВЕСТ», ВНИИ медицинской техники и Московским городским центром Госкомсанэпиднадзора России. Прибор для биологических исследований. Патент № 2361913С2 РФ, МПК C12 М 1/00, C12 М 1/34, G01 № 33/02, G01 № 33/00, C12 Q 1/02, C12 Q 1/00, A23 K 1/00. № 2006136885/13; Заявл. 18.10.06; Оpubл. 20.07.09, Бюл. № 20.
  16. Брусов О.С., Симашкова Н.В., Карпова Н.С., Фактор М.И., Никитина С.Г. Тромбодинамические показатели гиперкоагуляции крови у детей с детским аутизмом и детской шизофренией. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2019;119(1):59–63. DOI: 10.17116/jnevro201911901159.
  17. Benecke R., Strümper P., Weiss H. Electron transfer complexes I and IV of platelets are abnormal in Parkinson's disease but normal in Parkinson-plus syndromes. *Brain*. 1993;116(6):1451–1463. DOI: 10.1093/brain/116.6.1451.
  18. Royston T.P. Approximating the Shapiro – Wilk W-Test for non-normality. *Statistics and Computing*. 1992;2:117–119. DOI: 10.1007/BF01891203.
  19. Lin E., Lin C.H., Hung C.C., Lane H.Y. An ensemble approach to predict schizophrenia using protein data in the N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR) and tryptophan catabolic pathways. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8:569. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00569.
  20. Li Y., Yolken R., Cowan D.N., Boivin M.R., Liu T., Niebuhr D.W. Biomarker identification and effect estimation on schizophrenia – a high dimensional data analysis. *Frontiers in Public Health*. 2015;3:75. DOI: 10.3389/fpubh.2015.00075.

## Вклад авторов

Черемных Е.Г. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, статистическая обработка результатов, написание текста статьи. Савушкина О.К. – статистическая обработка результатов, подбор литературы, редактирование текста статьи. Прохорова Т.А., Зозуля С.А. – сбор и обработка материала, выполнение исследования, написание текста статьи. Отман И.С. – сбор и обработка материала, выполнение исследований, оформление статьи. Позднякова А.Н., Карпова Н.С., Шилов Ю.Е. – сбор и обработка материала, выполнение исследований. Ключник Т.П. – разработка концепции и дизайна исследования, утверждение окончательного варианта статьи.

## Информация об авторах

**Черемных Елена Григорьевна** – канд. техн. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория биохимии, НЦПЗ, г. Москва, elcher10@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5166-4462>

**Савушкина Ольга Константиновна** – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии, НЦПЗ, г. Москва, osavushkina1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5996-6606>

**Прохорова Татьяна Андреевна** – науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии, НЦПЗ, г. Москва, gnidra@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3574-2165>

**Зозуля Светлана Александровна** – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии, НЦПЗ, г. Москва, s.ermakova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5390-6007>

**Отман Ирина Николаевна** – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии, НЦПЗ, г. Москва, irinaot@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3745-8413>

**Позднякова Анастасия Николаевна** – мл. науч. сотрудник, лаборатория патофизиологии, НЦПЗ, г. Москва, fanianastya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9137-0167>

**Карпова Наталья Сергеевна** – науч. сотрудник, лаборатория биохимии, НЦПЗ, г. Москва, nat\_karpova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2061-8097>

**Шилов Юрий Евгеньевич** – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория биохимии, НЦПЗ, г. Москва, shilov-nl@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9301-2294>

**Ключник Татьяна Павловна** – д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории нейробиологии, директор НЦПЗ, г. Москва, klushnik2004@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5148-3864>

(✉) Черемных Елена Григорьевна, elcher10@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.09.2023;  
одобрена после рецензирования 03.10.2023;  
принята к публикации 16.11.2023

УДК 616.98:578.834.1]-06:616.24-002:616.127  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-94-104>



## Динамика сердечно-сосудистого статуса пациентов через 3 и 12 месяцев после пневмонии COVID-19: показатели сосудистой жесткости, диастолической функции и продольной деформации левого желудочка

Ярославская Е.И.<sup>1</sup>, Широков Н.Е.<sup>1</sup>, Криночкин Д.В.<sup>1</sup>, Мигачева А.В.<sup>1</sup>, Коровина И.О.<sup>2</sup>, Осокина Н.А.<sup>1</sup>, Сапожникова А.Д.<sup>1</sup>, Петелина Т.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 625026, г. Тюмень, ул. Мельникайте, 111

<sup>2</sup> Областная клиническая больница № 1  
Россия, 625023, г. Тюмень, ул. Котовского, 55

### РЕЗЮМЕ

**Цель:** изучить динамику скорости пульсовой волны (brachial-ankle pulsewave velocity, baPWV), лодыжечно-плечевого индекса (ankle-brachialindex, ABI), диастолической функции и продольной деформации левого желудочка (ЛЖ) через 3 и 12 мес после пневмонии COVID-19.

**Материалы и методы.** Динамика показателей сосудистого возраста и продольной деформации ЛЖ изучена у 154 пациентов через 3 и 12 мес после пневмонии COVID-19 (51 ± 12 лет, 48% женщин). Группу контроля составили 55 сопоставимых по полу и возрасту пациентов.

**Результаты.** За время наблюдения снизилась усредненная baPWV (13,2 [11,8; 15,1] см/сек против 13,0 [11,8; 14,1] см/с,  $p < 0,001$ ) и частота выявления ее повышенных значений (45,4 против 35,1%,  $p = 0,008$ ). Усредненное значение ABI выросло, оставаясь в пределах нормы (1,09 [1,04; 1,14] против 1,11 [1,06; 1,17],  $p = 0,012$ ). Глобальная продольная деформация ЛЖ (LV GLS) ( $19,6 \pm 2,2\%$  и  $-19,7 \pm 2,5\%$ ;  $p = 0,854$ ) и частота выявления сниженной LV GLS ( $21,4$  и  $26,6\%$ ;  $p = 0,268$ ) значимо не изменились и не отличались от полученных в группе контроля. Продольная деформация базального ниже-перегородочного сегмента ЛЖ улучшилась ( $-19,2 \pm 3,6\%$  против  $-20,1 \pm 4,0\%$ ;  $p = 0,032$ ). Раннедиастолическая скорость септальной части митрального кольца снизилась ( $8,4 \pm 3,0$  см/с против  $8,0 \pm 2,5$  см/с,  $p = 0,023$ ). Время изоволюмического расслабления ЛЖ было больше, чем в группе контроля (на 1-м визите  $101,8 \pm 22,3$  мс против  $92,9 \pm 21,5$  мс;  $p = 0,012$ ; на 2-м визите  $105,9 \pm 21,9$  мс против  $92,9 \pm 21,5$  мс;  $p < 0,001$ ). Выявлена положительная корреляционная связь baPWV ( $r = 0,209$ ;  $p = 0,009$ ) и ABI ( $r = 0,190$ ;  $p = 0,021$ ) с параметрами деформации сегментов базального уровня ЛЖ через год после выписки.

**Заключение.** У лиц с оптимальной визуализацией при эхокардиографии через год после пневмонии COVID-19 в сравнении с результатами обследования через 3 мес отмечается ухудшение параметров диастолической функции ЛЖ. LV GLS находилась в пределах «серой зоны» и значимо не изменилась. Отмечено улучшение показателей сосудистой жесткости, связанное с улучшением деформации сегментов базального уровня ЛЖ.

**Ключевые слова:** COVID-19, скорость распространения пульсовой волны, лодыжечно-плечевой индекс, эхокардиография, продольная деформация миокарда

**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 Тюменского кардиологического научного центра, Томского НИМЦ (протокол № 159 от 23.07.2020).

**Для цитирования:** Ярославская Е.И., Широков Н.Е., Криночкин Д.В., Мигачева А.В., Коровина И.О., Осоккина Н.А., Сапожникова А.Д., Петелина Т.И. Динамика сердечно-сосудистого статуса пациентов через 3 и 12 месяцев после пневмонии COVID-19: показатели сосудистой жесткости, диастолической функции и продольной деформации левого желудочка. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):94–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-94-104>.

## Changes in the cardiovascular profile in patients 3 and 12 months after COVID-19 pneumonia: parameters of arterial stiffness, global longitudinal strain, and diastolic function of the left ventricle

Yaroslavskaya E.I.<sup>1</sup>, Shirokov N.E.<sup>1</sup>, Krinochkin D.V.<sup>1</sup>, Migacheva A.V.<sup>1</sup>, Korovina I.O.<sup>2</sup>, Osokina N.A.<sup>1</sup>, Sapozhnikova A.D.<sup>1</sup>, Petelina T.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences

111, Melnikaite Str., Tyumen, 625026, Russian Federation

<sup>2</sup> Regional Clinical Hospital No. 1

55, Kotovskogo Str., Tyumen, 625023, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To study changes in the brachial – ankle pulse wave velocity (baPWV), ankle – brachial index (ABI), diastolic function, and global longitudinal strain of the left ventricle (LV) 3 and 12 months after COVID-19 pneumonia.

**Materials and methods.** The dynamics of vascular age and LV global longitudinal strain was studied in 154 patients 3 and 12 months after COVID-19 pneumonia ( $51 \pm 12$  years, 48% were women). The control group consisted of 55 sex- and age-matched individuals.

**Results.** During the follow-up, the average baPWV decreased ( $13.2 [11.8; 15.1]$  cm / sec vs.  $13.0 [11.8; 14.1]$  cm / s;  $p < 0.001$ ), and the frequency of its elevated values declined ( $45.4$  vs.  $35.1\%$ ;  $p = 0.008$ ). The average ABI increased ( $1.09 [1.04; 1.14]$  vs.  $1.11 [1.06; 1.17]$ ;  $p = 0.012$ ), but remained within the normal range. LV global longitudinal strain (LV GLS) ( $-19.6 \pm 2.2$  and  $-19.7 \pm 2.5\%$ ;  $p = 0.854$ ) and the frequency of reduced LV GLS ( $21.4$  and  $26.6\%$ ;  $p = 0.268$ ) did not change significantly and did not differ from values in the control group. Global longitudinal strain in the LV basal inferoseptal segment improved ( $-19.2 \pm 3.6\%$  vs.  $-20.1 \pm 4.0\%$ ;  $p = 0.032$ ). The early diastolic mitral annular velocity decreased ( $8.4 \pm 3.0$  cm / s vs.  $8.0 \pm 2.5$  cm / s;  $p = 0.023$ ). The LV isovolumic relaxation time was greater than in the control group ( $101.8 \pm 22.3$  ms at the 1st visit vs.  $92.9 \pm 21.5$  ms;  $p = 0.012$ ;  $105.9 \pm 21.9$  ms vs.  $92.9 \pm 21.5$  ms at the 2nd visit;  $p < 0.001$ ). A positive correlation was found between baPWV ( $r = 0.209$ ;  $p = 0.009$ ) and ABI ( $r = 0.190$ ;  $p = 0.021$ ) and strain parameters of the LV basal segments 12 months after discharge.

**Conclusion.** Patients with optimal visualization on echocardiography at 12 months after COVID-19 pneumonia, compared to the results of the examination 3 months after the disease, had deteriorated parameters of LV diastolic function. LV GLS was within the grey zone and did not change significantly. An improvement in arterial stiffness was noted, associated with an improvement in the strain of basal LV segments.

**Keywords:** COVID-19, pulse wave velocity, ankle – brachial index, echocardiography, longitudinal myocardial strain

**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 individuals signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk NRMC of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 159 of 23.07.2020).

**Для цитирования:** Yaroslavskaya E.I., Shirokov N.E., Krinochkin D.V., Migacheva A.V., Korovina I.O., Osokina N.A., Sapozhnikova A.D., Petelina T.I. Changes in the cardiovascular profile in patients 3 and 12 months after COVID-19 pneumonia: parameters of arterial stiffness, global longitudinal strain, and diastolic function of the left ventricle. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):94–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-94-104>.

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что повышение артериальной жесткости ухудшает расслабление миокарда и повышает конечно-диастолическое давление в левом желудочке (ЛЖ) [1]. Изучение взаимосвязи сосудистой жесткости и деформационных свойств миокарда вызывает устойчивый интерес. Показано, что хроническое увеличение постнагрузки ускоряет ремоделирование ЛЖ и развитие сердечной недостаточности [2]. При обследовании 248 лиц без структурного поражения сердца была выявлена независимая связь скорости распространения пульсовой волны на плече-лодыжечном сегменте (brachial-ankle pulse wave velocity, baPWV) с глобальной продольной деформацией ЛЖ (left ventricle global longitudinal strain, LV GLS) [3]. J.W. Hwang и соавт. продемонстрировали, что повышение baPWV способствует нарушению LV GLS у больных с артериальной гипертензией (АГ) и сохраненной фракцией выброса ЛЖ [4].

Жесткость артерий естественным образом связана со старением, но может быть ускорена сопутствующей метаболической и сердечно-сосудистой патологией. Один из механизмов изменения сосудов при старении и сердечно-сосудистых заболеваниях – уменьшение количества эластических волокон и увеличение содержания коллагена. Другой механизм – эндотелиальная дисфункция, развивающаяся вследствие воспаления, оксидативного стресса, а также изменения тонуса гладкой мускулатуры в артериях мышечного типа. COVID-19 – мультисистемное заболевание с обширным поражением сердечно-сосудистой системы, вызывающее повышение жесткости артерий [5]. Сегодня на первый план выходят осложнения перенесенного инфекционного процесса, основная часть из которых напрямую затрагивает сосудистую систему. Доказано, что у значимого количества перенесших COVID-19 развиваются стойкие изменения метаболизма с поражением сосудистой стенки, схожим с таковым при АГ, сахарном диабете 2-го типа и метаболическом синдроме [6]. В развитии раннего сосудистого старения после

COVID-19 играют роль слабовыраженные воспалительные компоненты [7, 8].

Все это может привести к дебюту или прогрессированию как АГ, так и атеросклеротического поражения сосудистой стенки, особенно после осложненного течения COVID-19. С учетом того, что функциональные расстройства развиваются быстрее, чем структурные, изучение сосудистой жесткости после перенесенной COVID-19 является очень актуальным, но такие исследования пока немногочисленны. I. Ikonomidis с соавт. предложили использовать отношение каротидно-фemorальной скорости пульсовой волны к глобальной продольной деформации ЛЖ как параметр оценки желудочково-артериального взаимодействия (ventricular-arterial coupling), в свою очередь влияющего на диастолическую функцию ЛЖ, выраженность концентрической гипертрофии и степень нарушения коронарного резерва [9].

Мы предположили, что у перенесших осложненное течение COVID-19 в отдаленном периоде заболевания жесткость сосудистой стенки увеличивается, а показатели продольной деформации ЛЖ ухудшаются в сравнении с данными обследования в раннем восстановительном периоде заболевания, что могло бы являться отражением раннего старения сосудов. Цель: изучить динамику и взаимосвязи скорости пульсовой волны, лодыжечно-плечевого индекса (ankle-brachial index, ABI) и продольной деформации миокарда ЛЖ через 3 и 12 мес после пневмонии COVID-19.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли пациенты «Перспективного регистра лиц, перенесших COVID-19-ассоциированную пневмонию» (свидетельство государственной регистрации № 2021622535 от 18.11.2021). Исследование соответствует этическим стандартам Хельсинкской декларации с поправками 2000 г. и «Правилам клинической практики в Российской Федерации», утвержденным Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266, одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 159 от 23.07.2020), зарегистрировано в международном

реестре клинических исследований clinicaltrials.gov (No. NCT04501822). Пациенты идентифицировались по данным медицинской информационной системы 1С моноинфекционных госпиталей в период с апреля 2020 по январь 2021 г. Критерии включения: лабораторно подтвержденный диагноз пневмонии COVID-19, возраст 18 лет и старше, желание пациента участвовать в наблюдении. Критерии не включения: хронические заболевания в стадии обострения, гемодинамически значимые пороки сердца, в анамнезе – онкологические заболевания моложе 5 лет, туберкулез, другие заболевания, сопровождающиеся пневмофиброзом, хронические гепатиты, вирус иммунодефицита человека. Критерии исключения: беременность, выявленные за период наблюдения онкологические заболевания, отказ от участия, неоптимальная визуализация при эхокардиографии (ЭхоКГ). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Проведено амбулаторное обследование удовлетворяющих всем критериям 350 пациентов через 3 мес  $\pm$  2 нед (92 [82–99] сут) и через 12 мес  $\pm$  3 нед (367 [362–381] сут) после выписки. Из 380 пациентов исследования 28 были исключены по различным причинам. На 1-м визите оптимальную визуализацию при ЭхоКГ продемонстрировал 271 пациент, на 2-м визите – 244 пациента. Из оставшихся обследованных параметры сосудистого возраста были оценены через 3 мес (1-й визит) у 339 (97%) обследованных, через 12 мес (2-й визит) – у 286 (82%) обследованных. Параметры глобальной (LV GLS) и сегментарной продольной деформации ЛЖ изучены через 3 мес после пневмонии у 271 (77%) обследованных с оптимальным качеством визуализации при ЭхоКГ, через 12 мес – у 244 (70%). Динамику показателей сосудистого возраста и деформационных свойств ЛЖ удалось оценить у 154 (44%) обследованных (основная группа). Группу контроля составили 55 пациентов, сопоставимых с основной группой по полу и возрасту с оптимальным качеством визуализации при ЭхоКГ, включенных в исследование в те же сроки, что и основная группа, не имевших ни одного положительного результата полимеразной цепной реакции с выявлением SARS-CoV-2 и клинических проявлений COVID-19.

Данные острого периода COVID-19 оценивали по выписным эпикризам из историй болезни. Поражения легочной ткани обследованных по данным компьютерной томографии при госпитализации в среднем составил 50,0%, лечению в отделениях реанимации и интенсивной терапии подверглись 8,5%, гормональной терапии – 45,7%, биологически активной терапии – 5,9%. Перенесли пневмонию легкой

степени тяжести 17,0%, средней – 31,3%, тяжелую – 38,1%, крайне тяжелую – 13,6% пациентов.

На визитах всем обследуемым проводилось определение эластических свойств стенки периферических артерий методом объемной сфигмографии с помощью сфигмоманометра VaSera VS-1000 Series (Fukuda Denishi, Япония). Оценивали baPWV справа и слева; ABI справа и слева как отношение систолического артериального давления (АД) на голени к систолическому АД на плече. Анализировали усредненные показатели между правой и левой сторонами. В соответствии с заданными аппаратными условиями интерпретации результатов нормой baPWV считали менее 13,5 см/с; нормальными значениями ABI –  $1,0 \leq \text{ABI} < 1,3$ . В группе контроля сосудистый возраст не оценивали, поскольку он был определен менее чем у половины пациентов этой группы. ЭхоКГ выполняли на ультразвуковой диагностической системе экспертного класса Vivid S70 с сохранением данных в формате DICOM и последующим анализом на рабочей станции Intelli Space Cardiovascular с программой TomTec (Philips, США). Значения LV GLS  $> -18\%$  считали сниженными [10, 11]. Оценивали симптоматику тревожно-депрессивных (по шкалам GAD7, PHQ9), стрессовых расстройств (по шкале воспринимаемого стресса-10), качества жизни (по опроснику SF-36).

Статистический анализ проведен с помощью пакета прикладных программ SPSS 21 (SPSS Inc., Chicago IL, США) и Statistica 12.0. Распределение переменных оценивали по критерию Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении количественных данных показатели представляли в виде среднего и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), в случае распределения, отличного от нормального, – в виде медианного значения ( $Me$ ) и интерквартильного размаха  $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ . Значимость различий непрерывных переменных оценивали в зависимости от распределения данных критерием Стьюдента для зависимых переменных или критерием Вилкоксона. Для сравнения качественных переменных использовали критерий МакНемара. Оценку корреляционных связей между парами количественных признаков осуществляли при нормальном распределении с использованием анализа Пирсона, при отсутствии нормального распределения – с помощью анализа Спирмена. Сравнение с группой контроля осуществляли критерием Краскела – Уоллиса или однофакторным дисперсионным анализом в зависимости от распределения количественных переменных, и критерием  $\chi^2$  или точным критерием Фишера при анализе качественных показателей. Результаты считали статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний индекс массы тела в основной группе на обоих визитах соответствовал избыточной и за время наблюдения вырос (табл. 1). Число курящих уменьшилось на 9,2%, однако употребление алкоголя до нескольких раз в неделю увеличилось на 5%. Симптоматика тревожно-депрессивных, стрессовых расстройств, субъективно воспринимаемое качество жизни значимо не изменились. Выросла распространенность сердечно-сосудистых забо-

леваний за счет впервые выявленных новых семи случаев АГ и шести случаев ишемической болезни сердца. При этом значимого изменения цифр артериального давления и частоты сердечных сокращений не зарегистрировано.

Усредненная baPWV уменьшилась на 0,2 см/с, частота выявления ее повышенных значений – на 10,3%. Усредненное значение ABI выросло на 0,02, оставаясь в пределах нормы. Число пациентов с нормализацией данных КТ легких выросло на 5,4%.

Таблица 1

| Динамика клинических параметров лиц после пневмонии COVID-19 и контрольной группы                        |                             |                                   |                              |          |                                   |            |             |
|--|-----------------------------|-----------------------------------|------------------------------|----------|-----------------------------------|------------|-------------|
| Показатель   |                             | Пациенты после пневмонии COVID-19 |                              | <i>p</i> | Контрольная группа, <i>n</i> = 55 | <i>p</i> * | <i>p</i> ** |
|  |                             | через 3 мес, <i>n</i> = 154       | через 12 мес, <i>n</i> = 154 |          |                                   |            |             |
| Возраст, лет, <i>M</i> ± <i>SD</i>   |                             | 51,3 ± 11,5                       | –                            | –        | 51,8 ± 10,8                       | 0,943      | –           |
| Женский пол, %   |                             | 48,1                              | –                            | –        | 56,4                              | 0,290      | –           |
| Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> , <i>M</i> ± <i>SD</i>  |                             | 28,5 ± 4,4                        | 29,3 ± 4,8                   | <0,001   | 27,4 ± 4,2                        | 0,093      | 0,013       |
| Курят или недавно бросили, <i>n</i> (%)  |                             | 62 (40,3)                         | 46 (31,1)                    | 0,002    | 15 (41,7)                         | 0,877      | 0,266       |
| Употребление алкоголя, <i>n</i> (%)  | не употребляют              | 34 (22,4)                         | 39 (26,7)                    | 0,302    | 5 (13,9)                          | 0,259      | 0,107       |
|  | несколько раз в год         | 70 (46,1)                         | 53 (36,3)                    | 0,002    | 18 (50,0)                         | 0,670      | 0,131       |
|  | несколько раз в месяц       | 42 (27,6)                         | 40 (27,4)                    | 0,690    | 7 (19,4)                          | 0,314      | 0,329       |
|  | Один/несколько раз в неделю | 6 (3,9)                           | 13 (8,9)                     | 0,039    | 6 (16,7)                          | 0,013      | 0,220       |
| Выявление симптомов тревоги по шкале GAD7, <i>n</i> (%)  |                             | 47 (30,7)                         | 36 (25,4)                    | 0,185    | 4 (11,1)                          | 0,017      | 0,067       |
| Выявление симптомов депрессии по шкале PHQ9, <i>n</i> (%)  |                             | 49 (32,0)                         | 36 (25,4)                    | 0,262    | 8 (22,2)                          | 0,249      | 0,697       |
| Выявление симптомов стресса по шкале воспринимаемого стресса 10, <i>n</i> (%)                            |                             | 16 (10,5)                         | 12 (8,5)                     | 1,000    | 2 (5,6)                           | 0,533      | 0,738       |
| Обобщенные показатели опросника SF-36, <i>Me</i> [ <i>Q</i> <sub>25</sub> ; <i>Q</i> <sub>75</sub> ]     | Физический компонент        | 48,5 [43,5; 51,6]                 | 48,7 [44,1; 52,4]            | 0,143    | 50,0 [45,7; 52,7]                 | 0,096      | 0,282       |
|  | Психический компонент       | 66,7 [59,7; 71,4]                 | 67,7 [59,3; 71,9]            | 0,341    | 67,0 [60,9; 71,3]                 | 0,855      | 0,879       |
| Артериальная гипертония, <i>n</i> (%)  |                             | 111 (72,1)                        | 118 (77,1)                   | 0,039    | 38 (69,1)                         | 0,671      | 0,238       |
| Ишемическая болезнь сердца, <i>n</i> (%)   |                             | 21 (13,6)                         | 27 (17,6)                    | 0,031    | 0 (0,0)                           | 0,004      | 0,001       |
| Сахарный диабет 2-го типа, <i>n</i> (%)  |                             | 20 (13,0)                         | 21 (13,6)                    | 1,000    | 1 (1,8)                           | 0,018      | 0,014       |
| Хроническая сердечная недостаточность по классификации NYHA, <i>n</i> (%)                                | I ФК                        | 51 (71,8)                         | 55 (72,4)                    | 0,388    | 15 (88,2)                         | 0,219      | 0,244       |
|  | II ФК                       | 17 (23,9)                         | 18 (23,7)                    | 1,000    | 2 (11,8)                          | 0,344      | 0,348       |
|  | III ФК                      | 3 (4,2)                           | 3 (3,9)                      | 1,000    | 0 (0,0)                           | 1,000      | 1,000       |
| Офисное артериальное давление, мм рт. ст., <i>Me</i> [ <i>Q</i> <sub>25</sub> ; <i>Q</i> <sub>75</sub> ] | Систолическое               | 129 [117; 140]                    | 128 [116; 139]               | 0,511    | 120 [110; 135]                    | 0,068      | 0,081       |
|  | Диастолическое              | 82 [75; 92]                       | 85 [80; 92]                  | 0,164    | 80 [70; 81]                       | 0,011      | 0,001       |
| Частота сердечных сокращений в минуту, <i>Me</i> [ <i>Q</i> <sub>25</sub> ; <i>Q</i> <sub>75</sub> ]     |                             | 63 [58; 70]                       | 62 [56; 68]                  | 0,400    | 72 [66; 78]                       | 0,857      | 0,183       |
| Нормализация данных КТ легких, %   |                             | 38,8                              | 44,2                         | <0,001   | –                                 | –          | –           |
| Показатели эластичности сосудистой стенки  |                             |                                   |                              |          |                                   |            |             |
| Усредненное значение baPWV, см/с, <i>Me</i> [ <i>Q</i> <sub>25</sub> ; <i>Q</i> <sub>75</sub> ]          |                             | 13,2 [11,8; 15,1]                 | 13,0 [11,8; 14,1]            | <0,001   | –                                 | –          | –           |
| Частота выявления повышенной baPWV (≥ 13,5 см/с), <i>n</i> (%)   |                             | 69 (45,4)                         | 54 (35,1)                    | 0,008    | –                                 | –          | –           |
| Усредненное значение ABI, <i>Me</i> [ <i>Q</i> <sub>25</sub> ; <i>Q</i> <sub>75</sub> ]                  |                             | 1,09 [1,04; 1,14]                 | 1,11 [1,06; 1,17]            | 0,012    | –                                 | –          | –           |
| Выявление сниженного ABI (меньше 1), <i>n</i> (%)  |                             | 44 (29,7)                         | 35 (23,5)                    | 0,451    | –                                 | –          | –           |
| Выявление повышенного ABI (1,3 и выше), <i>n</i> (%)   |                             | 3 (2,1)                           | 3 (2,1)                      | 1,000    | –                                 | –          | –           |

Примечание. NYHA – Нью-Йоркская ассоциация сердца; ФК – функциональный класс; КТ – компьютерная томография, *p* – уровень значимости различий между группами пациентов. *p*\* – значимость различий между группой контроля и перенесшими пневмонию COVID-19 через 3 мес после выписки; *p*\*\* – значимость различий между группой контроля и перенесшими пневмонию COVID-19 через 12 мес после выписки.

Основная группа не отличалась от контрольной по возрасту и половому составу, значимые различия по индексу массы тела появились лишь в конце периода наблюдения. Перенесшие пневмонию COVID-19 в раннем восстановительном периоде реже употребляли алкоголь, чаще демонстрировали симптомы тревоги и имели худшие показатели физического компонента здоровья, чем группа контроля. Пациенты основной группы не отличались от контрольной по частоте АГ, но через 3 мес после выписки демонстрировали тенденцию к более высоким цифрам систолического артериального давления, чем в группе контроля, а показатели диастолического давления у них были выше в течение всего наблюдения. В контрольной группе сахарный диабет был выявлен только у одного пациента и не было диагностированных случаев ИБС.

В период госпитализации были значительно превышены референсные значения С-реактивного белка (СРБ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), умеренно – аспаратаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АсАТ) с последующей нормализацией. Исключение – СРБ: его средние значения после выписки снизились, но не достигли нормы (табл. 2).

На 12-м мес после выписки отмечалось значимое снижение уровня общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП). При этом средние значения этих показателей на амбулаторных визитах были выше референсных за исключением триглицеридов. За время амбулаторного наблюдения ухудшились показатели функциональных проб печени, вырос уровень креатинфосфокиназы, креатинина, лейкоцитов, СРБ, в том числе высокочувствительного, ферритина, интерлейкинов 1 и 6. Отмечена тенденция к снижению уровня гликированного гемоглобина, среднее его значение приблизилось к норме. Снизился уровень предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP). За время наблюдения увеличилась частота назначения бета-блокаторов (34,0 против 42,5%;  $p = 0,027$ ) и статинов (46,9 против 59,5%;  $p = 0,001$ ). Не изменилась частота назначения следующих групп препаратов: ингибиторов аденозин-превращающего фермента (26,5 и 30,1%;  $p = 0,327$ ), дезагрегантов (аспирин/клопидогрель) (19,0 и 19,6%;  $p = 0,754$ ), диуретиков (46,3 и 49,7%;  $p = 0,458$ ), сахароснижающих (11,7 и 12,3%;  $p = 1,000$ ).

Таблица 2

## Динамика лабораторных показателей лиц с оптимальной визуализацией после пневмонии COVID-19

| Показатель  | Данные периода госпитализации, $n = 154$ | Через 3 мес после выписки, $n = 154$ | Через 12 мес после выписки, $n = 154$ | $p$ между 3 и 12 мес |
|---|--|--------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| ОХ, ммоль/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ , $M \pm SD$ N 0–5                               | 4,0 [3,3; 4,8]                           | $5,5 \pm 1,4$                        | $5,1 \pm 1,3$                         | <0,001               |
| ТГ, ммоль/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 0–1,7  | –  | 1,3 [0,9; 1,7]                       | 1,1 [0,8; 1,6]                        | 0,039                |
| ЛПВП, ммоль/л, $M \pm SD$ N муж. $\leq 40$ ; жен. $\leq 31$                         | –  | $1,4 \pm 0,4$                        | $1,3 \pm 0,3$                         | 0,514                |
| ЛПНП, ммоль/л, $M \pm SD$ N 0–3   | –  | $3,1 \pm 1,2$                        | $3,1 \pm 1,0$                         | 0,004                |
| АлАТ, ед/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N муж. $\leq 40$ ; жен. $\leq 31$                 | 32,0 [17,3; 57,1]                        | 21,0 [15,9; 27,5]                    | 24,0 [18,6; 30,8]                     | 0,008                |
| АсАТ, ед/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N муж. $\leq 38$ ; жен. $\leq 32$                 | 32,7 [23,9; 46,0]                        | 19,4 [16,0; 24,2]                    | 21,9 [18,6; 25,8]                     | 0,002                |
| ЛДГ, ед/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 0–248  | 421,5 [292,0; 592,0]                     | 183,9 [159,9; 204,3]                 | 181,6 [159,0; 200,4]                  | 0,064                |
| Креатинфосфокиназа, ед/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N муж. $\leq 190$ ; жен. $\leq 167$ | 108,0 [63,0; 227,0]                      | 100,0 [72,1; 139,6]                  | 118,0 [84,1; 165,1]                   | <0,001               |
| Креатинин, мкмоль/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N муж. 62–106; жен. 44–80                | 80,0 [69,0; 97,0]                        | 74,5 [65,3; 83,2]                    | 77,2 [67,4; 87,2]                     | <0,001               |
| Глюкоза натощак, ммоль/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 3,3–6,1                           | 7,2 [6,5; 9,1]                           | 5,4 [5,0; 5,9]                       | 5,4 [5,0; 6,0]                        | 0,806                |
| Гликированный гемоглобин, %, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 4,5–6,0                        | –  | 6,7 [5,7; 8,0]                       | 5,8 [5,5; 6,2]                        | 0,070                |
| Лейкоциты, $10^9$ /л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 4,0–9,0                               | 5,9 [4,4; 7,8]                           | 5,2 [4,3; 6,4]                       | 5,5 [4,6; 6,5]                        | 0,001                |
| Лимфоциты, %, $M \pm SD$ , $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 19–37                            | $23,0 \pm 11,3$                          | 1,8 [1,5; 2,2]                       | 1,9 [1,6; 2,2]                        | 0,387                |
| СРБ, мг/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N $\leq 3$   | 58,5 [15,9; 115,6]                       | 3,5 [1,7; 6,2]                       | 4,2 [2,9; 7,6]                        | <0,001               |
| вчСРБ, мг/л, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N $\leq 3$                                       | –  | 3,8 [1,7; 7,0]                       | 4,1 [2,6; 7,5]                        | <0,001               |
| Ферритин, мг/мл, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N муж. 20–300, жен. 10–120                   | –  | 67,8 [24,5; 151,6]                   | 106,8 [37,9; 184,2]                   | 0,002                |
| Д-димер, мкг/мл, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 0,1–0,5                                    | 0,4 [0,2; 0,6]                           | 0,3 [0,1; 0,4]                       | 0,1 [0,1; 0,2]                        | 0,527                |
| NT-proBNP, пг/мл, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N до 75 лет < 125, старше 75 лет < 400      | –  | 67,4 [29,1; 155,8]                   | 58,7 [30,9; 98,1]                     | 0,007                |
| Интерлейкин-8, пг/мл, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N $\leq 8,11$                           | –  | 13,7 [10,3; 17,3]                    | 13,8 [10,3; 17,2]                     | 0,739                |
| Интерлейкин-1, пг/мл, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ N 0–5                                   | –  | 2,0 [1,6; 2,8]                       | 2,2 [1,6; 3,1]                        | 0,001                |
| Интерлейкин-6, пг/мл, $M \pm SD$ N $\leq 9,7$                                       | –  | $3,0 \pm 1,2$                        | $3,5 \pm 0,9$                         | <0,001               |

Примечание. ЛПВП – липопротеины высокой плотности; вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок, N – норма.

Бóльшие значения объемов ЛЖ в период госпитализации можно объяснить инфузионной нагрузкой, что было патогенетически обосновано в остром периоде заболевания. Бóльший переднезадний размер правого желудочка (ПЖ), вызванный пневмонией, – нагрузкой на малый круг кровообращения (табл. 3).

За период наблюдения площадь правого желудочка (ППЖ) уменьшилась, фракция ее изменения увеличилась, что говорит о структурно-функцио-

нальном восстановлении ПЖ. Несмотря на то что показатели амплитуды смещения фиброзного кольца трикуспидального клапана (TAPSE), пиковой скорости трикуспидальной регургитации, скорости S' трикуспидального кольца, времени ускорения кровотока в выводном тракте ПЖ в основной группе находились в пределах нормы, в динамике они так и не достигли значений группы контроля, что свидетельствует об ограничении функции ПЖ после перенесенной пневмонии COVID-19.

Таблица 3

| Динамика показателей эхокардиографии лиц после пневмонии COVID-19 и контрольной группы, $M \pm SD$ |                                 |  |                                   |                        |        |                              |        |          |
|--|---------------------------------|--|-----------------------------------|------------------------|--------|------------------------------|--------|----------|
| Показатель   |                                 | Данные периода госпитализации, $n = 154$ | Пациенты после пневмонии COVID-19 |                        | $p$    | Контрольная группа, $n = 55$ | $p^*$  | $p^{**}$ |
|  |                                 |  | через 3 мес $n = 154$             | через 12 мес $n = 154$ |        |                              |        |          |
| КДО ЛЖ   | мл                              | 113,1 ± 24,1                             | 90,2 ± 22,8                       | 89,3 ± 20,6            | 0,521  | 88,1 ± 21,7                  | 0,620  | 0,664    |
|  | мл/м <sup>2</sup>               | —  | 46,5 ± 9,9                        | 45,6 ± 8,6             | 0,167  | 46,2 ± 9,1                   | 0,950  | 0,585    |
| КСО ЛЖ   | мл                              | 36,4 ± 12,3                              | 29,3 ± 10,7                       | 27,4 ± 7,3             | 0,031  | 28,6 ± 10,1                  | 0,608  | 0,849    |
|  | мл/м <sup>2</sup>               | —  | 15,1 ± 4,9                        | 14,0 ± 3,1             | 0,009  | 14,9 ± 4,5                   | 0,902  | 0,346    |
| Масса миокарда ЛЖ по формуле «площадь – длина»   | г                               | —  | 145,9 ± 34,6                      | 148,9 ± 32,3           | 0,449  | 136,4 ± 33,8                 | 0,055  | 0,009    |
|  | г/м <sup>2</sup>                | —  | 75,6 ± 15,2                       | 76,1 ± 13,1            | 0,736  | 71,2 ± 12,3                  | 0,039  | 0,012    |
| Фракция выброса ЛЖ (2DSimpson), %  |                                 | 68,2 ± 5,8                               | 68,1 ± 4,8                        | 69,4 ± 3,9             | 0,004  | 68,3 ± 4,8                   | 0,832  | 0,062    |
| Время замедления кровотока в выводном тракте ЛЖ, мс  |                                 | —  | 215,0 ± 32,2                      | 215,7 ± 30,9           | 0,889  | 209,7 ± 29,5                 | 0,292  | 0,217    |
| Время изоволюмического расслабления ЛЖ, IVRT, мс   |                                 | —  | 101,8 ± 22,3                      | 105,9 ± 21,9           | 0,113  | 92,9 ± 21,5                  | 0,012  | <0,001   |
| DT, мс   |                                 | —  | 216,6 ± 61,9                      | 205,8 ± 51,5           | 0,054  | 194,4 ± 39,7                 | 0,123  | 0,338    |
| Скорость раннего диастолического наполнения ЛЖ, E, см/с  |                                 | —  | 71,2 ± 15,5                       | 69,4 ± 14,6            | 0,137  | 71,8 ± 16,2                  | 0,823  | 0,313    |
| Скорость позднего диастолического наполнения ЛЖ, A, см/с   |                                 | —  | 68,8 ± 16,3                       | 68,4 ± 15,4            | 0,731  | 66,2 ± 14,2                  | 0,284  | 0,476    |
| Раннедиастолическая скорость латеральной части митрального кольца, e' later, см/с                  |                                 | —  | 11,0 ± 3,6                        | 10,9 ± 3,4             | 0,349  | 11,1 ± 3,0                   | 0,578  | 0,552    |
| Раннедиастолическая скорость септальной части митрального кольца, e' sept, см/с                    |                                 | —  | 8,4 ± 3,0                         | 8,0 ± 2,5              | 0,023  | 8,8 ± 2,6                    | 0,272  | 0,076    |
| E/e'   |                                 | —  | 9,7 ± 3,1                         | 9,5 ± 2,8              | 0,051  | 9,9 ± 2,4                    | 0,303  | 0,180    |
| Максимальный объем левого предсердия   | мл                              | —  | 47,9 ± 13,6                       | 48,3 ± 12,9            | 0,474  | 47,1 ± 12,2                  | 0,823  | 0,412    |
|  | мл/м <sup>2</sup>               | —  | 24,8 ± 6,6                        | 24,7 ± 5,9             | 0,953  | 24,7 ± 5,2                   | 0,674  | 0,895    |
| Переднезадний размер ПЖ  | мм                              | 26,9 ± 3,3                               | 25,5 ± 2,4                        | 25,8 ± 2,7             | 0,539  | 25,3 ± 2,4                   | 0,631  | 0,440    |
|  | мм/м <sup>2</sup>               | —  | 13,3 ± 1,5                        | 13,3 ± 1,5             | 0,319  | 13,4 ± 1,6                   | 0,918  | 0,727    |
| Диастолическая площадь ПЖ  | см <sup>2</sup>                 | —  | 15,7 ± 4,0                        | 14,8 ± 3,3             | <0,001 | 14,9 ± 3,1                   | 0,289  | 0,723    |
|  | см <sup>2</sup> /м <sup>2</sup> | —  | 8,1 ± 1,7                         | 7,5 ± 1,4              | <0,001 | 7,9 ± 1,5                    | 0,354  | 0,129    |
| Фракция изменения площади ПЖ, %  |                                 | —  | 50,8 ± 8,8                        | 53,0 ± 8,4             | 0,004  | 52,9 ± 8,3                   | 0,117  | 0,678    |
| TAPSE, мм  |                                 | —  | 22,7 ± 2,5                        | 22,7 ± 2,3             | 0,973  | 24,2 ± 2,4                   | <0,001 | <0,001   |
| Пиковая скорость трикуспидальной регургитации, см/с, $Me [Q_{25}; Q_{75}]$                         |                                 | —  | 2,1 [1,8; 2,3]                    | 2,1 [1,9; 2,3]         | 0,553  | 1,9 [1,6; 2,1]               | 0,004  | <0,001   |
| Скорость S' трикуспидального кольца, см/с  |                                 | —  | 9,8 ± 2,6                         | 9,7 ± 2,7              | 0,289  | 12,6 ± 1,8                   | <0,001 | <0,001   |
| Время ускорения кровотока в выводном тракте ПЖ, мс   |                                 | —  | 113,2 ± 22,9                      | 113,7 ± 21,3           | 0,929  | 123,2 ± 26,2                 | 0,003  | 0,007    |

Примечание. DT – время замедления раннего диастолического наполнения ЛЖ, КСО – конечно-систолический объем.

Со стороны показателей ЛЖ у перенесших пневмонию COVID-19 отмечено значимое уменьшение его конечно-систолического объема (КСО) и небольшое увеличение фракции выброса к году после

выписки, что говорит об улучшении систолической функции ЛЖ в позднем восстановительном периоде. Но обращает внимание ухудшение показателей его диастолической функции: значимо снизилась

ранняя диастолическая скорость септальной части митрального кольца ( $e'$  sept) (причем через год после выписки она показала тенденцию к меньшему значению, чем в группе контроля). Появилась тенденция к уменьшению времени замедления раннего диастолического наполнения ЛЖ (DT) и отношения ранней диастолической скорости трансмитрального потока к ранней диастолической скорости движения митрального кольца ( $E/e'$ ). О худшей в сравнении с группой контроля диастолической функции свидетельствует и большее время изоволюмического расслабления ЛЖ (IVRT) в течение всего наблюдения в основной группе.

Отсутствие достоверных различий по показателю LV GLS в сравнении с группой контроля и сопоставимая с группой контроля частота выявления

сниженной LV GLS (табл. 4) позволяет расценить состояние систолической функции ЛЖ в основной группе как удовлетворительное. Улучшение значений сегментарной деформации было отмечено в нижних и боковом сегментах базального уровня ЛЖ, причем в базальном нижнеперегородочном сегменте это улучшение достигло статистической значимости (см. табл. 4). Примечательно, что значение продольной деформации именно в этом сегменте через 3 мес после выписки имело тенденцию к более низкому, чем в группе контроля. Отмечено некоторое улучшение значений сегментарной деформации сегментов среднего уровня ЛЖ, однако статистической значимости оно не достигло. Деформация сегментов верхушечного уровня незначимо ухудшилась.

Таблица 4

| Динамика показателей деформации левого желудочка лиц через 3 и 12 мес после пневмонии COVID-19 и контрольной группы, %, $M \pm SD$ |                                   |                           |       |                              |       |          |
|--|-----------------------------------|---------------------------|-------|------------------------------|-------|----------|
| Параметр продольной деформации   | Пациенты после пневмонии COVID-19 |                           | $p$   | Контрольная группа, $n = 55$ | $p^*$ | $p^{**}$ |
|  | через 3 мес<br>$n = 154$          | через 12 мес<br>$n = 154$ |       |                              |       |          |
| Глобальная (LV GLS)  | $-19,6 \pm 2,2$                   | $-19,7 \pm 2,5$           | 0,854 | $-19,9 \pm 2,7$              | 0,556 | 0,653    |
| Глобальная деформация более $-18\%$ , $n$ (%)  | 33 (21,4)                         | 41 (26,6)                 | 0,268 | 15 (27,3)                    | 0,376 | 0,926    |
| Базальный передний сегмент   | $-17,3 \pm 4,2$                   | $-16,7 \pm 4,0$           | 0,156 | $-17,3 \pm 4,0$              | 0,965 | 0,435    |
| Базальный переднеперегородочный сегмент  | $-16,8 \pm 3,3$                   | $-16,7 \pm 3,4$           | 0,727 | $-17,3 \pm 3,5$              | 0,494 | 0,316    |
| Базальный нижнеперегородочный сегмент  | $-19,2 \pm 3,6$                   | $-20,1 \pm 4,0$           | 0,032 | $-20,1 \pm 3,9$              | 0,060 | 0,851    |
| Базальный нижний сегмент   | $-16,6 \pm 3,0$                   | $-16,8 \pm 3,2$           | 0,596 | $-16,5 \pm 3,2$              | 0,728 | 0,435    |
| Базальный боковой сегмент  | $-17,3 \pm 3,8$                   | $-17,7 \pm 4,1$           | 0,321 | $-17,5 \pm 3,6$              | 0,787 | 0,502    |
| Базальный задний сегмент   | $-18,2 \pm 4,2$                   | $-18,0 \pm 4,0$           | 0,459 | $-18,5 \pm 4,6$              | 0,484 | 0,474    |
| Средний передний сегмент   | $-17,6 \pm 4,2$                   | $-17,4 \pm 4,0$           | 0,556 | $-17,8 \pm 4,5$              | 0,970 | 0,720    |
| Средний переднеперегородочный сегмент  | $-20,8 \pm 3,6$                   | $-20,5 \pm 3,4$           | 0,424 | $-20,8 \pm 3,6$              | 0,926 | 0,850    |
| Средний нижнеперегородочный сегмент  | $-21,2 \pm 3,4$                   | $-21,9 \pm 3,3$           | 0,093 | $-22,2 \pm 3,5$              | 0,125 | 0,808    |
| Средний нижний сегмент   | $-20,4 \pm 3,0$                   | $-20,3 \pm 3,1$           | 0,925 | $-20,3 \pm 3,0$              | 0,699 | 0,984    |
| Средний боковой сегмент  | $-17,9 \pm 3,7$                   | $-18,0 \pm 3,9$           | 0,974 | $-17,7 \pm 3,7$              | 0,482 | 0,343    |
| Средний задний сегмент   | $-19,1 \pm 3,4$                   | $-19,2 \pm 3,7$           | 0,838 | $-19,1 \pm 3,9$              | 0,664 | 0,787    |
| Апикальный передний сегмент  | $-21,3 \pm 5,2$                   | $-21,3 \pm 5,0$           | 0,792 | $-21,8 \pm 5,1$              | 0,846 | 0,912    |
| Апикальный перегородочный сегмент  | $-24,0 \pm 4,7$                   | $-23,9 \pm 4,6$           | 0,954 | $-24,3 \pm 4,0$              | 0,647 | 0,620    |
| Апикальный нижний сегмент  | $-23,2 \pm 4,6$                   | $-23,0 \pm 4,5$           | 0,472 | $-23,8 \pm 4,1$              | 0,658 | 0,701    |
| Апикальный боковой сегмент   | $-21,2 \pm 4,6$                   | $-20,9 \pm 5,0$           | 0,539 | $-21,1 \pm 4,1$              | 0,836 | 0,879    |
| Верхушечный сегмент  | $-22,5 \pm 4,0$                   | $-22,3 \pm 4,2$           | 0,324 | $-22,8 \pm 3,9$              | 0,887 | 0,746    |
| Базальный уровень  | $-17,6 \pm 2,2$                   | $-17,7 \pm 2,6$           | 0,448 | $-17,9 \pm 2,7$              | 0,400 | 0,627    |
| Средний уровень  | $-19,5 \pm 2,0$                   | $-19,6 \pm 2,5$           | 0,734 | $-19,6 \pm 2,6$              | 0,722 | 0,865    |
| Апикальный уровень   | $-22,5 \pm 4,0$                   | $-22,3 \pm 4,2$           | 0,693 | $-22,7 \pm 3,8$              | 0,639 | 0,489    |

Наше исследование не выявило описанных ранее [2, 3] связей показателей сосудистой жесткости с LV GLS, что может быть обусловлено вызванной COVID-19 дисрегуляцией артериально-желудочкового взаимодействия. Через 1 год после выписки показатели сосудистой жесткости (усредненное значение  $baPWV$  ( $r = 0,209$ ;  $p = 0,009$ ) и усредненное значение  $ABI$  ( $r = 0,190$ ;  $p = 0,021$ )) продемонстри-

ровали положительную корреляционную связь с параметрами сегментарной деформации базального уровня ЛЖ.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В госпитальном периоде значения СРБ во много раз превышали референсные, что говорит о крайне высокой активности воспалительного процесса и

выраженности повреждения тканей. В восстановительном периоде значения СРБ так и не достигли нормы, и, более того, выросли к 1-му году после выписки, что указывает на сохраняющийся в позднем восстановительном периоде заболевания потенциал повышенного воспалительного ответа. Высокий в течение восстановительного периода уровень высокочувствительного СРБ и интерлейкина-8, а также рост уровня интерлейкинов 1 и 6 свидетельствует о сохраняющемся сосудистом воспалительном процессе, что может означать угрозу развития сосудистых осложнений.

Об ухудшении сердечно-сосудистого статуса за время наблюдения свидетельствует как увеличение частоты сердечно-сосудистых заболеваний (АГ – на 5%, ИБС – на 4%), так и выросшая на 8,5% необходимость назначения бета-блокаторов, статинов – на 12,6%. Последнее объясняет факт улучшения значений липидного профиля, однако ухудшились показатели функциональных проб печени, повысился уровень креатинфосфокиназы.

Полученные нами данные о нормализации функции ПЖ согласуются с положительной динамикой данных КТ легких наших пациентов. На улучшение систолической функции ЛЖ указывает выявленное уменьшение КСО ЛЖ и небольшое увеличение фракции его выброса. Однако улучшение LV GLS было незначимым, а диастолическая функция ЛЖ ухудшилась, о чем говорит динамика показателей тканевой и импульсно-волновой доплерографии. Учитывая худшие параметры диастолической функции ЛЖ в основной группе по сравнению с группой контроля, COVID-19 может быть рассмотрен как патогенетический фактор нарушений диастолической функции ЛЖ у наших пациентов наряду с прогрессированием сердечно-сосудистой патологии.

Пациенты нашего исследования за период наблюдения продемонстрировали некоторое улучшение показателей сосудистой жесткости, о чем говорит небольшое, но статистически значимое снижение  $baPWV$ , а также снижение частоты выявления повышенных ее значений на 10,3%. Рост усредненного значения ABI в пределах нормальных значений не противоречит этому выводу. Данные результаты можно трактовать как возвращение к исходным (до COVID-19) значениям функциональных параметров сосудистой стенки. Однако частота выявления их нарушений на 2-м визите все же оставалась высокой ( $baPWV$  – 35,1%, ABI – 25,6%). Учитывая обнаруженную нами отрицательную динамику показателей диастолической функции, а также высокую частоту нарушений параметров сосудистой жесткости через год после пневмонии COVID-19, для изучения сте-

пени обратимости сосудистых изменений и их прогностических последствий необходимо более долгосрочное наблюдение.

Улучшение показателей сосудистой жесткости, по нашим результатам, связано с улучшением сегментарной деформации базального уровня ЛЖ. Поскольку ранее было показано, что в раннем восстановительном периоде после COVID-19 снижение сегментарной деформации ЛЖ характерно преимущественно для базальных отделов ЛЖ [12], данный результат можно трактовать как восстановление деформационных свойств ЛЖ, нарушенных в остром периоде COVID-19.

Мы обнаружили единственную работу с результатами годовичного наблюдения показателей сосудистой жесткости и LV GLS после COVID-19. Греческие ученые I. Ikonomidis и соавт. обследовали 70 пациентов (54,5 года) через 4 и 12 мес после установления диагноза COVID-19 и 70 сопоставимых по основным клиническим характеристикам лиц без COVID-19 [13]. Средние значения каротидно-фemorальной скорости распространения пульсовой волны в группе после COVID-19 в динамике незначимо снизились (12,09 и 11,19 м/с,  $p = 0,883$ ), но все же сохранялась тенденция к более высоким их значениям, чем в контрольной группе (11,19 против 10,04 м/с,  $p = 0,057$ ). Через 12 мес после COVID-19 значения LV GLS показали тенденцию к улучшению по сравнению со значениями через 4 мес (–19,55 против –20,32%,  $p = 0,069$ ), хотя и оставались ниже, чем в контрольной группе (–20,32 против –21,98%,  $p = 0,003$ ) [13].

Мы также выявили незначимое улучшение LV GLS через 12 мес после COVID-19, и ее значение оказалось ближе к данным группы I. Ikonomidis и соавт. через 4 мес после заражения COVID-19. Вероятно, это можно связать с более тяжелым течением COVID-19 у наших пациентов: в остром периоде они все нуждались в госпитализации и 8,5% – в искусственной вентиляции легких. Тогда как у 34,3% пациентов группы I. Ikonomidis и соавт. течение заболевания было легким и не потребовало госпитализации, и никому из греческих пациентов не потребовалась искусственная вентиляция легких. Полученные в наших исследованиях значения LV GLS можно отнести к так называемой серой зоне, когда показатели могут быть расценены и как норма, и как патология (это LV GLS от –18% до –20%) [11]. Надо отметить, что по данным греческих исследователей показатели функции правого желудочка значимо улучшились, и через 1 год после COVID-19 достигли показателей контрольной группы [13], что полностью соответствует нашим результатам.

Клиническая значимость нашего исследования заключается в выявлении отрицательной динамики показателей диастолической функции ЛЖ в отдаленные сроки после осложненного течения COVID-19. Оценка сосудистой жесткости и диастолической функции ЛЖ у этого контингента может являться важным прогностическим фактором и маркером повышенного риска сердечно-сосудистых осложнений, а значит, поможет выделить группу пациентов, нуждающихся в дополнительных мерах вторичной профилактики.

Ограничением исследования является отсутствие данных о сосудистой жесткости, продольной деформации и диастолической функции ЛЖ до COVID-19 и в остром периоде заболевания. Стоит учитывать, что выявленные нарушения, помимо прямого действия вируса, могут быть вызваны опосредованным его влиянием через развитие новых и утяжеление уже имевшихся сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, наша выборка ограничена лицами с оптимальной визуализацией при эхокардиографии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У лиц с оптимальной визуализацией при эхокардиографии через 1 год после пневмонии COVID-19 в сравнении с результатами обследования через 3 мес отмечается ухудшение параметров диастолической функции ЛЖ. Показатель LV GLS находился в пределах «серой зоны» и значимо не изменился. Отмечено улучшение показателей сосудистой жесткости, связанное с улучшением деформации сегментов базального уровня ЛЖ.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Mottram P.M., Haluska B.A., Leano R., Carlier S., Case C., Marwick T.H. Relation of arterial stiffness to diastolic dysfunction in hypertensive heart disease. *Heart*. 2005;91(12):1551–1556. DOI: 10.1136/hrt.2004.046805.
- Çiftel M., Ateş N., Yılmaz O. Investigation of endothelial dysfunction and arterial stiffness in multisystem inflammatory syndrome in children. *Eur. J. Pediatr*. 2022;181(1):91–97. DOI: 10.1007/s00431-021-04136-6.
- Kim H.L., Seo J.B., Chung W.Y., Kim S.H., Kim M.A., Zo J.H. Independent association between brachial-ankle pulse wave velocity and global longitudinal strain of left ventricle. *Int. J. Cardiovasc. Imaging*. 2015;31(8):1563–1570. DOI: 10.1007/s10554-015-0744-5.
- Hwang J.W., Kang S.J., Lim H.S., Choi B.J., Choi S.Y., Hwang G.S. et al. Impact of arterial stiffness on regional myocardial function assessed by speckle tracking echocardiography in patients with hypertension. *J. Cardiovasc. Ultrasound*. 2012;20(2):90–96. DOI: 10.4250/jcu.2012.20.2.90.
- Zota I.M., Stătescu C., Sascău R.A., Roca M., Anghel L., Maștaleru A. et al. Acute and Long-Term Consequences of COVID-19 on Arterial Stiffness-A Narrative Review. *Life (Basel)*. 2022;12(6):781. DOI: 10.3390/life12060781.
- Ayres J.S. A metabolic handbook for the COVID-19 pandemic. *Nat. Metab*. 2020;2(7):572–585. DOI: 10.1038/s42255-020-0237-2.
- Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M., Crawford J.M., McGinn T., Davidson K.W. et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020;323(20):2052–2059. DOI: 10.1001/jama.2020.6775.
- Liberati A., Altman D.G., Tetzlaff J., Mulrow C., Gøtzsche P.C., Ioannidis J.P.A. et al. The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Healthcare Interventions: Explanation and Elaboration. *BMJ*. 2009;339:b2700. DOI: 10.1136/bmj.b2700.
- Ikonomidis I., Katsanos S., Triantafyllidi H., Parissis J., Tzortzis S., Pavlidis G. et al. Pulse wave velocity to global longitudinal strain ratio in hypertension. *Eur. J. Clin. Invest*. 2019;49(2):e13049. DOI: 10.1111/eci.13049.
- Alcidi G.M., Esposito R., Evola V., Santoro C., Lembo M., Sorrentino R., Lo Iudice F. et al. Normal reference values of multilayer longitudinal strain according to age decades in a healthy population: A single-centre experience. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*. 2018;19(12):1390–1396. DOI: 10.1093/ehjci/jex306.
- Lang R.M., Badano L.P., Mor-Avi V., Afilalo J., Armstrong A., Ernande L. et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J. Am. Soc. Echocardiogr*. 2015;28(1):1–39.e14. DOI: 10.1016/j.echo.2014.10.003.
- Широков Н.Е., Ярославская Е.И., Криночкин Д.В., Мусихина Н.А., Петелина Т.И., Осокина Н.А. Связь вариантов скрытой контрактильной дисфункции левого желудочка и признаков иммунного воспаления у пациентов, перенесших COVID-19-пневмонию. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(3):3434.
- Ikonomidis I., Lambadiari V., Mitrakou A., Kountouri A., Katogiannis K., Thymis J. et al. Myocardial work and vascular dysfunction are partially improved at 12 months after COVID-19 infection. *Eur. J. Heart Fail*. 2022;24(4):727–729. DOI: 10.1002/ehf.2451.

## Вклад авторов

Ярославская Е.И. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Широков Н.Е., Криночкин Д.В., Осокина Н.А. – анализ и интерпретация данных ЭхоКГ. Мигачева А.В. – анализ и интерпретация показателей сосудистой жесткости. Коровина И.О. – анализ и интерпретация данных обследования пульмонолога,

компьютерной томографии легких. Сапожникова А.Д. – статистический анализ данных. Петелина Т.И. – окончательное утверждение рукописи для публикации.

## Информация об авторах

**Ярославская Елена Ильинична** – д-р мед. наук, зав. лабораторией инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования, Тюменский кардиологический научный центр, Томский НИМЦ, г. Тюмень, yaroslavskaya@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-1436-8853>

**Широков Никита Евгеньевич** – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования, Тюменский кардиологический научный центр, Томский НИМЦ, г. Тюмень, shirokovne@infarkta.net, <http://orcid.org/0000-0002-4325-2633>

**Криночкин Дмитрий Владиславович** – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования, Тюменский кардиологический научный центр, Томский НИМЦ, г. Тюмень, krin@infarkta.net, <http://orcid.org/0000-0003-4993-056X>

**Мигачева Анастасия Викторовна** – лаборант-исследователь, лаборатория инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования, Тюменский кардиологический научный центр, Томский НИМЦ, г. Тюмень, MigachevaAV@infarkta.net, <http://orcid.org/0000-0002-0793-2703>

**Коровина Ирина Олеговна** – врач-пульмонолог, Областная клиническая больница № 1, г. Тюмень, <http://orcid.org/0000-0002-8146-459X>

**Осокина Надежда Александровна** – мл. науч. сотрудник, лаборатория инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования, Тюменский кардиологический научный центр, Томский НИМЦ, г. Тюмень, osokina569@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-3928-8238>

**Сапожникова Анастасия Дмитриевна** – лаборант-исследователь, лаборатория инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования, Тюменский кардиологический научный центр, Томский НИМЦ, г. Тюмень, osokina569@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0961-2348>

**Петелина Татьяна Ивановна** – заместитель директора по научной работе Тюменского кардиологического научного центра, Томский НИМЦ, г. Тюмень, Petelina@infarkta.net, <http://orcid.org/0000-0001-6251-4179>.

(✉) **Ярославская Елена Ильинична**, yaroslavskaya@gmail.com

Поступила в редакцию 29.03.2023;  
одобрена после рецензирования 28.09.2023;  
принята к публикации 16.11.2023

УДК 616.894-053.8-02:616.89-008.45/.48  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-105-115>



## Роль нейропептидов (окситоцин, вазопрессин, нейропептид S) в развитии когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера

Авлиякульева А.М.<sup>1</sup>, Киндякова Е.К.<sup>1</sup>, Кузьмина С.В.<sup>2</sup>, Горина Я.В.<sup>1,3</sup>, Лопатина О.Л.<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup> Казанский государственный медицинский университет (Казанский ГМУ) Россия, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49

<sup>3</sup> Институт фундаментальной биологии и биотехнологии (ИФБиТ), Сибирский федеральный университет (СФУ) Россия, 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79

### РЕЗЮМЕ

С каждым годом количество людей с диагностированной болезнью Альцгеймера стремительно увеличивается. Несмотря на многочисленные исследования, подобрать терапию, которая бы надежно замедляла течение болезни и приводила бы к полному излечению, не удалось. В таком случае любое рассмотрение вопроса, касающееся поиска лекарственных веществ для коррекции когнитивных и психоэмоциональных нарушений при развитии болезни Альцгеймера, является актуальной проблемой, заслуживающей особого внимания.

Проводился сбор статей из базы данных PubMed, опубликованных за последние 10 лет. Целью настоящего обзора является анализ последних экспериментальных данных и результатов, касающихся взаимосвязи между болезнью Альцгеймера и активностью таких нейропептидов, как окситоцин, вазопрессин и нейропептид S, а также описывающих эффекты, которые возникают при их введении. Это позволит более полно понять проблематику и обеспечит актуализацию сведений по данному вопросу. Наиболее подробно рассматривается способность нейропептидов восстанавливать нарушенные когнитивные функции у лабораторных животных с моделью болезни Альцгеймера.

Детально изложенная информация о наличии взаимосвязи и положительном влиянии изучаемых нейропептидов на болезнь Альцгеймера позволяет рассматривать данные нейропептиды в качестве потенциальных лекарственных препаратов для лечения данного заболевания.

**Ключевые слова:** болезнь Альцгеймера, нейропептиды, окситоцин, вазопрессин, нейропептид S

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов при проведении исследования.

**Источники финансирования.** Работа выполнена в рамках проекта «Зеркальные лаборатории» Национального исследовательского университета «Высшая школа экономики» (Санкт-Петербург) (соглашение о научном сотрудничестве ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России с НИУ ВШЭ № сс/6.18.1-11.1/220922-33 от 22.09.2022).

**Для цитирования:** Авлиякульева А.М., Киндякова Е.К., Кузьмина С.В., Горина Я.В., Лопатина О.Л. Роль нейропептидов (окситоцин, вазопрессин, нейропептид S) в развитии когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):105–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-105-115>.

## The role of neuropeptides (oxytocin, vasopressin, neuropeptide S) in the development of cognitive impairment in Alzheimer's disease

Avliyakulyeva A.M.<sup>1</sup>, Kindyakova E.K.<sup>1</sup>, Kuzmina S.V.<sup>2</sup>, Gorina Y.V.<sup>1,3</sup>, Lopatina O.L.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> V.F. Voino-Yasentsky Krasnoyarsk State Medical University

1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

<sup>2</sup> Kazan State Medical University

49, Butlerova Str., Kazan, 420012, Russian Federation

<sup>3</sup> School of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University

79, Svobodny Av., Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation

### ABSTRACT

Every year, the number of people diagnosed with Alzheimer's disease is rapidly increasing. Despite numerous studies, it was not possible to select a therapy that would reliably slow down the course of the disease and result in its complete cure. In this case, any consideration of the issue related to the search for drugs to eliminate cognitive and psychoemotional disorders in Alzheimer's disease is a pressing problem that deserves special attention.

We collected articles from the PubMed database published over the past 10 years. The aim of this review was to analyze the latest experimental data and results regarding the relationship between Alzheimer's disease and the activity of neuropeptides, such as oxytocin, vasopressin, and neuropeptide S, and describing the effects that occur upon their administration. This will allow for a more complete understanding of the problem and update information on this issue. The ability of neuropeptides to restore impaired cognitive functions in an animal model of Alzheimer's disease is examined in more detail.

Detailed information on the relationship and positive effect of the studied neuropeptides on Alzheimer's disease allows to consider these neuropeptides as potential drugs for the treatment of this disease.

**Keywords:** Alzheimer's disease, neuropeptides, oxytocin, vasopressin, neuropeptide S

**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 performed within the Mirror laboratories project at the National Research University "Higher School of Economics" (Saint Petersburg) (Research collaboration agreement between F. Voino-Yasentsky Krasnoyarsk State Medical University and Higher School of Economics No. cc/6.18.1-11.1/220922-33 of 22.09.2022).

**For citation:** Avliyakulyeva A.M., Kindyakova E.K., Kuzmina S.V., Gorina Y.V., Lopatina O.L. The role of neuropeptides (oxytocin, vasopressin, neuropeptide S) in the development of cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):105–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-105-115>.

### ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенным нейродегенеративным заболеванием. Текущие оценки показывают, что в настоящее время во всем мире деменция диагностирована у 44 млн человек. Прогнозируется, что к 2050 г. по мере старения населения это число увеличится более чем в 3 раза. Распространенность БА увеличивается примерно в 2 раза каждые 5 лет после 65 лет [1].

Несмотря на то, что были предприняты значительные усилия по исследованию данного заболева-

ния, его сложная многофакторная патофизиология делает его трудно поддающимся лечению. Терапия, которая бы доказано влияла на патологию и течение заболевания, все еще недоступна. В настоящее время одобренные лекарственные средства обеспечивают лишь временное облегчение симптомов, поэтому ведутся поиски и разработка новых средств для терапии БА [1, 2].

Причиной данного заболевания являются наследственные мутации генов, кодирующих трансмембранный белок – предшественник амилоида (APP), или белков пресенилин-1 и пресенилин-2 [3], связан-

ный с метаболизмом Abeta (A $\beta$ ), который является основным биомаркером БА [4].

Ранняя диагностика и надлежащее лечение заболевания могут значительно повысить качество жизни и функционирование пациентов, а также снизить выраженность когнитивных (потеря памяти, дезориентация) и нейроповеденческих нарушений (депрессии, апатии, бреда, галлюцинаций, нарушений сна). Ингибиторы холинэстеразы (донепезил, галантамин и ривастигмин) и антагонист глутаматных NMDA-рецепторов (мемантин) являются лекарственными препаратами, одобренными клиническими рекомендациями для базисной терапии БА [5, 6]. К сожалению, данные препараты не могут обеспечить полное излечение, а лишь способны снизить выраженность когнитивных и поведенческих нарушений. Это является причиной активного поиска новых лекарственных веществ, которые бы позволили не только замедлять развитие и выраженность симптомов, но и обеспечить таргетное воздействие на ключевые звенья патогенеза заболевания.

## ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА: ОКСИТОЦИН И ВАЗОПРЕССИН

Вазопрессин (AVP) и окситоцин (OXT) – два родственных нейропептида, отличающиеся всего двумя аминокислотами и являющиеся эволюционно древними и высококонсервативными нейропептидами в филогенезе, которые регулируют широкий спектр физиологических функций [7].

Нейропептиды продуцируются главным образом в супраоптическом (SON), паравентрикулярном (PVN) ядрах гипоталамуса [8], а транспортируются в заднюю долю гипофиза, где хранятся и в конечном итоге высвобождаются в кровоток, оказывая эндокринное действие [9]. Также они синтезируются в некоторых других клетках центральной нервной системы и периферических органах. Так, AVP дополнительно синтезируется клетками супрахиазматического ядра, ядра ложа конечной полоски и медиального ядра миндалевидного тела [10]. Продукция OXT также осуществляется нейронами периферической нервной системы: в остеобластах костного мозга, печени, в нервных волокнах желудочно-кишечного тракта, подкожной жировой клетчатке [11], кардиомиоцитах, жировой ткани, бета- и альфа-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы [12].

Интересным фактом является то, что крупноклеточные нейроны SON и PVN могут высвобождать OXT и AVP из несинаптических областей, таких как дендриты [13], путем объемной передачи. Данный тип передачи приводит к гораздо более диффузному сигналу, который потенциально может воздейство-

вать на большое количество нейронов в пределах межклеточного пространства, так как расстояние, на которое такой сигнал распространяется, значительно превышает размеры синаптической щели. Высвобождение OXT и AVP вызывает различные осмотические, репродуктивные и социальные стимулы. Экскреция OXT и AVP происходит во время родов, агрессивного и социального взаимодействия. Окситоцин также высвобождается во время спаривания, кормления грудью и в ответ на более тонкие социальные стимулы, включая вокализацию, зрительный контакт и прикосновение [14].

При попадании в системный кровоток нейропептиды оказывают эндокринное действие. Так, AVP регулирует солевой и водный баланс, а OXT стимулирует сокращение матки и лактацию [9]. Помимо эндокринных эффектов данные нейропептиды играют важную роль в организации центральных процессов. Система OXT/AVP участвует в формировании социальной, рабочей, пространственной и эпизодической памяти, опосредованной областями CA2 и CA3 гиппокампа, миндалевидным телом и префронтальной корой [15]. Данные нейропептиды моделируют в гиппокампе такие важные процессы, как возбудимость нейронов, синаптическую пластичность и память социального распознавания. Они оказывают влияние не только на формирование памяти, но и регулируют социальное обучение и поведение, включая узнавание сородичей, социальную привязанность и родительское поведение (рис. 1).

На данный момент известно о существовании одного рецептора к OXT (OXTR) и трех рецепторов к AVP (AVPR1A, AVPR1B, AVPR2). Эти рецепторы, за исключением AVPR2, широко распространены во всех областях гиппокампа, особенно в области CA2, которая участвует как в кодировании и воспроизведении социальной памяти, так и в развитии социальной агрессии [16]. Система OXT/AVP пластична, и ее функции зависят от контекста, который включает в себя жизненный опыт и причину стресса или травмы [17].

Существуют убедительные доказательства нейротропного действия окситоцина. Например, введение окситоцина стимулирует нейрогенез в гиппокампе, тогда как делеция OXTR у мышей вызывает его необратимые патологические изменения. Выборочное удаление OXTR внутри «взрослых» гранулярных клеток (abGCs) нарушает программы экспрессии генов, от которых зависит рост дендритов и развитие шипов. В результате формируются клетки с недоразвитыми синапсами и нарушенной функцией [18].

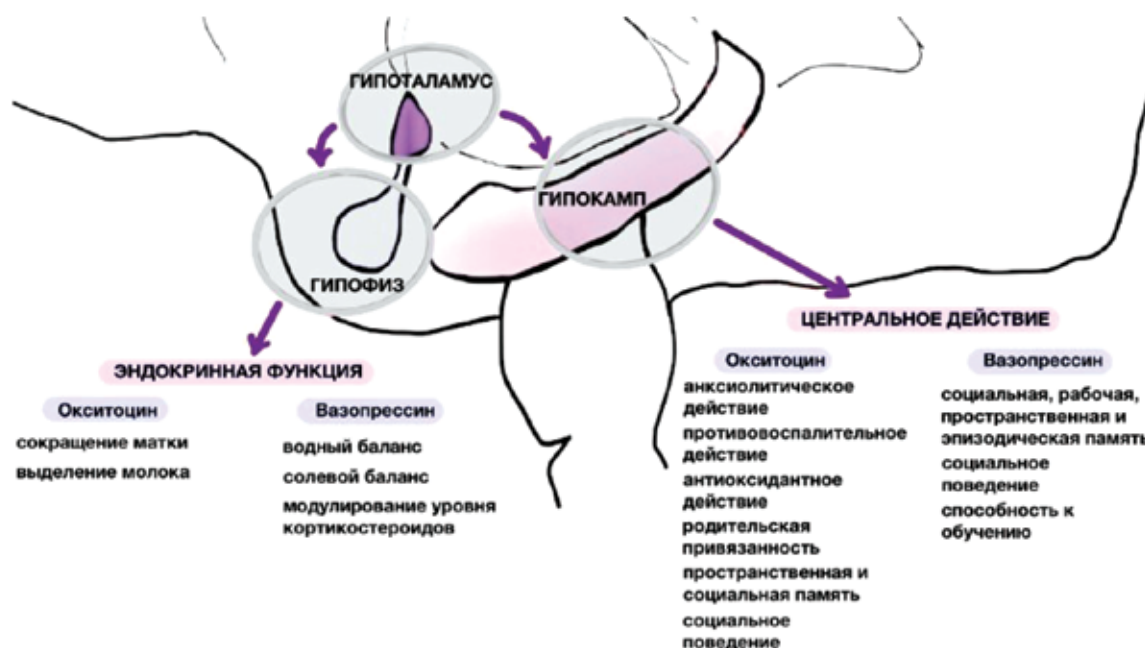


Рис. 1. Центральное и периферическое действие окситоцина и вазопрессина на организм

## БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА И НАРУШЕНИЕ СОЦИАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Характерными признаками в поведении при развитии БА и деменции являются возбуждение, агрессивное и импульсивное поведение, которые по мере прогрессирования заболевания только усиливаются

в своем проявлении. Эти симптомы связаны с нарушением эмоциональной обработки, особенно с дефицитом способности воспринимать и распознавать эмоции других [19].

Все это приводит к нарушению социального познания и трудностям в социальном взаимодействии (рис. 2).



Рис. 2. Симптомы болезни Альцгеймера

Большинство исследований сосредоточено на оценке когнитивных функций, но оценка психоэмоциональных нарушений может быть чувствительным методом для исследования клинического состояния при БА, что может повлечь за собой внедрение новых и эффективных способов лечения [20]. Существуют крупные исследования, результаты которых подтверждают эффективность психосоциальных вмешательств для замедления прогрессирования когнитивных нарушений у пациентов с БА. К таким психосоциальным вмешательствам относят терапию воспоминаниями, арт-терапию, программу ходьбы и многое другое [21].

## ВЗАИМОСВЯЗЬ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА И НЕЙРОПЕПТИДОВ

Функционирование системы ОХТ/AVP изменяется при нейродегенеративных заболеваниях. На основе этого было высказано предположение, что данные нейропептиды могут играть важную роль в процессе возникновения социальной, эмоциональной и когнитивной дисфункции при БА.

### Окситоцин и болезнь Альцгеймера

ОХТ рассматривается в качестве потенциально-го лекарственного препарата для лечения БА, поскольку различными исследованиями обнаружено наличие у данного нейропептида широкого спектра эффектов, которые могут оказать положительную динамику в комплексной терапии заболевания. Память социального распознавания позволяет запоминать сородичей и идентифицировать их как уже знакомых. Эта способность важна для нормального социального поведения, формирования и стабильности социальных взаимодействий. Одним из симптомов БА является неспособность узнавать знакомых людей, что создает дополнительные трудности для самого больного и для лиц, ухаживающих за ним.

Гипотеза нейронной сети социального поведения Ньюмана предполагает наличие взаимосвязи между областями мозга, который включает в себя миндалевидное тело, ядро ложа концевой полоски, боковую перегородку, медиальную преоптическую область, вентромедиальный гипоталамус и передний гипоталамус. Считается, что SBNN контролирует различные типы мотивированного социального поведения, включая защитную агрессию, память социального признания, родительское поведение и социальную коммуникацию. Важно отметить, что ОХТ/AVP и их рецепторы обнаружены на всех участках SBNN, что указывает на их участие в регуляции социального поведения [22].

ОХТ играет важную роль в регуляции памяти социального распознавания при социальных взаи-

модействиях, тогда как условная делеция ОХТ в областях CA2/CA3а гиппокампа нарушает формирование памяти социального распознавания. В эксперименте Y.-T. Lin и соавт. сравнивали показатели мышей дикого типа и мышей нокаутных по ОХТ в трехкамерном тесте на общительность. У группы нокаутных мышей имелся дефект сохранения долгосрочной памяти социального распознавания, так как спустя 7 сут после обучения их память значительно ухудшалась. Согласно полученным данным, можно предположить, что передача сигналов ОХТ особенно важна для сохранения долгосрочной памяти социального распознавания [23].

Результаты другого исследования показывают важность ОХТ для идентификации различных социальных стимулов, не только области CA2/CA3, но и зубчатой извилины. При введении Cre-экспрессирующего вируса в передний отдел зубчатой извилины самцам мышей 8-недельного возраста с условным нокаутом ОХТ наблюдалось нарушение в способности различать социальные стимулы, животные не проявляли предпочтение к новой особи и имели коэффициенты дискриминации значительно ниже, чем у контрольной группы [24].

Долговременная потенция (Long-term potentiation, LTP) лежит в основе таких процессов, как обучение и формирование памяти. При нейродегенерации и старении LTP снижается, что проявляется ухудшением когнитивных способностей человека. Из-за накопления A $\beta$  в головном мозге при БА наблюдается подавление LTP в гиппокампе. J. Takahashi и соавт. изучили синаптическую пластичность на срезах гиппокампа самцов мышей 5–7-недельного возраста. Было выявлено, что ОХТ реверсирует нарушение LTP, вызванное перфузией A $\beta$  25–35 в гиппокамп. Данный эффект опосредован ОХТ, поскольку при введении антагониста ОХТ восстановление LTP нарушалось. Также авторы связали данный эффект с фосфорилированием ERK-киназы и притоком ионов Ca<sup>2+</sup> через Ca<sup>2+</sup>-проницаемые AMPA-рецепторы, поскольку добавление их антагонистов к срезам гиппокампа нарушало способность окситоцина восстанавливать LTP [25].

Ряд исследований подтверждает положительное влияние окситоцина на пространственную память. Интрацеребровентрикулярное введение нативного ОХТ в желудочек и интраназальное введение производного ОХТ мышам (линии ddY) способствовали восстановлению пространственной памяти в Y-образном лабиринте и водном лабиринте Морриса, нарушения в которой были вызваны введением A $\beta$  25–35. Данное улучшение вызывалось окситоцином, поскольку введение антагониста ОХТ приводило

к ингибированию улучшений спонтанного чередования и ухудшению пространственной памяти. Роль нейропептида, возможно, связана с восстановлением нарушений в пространственной памяти именно при нейродегенеративных состояниях [26].

Интрацеребровентрикулярное введение мало-практично и в некоторой степени травматично, а введенные таким способом нейропептиды имеют низкую способность проникать через гематоэнцефалический барьер [26]. Из-за этих недостатков альтернативное интраназальное введение кажется более перспективным, поскольку данный метод является неинвазивным и обеспечивает удобство применения.

Рядом исследований доказано, что интраназальное введение ОХТ будет способствовать проникновению пептида в головной мозг в необходимом количестве. Исследование фармакокинетики нейропептида при интраназальном введении показало, что более 95% ОХТ транспортировалось в головной мозг непосредственно из носовой полости [27]. Проникновение пептида в головной мозг происходит путем прямого транспорта вещества через обонятельные и тройничные нервные волокна, иннервирующие носовую полость [28].

С.О. El-Ganainy и соавт. исследовали влияние интраназального введения окситоцина на крысах (линии Спрег-Доули) с моделью БА. В ходе проведения водного лабиринта Морриса наблюдалось снижение латентного периода, что говорит о высокой способности крыс к пространственному обучению после лечения ОХТ. Отмечалось снижение Аβ 1-42 в гиппокампе у группы крыс, которые получали лечение ОХТ в комбинации с галантамином. Также лечение ОХТ подавляло активацию каспазы-3, что ингибировало процесс апоптоза, предотвращало гибель нейронов и образование нейрофибриллярных клубков. Это согласовывалось с результатами гистопатологического исследования, где отмечались упорядоченность пирамидных клеток гиппокампа и улучшение их морфологии [29].

Микроглия представляет собой иммунные клетки головного мозга и играет ключевую роль в возникновении нейровоспаления [30]. Отложение Аβ, тау-белок и повреждение нейронов приводят к активации микроглии, что способствует персистированию воспаления и образованию активных форм кислорода [31]. Активированная микроглия стимулирует нейроны к перепроизводству Аβ, из-за чего возникает потеря синапсов, образование внеклеточных бляшек и нейрофибриллярных клубков. Это приводит к усилению активации микроглии [32], и формируется петля положительной обратной связи, способствующая развитию БА.

Поскольку активированная микроглия считается одной из важных составляющих патогенеза БА, необходимо проводить поиски и изучать способность веществ к сдерживанию ее активации, что и сделали авторы следующего исследования. При иммуногистохимическом анализе срезов головного мозга старых мышей линии APP/PS1 (с мутацией генов белка-предшественника амилоида и пресенилина-1) в области CA1 гиппокампа была обнаружена повышенная иммунореактивность Iba-1 (волчаночный антикоагулянт), что говорит об активированной микроглии. При интраназальном введении ОХТ контрольным группам наблюдалось снижение иммунореактивности Iba-1 вокруг амилоидных бляшек по сравнению с контролем, получавшим физиологический раствор. При воздействии Аβ на очищенную культуру микроглии наблюдается её активация, сопровождающаяся увеличением иммунореактивности Iba-1 и CD68 (кластер дифференцировки 68). Обработка культуры ОХТ способствовала ослаблению активации микроглии, индуцированной Аβ [33].

При БА формирующееся нейровоспаление характеризуется резко повышенной продукцией провоспалительных цитокинов (интерлейкин (IL)-1, IL-6, фактор некроза опухоли-альфа (TNFα), активацией ферментов, синтезирующих низкомолекулярные медиаторы воспаления [34]. Необходимо отметить существование экспериментально доказанных данных противовоспалительной активности ОХТ. Предварительная обработка клеток микроглии подавляла синтез провоспалительных цитокинов, провоцируемый введением липополисахарида. Противовоспалительное действие ОХТ связано с ингибированием киназ, нацеленных на эукариотический фактор инициации-2α (eIF-2α), что приводит к торможению пути p-eIF-2α-ATF4 и снижению экспрессии TNFα и IL-6, также к угнетению активации инфламмасом, что подавляет синтез IL-1β [35].

При поражении медиальной части гипоталамуса снижался уровень мРНК ОХТ, что приводило к повышенной активации пути ядерного фактора-κВ и увеличению экспрессии мРНК TNFα и IL-1β, что может являться причиной снижения противовоспалительной защиты [36]. Предварительное введение ОХТ в первичную микроглию и клетки микроглии BV-2 (клетки, выделенные от мышей C57/BL6) приводило к значительному ингибированию активности микроглии, индуцируемой липополисахаридом. Это выражалось в подавлении экспрессии и высвобождения циклооксигеназы-2 и индуцибельной синтазы оксида азота. При нейровоспалении в глии накапливаются провоспалительные цитокины, которые могут приводить к повреждению нейронов и прогрес-

сированию нейродегенеративных заболеваний [37]. Из-за этого важным элементом терапии БА является приостановление нейровоспаления, которое можно добиться за счет использования ОХТ в качестве лекарственного средства.

Необходимо отметить результаты недавнего исследования, в ходе которого было обнаружено влияние ОХТ на генерацию и отложение амилоидных бляшек. У мышей (линии APP/PS1), получавших лечение окситоцином, наблюдается уменьшение площади бляшек и снижение иммунореактивности Аβ в гиппокампе. Также нейропептид оказывал влияние на морфологию амилоидных бляшек. Основные группы мышей, которым вводился ОХТ, имели бляшки с более плотным ядром, чем контрольные группы [33]. Существует гипотеза, согласно которой бляшки с плотным ядром обладают механизмом ограничения, возможно, схожим с гранулемами туберкулеза. С его помощью микроглия защищает мозг от дегенерации, связанной с БА. Высокополимеризованный и уплотненный Аβ в составе ядер в меньшей степени оказывает повреждающее действие и ограничивает распространение олигомеров и протофибрилл Аβ по всему мозгу [38].

Поскольку одним из симптомов БА является повышенная тревожность, наличие анксиолитического эффекта у ОХТ только увеличивает интерес к данному нейропептиду. Влияние ОХТ на уровень тревоги изучали с помощью теста «Темно-светлая камера». При введении нейропептида в PVN самцам крыс (линии Вистар) наблюдалось снижение чувства тревоги. Предварительная инфузия блокатора канала транзиторного рецепторного потенциала SKF96365 в PVN блокировала анксиолитический эффект ОХТ [39].

### Вазопрессин и болезнь Альцгеймера

Как известно, AVP регулирует водный баланс и артериальное давление. Он также является нейротрансмиттером и участвует в модуляции социальной коммуникации, пространственной памяти, влияет на консолидацию и восстановление памяти. Одними из характерных симптомов БА являются нарушения пространственной памяти и памяти социального распознавания, которые проявляются в виде дезориентации и неспособности узнавать знакомые лица. Как показали результаты исследования, интраназальное применение AVP (4–8) в течение 4 нед (основной метаболический фрагмент AVP, отличающийся по химической структуре, но оказывающий схожее действие) заметно улучшало рабочую и долговременную память у мышей с моделью БА (линии APP/PS1), что было доказано в тесте Y-образный лабиринт. Кроме того, обнаружено снижение

латентного периода в тесте водного лабиринта Морриса, что свидетельствует об улучшении пространственной памяти [40].

Результаты работы C.J. Finton и соавт. показывают важность длительности терапии AVP для получения значимого влияния на пространственную память. Значимость влияния на пространственную память зависит от длительности терапии AVP. Хроническое интраназальное введение нейропептида показало положительное влияние на пространственную память, в то время как однократное введение AVP перед тестированием значимого влияния не оказывало [41].

Для подтверждения наличия связи между уровнем AVP и пространственной памятью изучалось влияние антагониста V1aR. Внутривентрикулярное введение крысам (линии Вистар) SR49059 перед проведением водного лабиринта Морриса помогло выявить влияние AVP на пространственную память и обучение. Результаты вестерн-блоттинга и иммуноферментного анализа (ИФА) показали значительное снижение экспрессии AVP и V1aR, что подтверждает связь между уровнем нейропептида и пространственной памятью [42].

Помимо способности AVP восстанавливать нарушения пространственной памяти, данный нейропептид также является важным компонентом для нормального социального распознавания и формирования социальной памяти. Исследования показывают, что блокирование рецепторов AVP, а также снижение уровня данного нейропептида вызывают нарушения социальной памяти. Так, мыши с нокаутом по OXTR и AVPR1b в пирамидных нейронах гиппокампа CA2 имеют нарушения социальной памяти – нарушение обнаружения социальной новизны [43]. При тестировании крыс (линии Брэттлборо), нокаутных по AVP, наблюдаются нарушения в распознавании новых объектов и условном обучении, а также снижение способности к социальной дискриминации [44].

Гиппокамп является одной из ключевых структур, связанных с обучением, памятью и мышлением, активность которых зависит от скорости возбуждения нейронов данного отдела мозга. Нейропептид способен модулировать электрофизиологические изменения, вызываемые Аβ. AVP-индуцированное изменение спонтанных разрядов в гиппокампе в области CA1 может способствовать защите синаптической пластичности и когнитивных функций, нарушение которых лежит в основе многих нейродегенеративных заболеваний [45].

Социальные воспоминания формируются частично в результате кодирования информации гиппокампом. Область CA2-гиппокампа, и в особенно

сти экспрессируемый там AVPR1b, необходимы для формирования памяти. В ходе поведенческих тестирований мышей (линия GENSAT QZ27), инъектированных аденоассоциированным вирусом (AAV), и мышей дикого типа подвергали воздействию незнакомой самки и повторно подвергали воздействию исходной или новой самки после 2-часового интервала удержания. При этом в испытаниях присутствовала либо отсутствовала оптическая стимуляция окончаний нейронов PVN, иннервирующих CA2. Оптическая стимуляция при первичном контакте (приобретение памяти) улучшало социальное распознавание, т.е. снижалось обонятельное исследование самки при ее повторном воздействии. При этом оптическая стимуляция не оказывала влияния на общительность мышей. Стимуляция при последующем контакте (воспроизведение памяти) улучшение не вызывала. Введение антагониста AVPR1b в CA2 блокировало усиление социального распознавания. Это говорит о том, что путь AVP PVN→CA2, зависящий от передачи сигналов AVPR1b, способствует приобретению новых воспоминаний, усиливая социальную память. Авторами исследования было выдвинуто предположение, что таргетная терапия агонистами AVPR1b может быть потенциальным методом лечения пациентов с деменцией, имеющих сниженную социальную память [46].

### Нейропептид S и болезнь Альцгеймера

Нейропептид S (NPS) представляет собой эндогенный пептид в центральной нервной системе, который избирательно связывает и активирует рецепторы NPS. Экспрессия мРНК NPSR происходит по всей центральной нервной системе, в значительном количестве в обонятельных ядрах, таламусе, переднем и заднем гипоталамусе, а также в коре, миндалевидном теле и гиппокампе. Система NPS/NPSR регулирует многие физиологические и патологические функции, включая возбуждение, бодрствование, обучение и память, тревожность, потребление пищи и энергетический баланс, наркотическую зависимость и боль. В ходе экспериментов было обнаружено, что у животных данный нейропептид способствует обучению и улучшению памяти, а также снижает чувство тревоги [47].

У мышей с БА (линии APP/PS1) было обнаружено заметное снижение NPSR в области гиппокампа по сравнению с мышами дикого типа. Можно предположить, что в основе симптоматики БА лежит нехватка эффектов нейропептида S, обусловленная снижением количества NPSR [48].

Одним из симптомов БА является повышенное чувство тревоги. Нейропептид S обладает мощным

анксиолитическим действием, что позволяет рассматривать его в качестве потенциального вещества для терапии заболеваний, сопровождающихся тревожностью. Характерные фенотипические особенности моделей мышей с нокаутом предшественника NPS включают дефицит обучения и памяти, а также повышенную тревожность [49]. Нейропептид S способствует анксиолизису в миндалевидном теле, и его механизм действия зависит от NPSR-опосредованной передачи сигналов фосфолипазой C. Данная способность нейропептида подтверждается введением ингибитора фосфолипазы C (U73122), который предотвращает индуцированный NPS анксиолизис [50].

Ученые выяснили, что эффекты NPS в PVN опосредованы действием на локальные нейроны ОХТ. Нейропептид S активирует субпопуляцию ОХТ-нейронов в PVN, что подтверждается повышением внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в нейронах данной субпопуляции и увеличением высвобождения ОХТ соматодендритами в PVN. В свою очередь активированная субпопуляция ОХТ-PVN опосредует анксиолитический эффект NPS, что подтверждается результатами поведенческих тестирований. Предварительное введение антагониста ОХТ-рецептора блокирует NPS-индуцированный анксиолизис [51].

Чтобы изучить влияние NPS на память, данный нейропептид однократно вводили в боковой желудочек самцам швейцарских мышей (линии Kunming) через 5 мин после обучения. При тестировании на 3-и сут после тренировки испытуемая группа значительно больше времени проводила с новым несоциальным объектом, чем контрольная группа. Таким образом, введение NPS позволило продлить память распознавания объекта.

Как известно, БА сопровождается прогрессирующим снижением памяти, при введении испытуемым мышам A $\beta$  1-42 наблюдалось значительное нарушение памяти распознавания объектов. Прогрессирование данного состояния устранялось введением NPS [52]. Исследование R.W. Han и соавт. показало, что инфузия NPS мышам (линии Куньмин) в базолатеральное миндалевидное тело после тренировки улучшает долговременную память распознавания несоциальных объектов, которая была снижена за счет внутрибрюшинного введения пропранолола [53].

NPS играет ключевую роль в регуляции памяти и способности к обучению у грызунов [54]. Ингибирование активации NPSR вызывает нарушение обонятельной пространственной памяти. Эндогенный NPS играет важную роль в регуляции обонятельной пространственной памяти, возможно, за счет активации нейронов, несущих NPSR, в обонятельной коре и субикулумном комплексе гиппокампа, но точные

механизмы, участвующие в обонятельной пространственной памяти, нарушенной антагонистами NPSR, еще предстоит определить [55].

Р. Zhao и соавт. доказали влияние NPS на ключевые патогенетические звенья БА. Воздействие NPS анализировали как на мышах дикого типа, так и на мышах (линии APP/PS1) с генетической моделью БА. Восьмимесячным мышам непрерывно вводили внутривенно NPS в течение 2 нед, а затем проводили ИФА гиппокампа. По результатам анализа наблюдалось снижение интенсивности образования и последующего отложения бляшек Аβ за счет снижения активности γ-секретазы и фосфорилирования APP в Thr668 по сравнению с результатами ИФА контрольной группы мышей, которым внутривенно вводили физиологический раствор. Более того, при проведении водного лабиринта Морриса отмечалось постепенное уменьшение латентного периода в течение пяти дней обучения. Это свидетельствует о том, что NPS может не только улучшать пространственную память у мышей дикого типа, но и эффективно восстанавливать когнитивные нарушения и значительно увеличивать число активных нейронов в гиппокампе у мышей.

Нейропептид нормализовал экспрессию синапсина I и PSD95 в гиппокампе. Это свидетельствует о том, что NPS, вероятно, восстанавливает дефицит памяти за счет устранения нарушений синаптической пластичности гиппокампа [48]. В совокупности указанные экспериментальные данные дают возможность рассматривать NPS как потенциального кандидата для лечения БА.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все исследования, затронутые и освещенные в данной статье, показали наличие взаимосвязи между действием нейропептидов и патогенезом болезни Альцгеймера. Точный механизм потенциального терапевтического действия нейропептидов еще только предстоит узнать, но тенденция в научной сфере и количество современных и достаточно крупных публикаций говорят нам о том, что это может произойти уже в ближайшем будущем.

При изучении такого сложного вопроса важно проводить не одно, а серию исследований, сравнивать эффекты от лечения нейропептидами и лекарственными препаратами, которые на данный момент входят в перечень клинических рекомендаций при терапии БА, а также проводить батарею поведенческих тестирований для более обширного понимания состояния испытуемых животных, тестировать в разные периоды времени с возможностью дальнейшего сравнения ранее полученных и более новых резуль-

татов между собой для определения отсроченных эффектов лечения.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lane C.A., Hardy J., Schott J.M. Alzheimer's disease. *Eur. J. Neurol.* 2018;25(1):59–70. DOI: 10.1111/ene.13439.
2. Athar T., Al Balushi K., Khan S.A. Recent advances on drug development and emerging therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Mol. Biol. Rep.* 2021;48(7):5629–5645. DOI: 10.1007/s11033-021-06512-9.
3. Breijyeh Z., Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules.* 2020;25(24):5789. DOI: 10.3390/molecules25245789.
4. Mantzavinos V., Alexiou A. Biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. *Curr. Alzheimer Res.* 2017;14(11):1149–1154. DOI: 10.2174/1567205014666170203125942.
5. Grossberg G.T., Tong G., Burke A.D., Tariot P.N. Present algorithms and future treatments for Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2019;67(4):1157–1171. DOI: 10.3233/JAD-180903.
6. Briggs R., Kennelly S.P., O'Neill D. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clin. Med. (Lond.).* 2016;16(3):247–253. DOI: 10.7861/clinmedicine.16-3-247.
7. Bordt E.A., Smith C.J., Demarest T.G., Bilbo S.D., Kingsbury M.A. Mitochondria, oxytocin, and vasopressin: unfolding the inflammatory protein response. *Neurotoxicity Res.* 2019;36(2):239–256. DOI: 10.1007/s12640-018-9962-7.
8. Szczepanska-Sadowska E., Wsól A., Cudnoch-Jedrzejewska A., Czarzasta K., Żera T. Multiple aspects of inappropriate action of renin-angiotensin, vasopressin, and oxytocin systems in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *J. Clin. Med.* 2022;11(4):908. DOI: 10.3390/jcm11040908.
9. Caldwell H.K. Oxytocin and vasopressin: powerful regulators of social behavior. *Neuroscientist.* 2017;23(5):517–528. DOI: 10.1177/1073858417708284.
10. Dumais K.M., Veenema A.H. Vasopressin and oxytocin receptor systems in the brain: Sex differences and sex-specific regulation of social behavior. *Front. Neuroendocrinol.* 2016;40:1–23. DOI: 10.1016/j.yfrne.2015.04.003.
11. McCormack S.E., Blevins J.E., Lawson E.A. Metabolic effects of oxytocin. *Endocr. Rev.* 2020;41(2):121–145. DOI: 10.1210/edrev/bnz012.
12. Kerem L., Lawson E.A. The effects of oxytocin on appetite regulation, food intake and metabolism in humans. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(14):7737. DOI: 10.3390/ijms22147737.
13. Ludwig M., Apps D., Menzies J., Patel J.C., Rice M.E. Dendritic release of neurotransmitters. *Compr. Physiol.* 2016;7(1):235–252. DOI: 10.1002/cphy.c160007.
14. Johnson Z.V., Young L.J. Oxytocin and vasopressin neural networks: Implications for social behavioral diversity and translational neuroscience. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017;76(Pt.A):87–98. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2017.01.034.
15. Abramova O., Zorkina Y., Ushakova V., Zubkov E., Morozova A., Chekhonin V. The role of oxytocin and vasopressin dysfunction in cognitive impairment and mental disorders. *Neuropeptides.* 2020;83:102079. DOI: 10.1016/j.npep.2020.102079.
16. Cilz N.I., Cymerblit-Sabba A., Young W.S. Oxytocin and vasopressin in the rodent hippocampus. *Genes Brain Behav.* 2019;18(1):e12535. DOI: 10.1111/gbb.12535.

17. Carter C.S., Kenkel W.M., MacLean E.L., Wilson S.R., Perkeybile A.M., Yee J.R. et al. Is oxytocin “nature’s medicine”? *Pharmacol. Rev.* 2020;72(4):829–861. DOI: 10.1124/pr.120.019398.
18. Pekarek B.T., Kochukov M., Lozzi B., Wu T., Hunt P.J., Tepe B. et al. Oxytocin signaling is necessary for synaptic maturation of adult-born neurons. *Genes Dev.* 2022;36(21-24):1100–1118. DOI: 10.1101/gad.349930.122.
19. Bidzan L., Bidzan M., Pąchalska M. Aggressive and impulsive behavior in Alzheimer’s disease and progression of dementia. *Med. Sci. Monit.* 2012;18(3):CR182–189. DOI: 10.12659/msm.882523.
20. Cárdenas J., Blanca M.J., Carvajal F., Rubio S., Pedraza C. Emotional processing in healthy ageing, mild cognitive impairment, and Alzheimer’s disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(5):2770. DOI: 10.3390/ijerph18052770.
21. Duan Y., Lu L., Chen J., Wu C., Liang J., Zheng Y. et al. Psychosocial interventions for Alzheimer’s disease cognitive symptoms: a Bayesian network meta-analysis. *BMC Geriatr.* 2018;18(1):175. DOI: 10.1186/s12877-018-0864-6.
22. Caldwell H.K., Albers H.E. Oxytocin, vasopressin, and the motivational forces that drive social behaviors. *Curr. Top Behav. Neurosci.* 2016;27:51–103. DOI: 10.1007/7854\_2015\_390.
23. Lin Y.T., Hsieh T.Y., Tsai T.C., Chen C.C., Huang C.C., Hsu K.S. Conditional deletion of hippocampal CA2/CA3a oxytocin receptors impairs the persistence of long-term social recognition memory in mice. *J. Neurosci.* 2018;38(5):1218–1231. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1896-17.2017.
24. Raam T., McAvoy K.M., Besnard A., Veenema A.H., Sahay A. Hippocampal oxytocin receptors are necessary for discrimination of social stimuli. *Nat. Commun.* 2017;8(1):2001. DOI: 10.1038/s41467-017-02173-0.
25. Takahashi J., Yamada D., Ueta Y., Iwai T., Koga E., Tanabe M. et al. Oxytocin reverses A $\beta$ -induced impairment of hippocampal synaptic plasticity in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2020;528(1):174–178. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.04.046.
26. Takahashi J., Ueta Y., Yamada D., Sasaki-Hamada S., Iwai T., Akita T. et al. Intracerebroventricular administration of oxytocin and intranasal administration of the oxytocin derivative improve  $\beta$ -amyloid peptide (25-35)-induced memory impairment in mice. *Neuropsychopharmacol. Rep.* 2022;42(4):492–501. DOI: 10.1002/npr2.12292.
27. Tanaka A., Furubayashi T., Arai M., Inoue D., Kimura S., Kiriya A. et al. Delivery of oxytocin to the brain for the treatment of autism spectrum disorder by nasal application. *Mol. Pharm.* 2018;15(3):1105–1111. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00991.
28. Quintana D.S., Lischke A., Grace S., Scheele D., Ma Y., Becker B. Advances in the field of intranasal oxytocin research: lessons learned and future directions for clinical research. *Mol. Psychiatry.* 2021;26(1):80–91. DOI: 10.1038/s41380-020-00864-7.
29. El-Ganainy S.O., Soliman O.A., Ghazy A.A., Allam M., Elbahnasi A.I., Mansour A.M. et al. Intranasal oxytocin attenuates cognitive impairment,  $\beta$ -amyloid burden and tau deposition in female rats with Alzheimer’s disease: interplay of ERK1/2/GSK3 $\beta$ /caspase-3. *Neurochem. Res.* 2022;47(8):2345–2356. DOI: 10.1007/s11064-022-03624-x.
30. Lemke G., Huang Y. The dense-core plaques of Alzheimer’s disease are granulomas. *J. Exp. Med.* 2022;219(8):e20212477. DOI: 10.1084/jem.20212477.
31. Simpson D.S.A., Oliver P.L. ROS generation in microglia: understanding oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(8):743. DOI: 10.3390/antiox9080743.
32. Edler M.K., Mhatre-Winters I., Richardson J.R. Microglia in Aging and Alzheimer’s Disease: A Comparative Species Review. *Cells.* 2021;10(5):1138. DOI: 10.3390/cells10051138.
33. Selles M.C., Fortuna J.T.S., de Faria Y.P.R., Siqueira L.D., Lima-Filho R., Longo B.M. et al. Oxytocin attenuates microglial activation and restores social and non-social memory in APP/PS1 Alzheimer model mice. *iScience.* 2023;26(4):106545. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106545.
34. Горина Я.В., Салмина А.Б., Кувачева Н.В., Комлева Ю.К., Морозова Г.А., Демко И.В., Петрова М.М. Нейровоспаление и инсулинорезистентность при болезни Альцгеймера. *Сибирскмедобозр.* 2014;4:11–19.
35. Inoue T., Yamakage H., Tanaka M., Kusakabe T., Shimatsu A., Satoh-Asahara N. Oxytocin suppresses inflammatory responses induced by lipopolysaccharide through inhibition of the eIF-2-ATF4 pathway in mouse microglia. *Cells.* 2019;8(6):527. DOI: 10.3390/cells8060527.
36. Roth C.L., D’Ambrosio G., Elfers C. Activation of nuclear factor kappa B pathway and reduction of hypothalamic oxytocin following hypothalamic lesions. *J. Syst. Integr. Neurosci.* 2016;2(1):79–84. DOI: 10.15761/JSIN.1000114.
37. Yuan L., Liu S., Bai X., Gao Y., Liu G., Wang X. et al. Oxytocin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in microglial cells and attenuates microglial activation in lipopolysaccharide-treated mice. *J. Neuroinflammation.* 2016;13(1):77. DOI: 10.1186/s12974-016-0541-7.
38. Huang Y., Happonen K.E., Burrola P.G., O’Connor C., Hah N., Huang L. et al. Microglia use TAM receptors to detect and engulf amyloid  $\beta$  plaques. *Nat. Immunol.* 2021;22(5):586–594. DOI: 10.1038/s41590-021-00913-5.
39. Van den Burg E.H., Stindl J., Grund T., Neumann I.D., Strauss O. Oxytocin stimulates extracellular Ca<sup>2+</sup> influx through TRPV2 channels in hypothalamic neurons to exert its anxiolytic effects. *Neuropsychopharmacology.* 2015;40(13):2938–2947. DOI: 10.1038/npp.2015.147.
40. Zhang X., Zhao F., Wang C., Zhang J., Bai Y., Zhou F. et al. AVP(4-8) Improves cognitive behaviors and hippocampal synaptic plasticity in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer’s disease. *Neurosci. Bull.* 2020;36(3):254–262. DOI: 10.1007/s12264-019-00434-0.
41. Finton C.J., Ophir A.G. Developmental exposure to intranasal vasopressin impacts adult prairie vole spatial memory. *Psychoneuroendocrinology.* 2022;141:105750. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2022.105750.
42. Yang C., Zhang X., Gao J., Wang M., Yang Z. Arginine vasopressin ameliorates spatial learning impairments in chronic cerebral hypoperfusion via V1a receptor and autophagy signaling partially. *Transl. Psychiatry.* 2017;7(7):e1174. DOI: 10.1038/tp.2017.121.
43. Cymerblit-Sabba A., Walsh C., Duan K.Z., Song J.,

- Holmes O., Young W.S. Simultaneous knockouts of the oxytocin and vasopressin 1b receptors in hippocampal CA2 impair social memory. *BioRxiv*. 2023;2023. DOI: 10.1101/2023.01.30.526271.
44. Varga J., Klausz B., Domokos Á., Kálmán S., Pákási M., Szűcs S. et al. Increase in Alzheimer's related markers precedes memory disturbances: studies in vasopressin-deficient Brattleboro rat. *Brain Res. Bull.* 2014;100:6–13. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2013.10.010.
  45. Pan Y.F., Jia X.T., Wang X.H., Chen X.R., Li Q.S., Gao X.P. et al. Arginine vasopressin remolds the spontaneous discharges disturbed by amyloid  $\beta$  protein in hippocampal CA1 region of rats. *Regul. Pept.* 2013;183:7–12. DOI: 10.1016/j.regpep.2013.03.003.
  46. Smith A.S., Williams Avram S.K., Cymerblit-Sabba A., Song J., Young W.S. Targeted activation of the hippocampal CA2 area strongly enhances social memory. *Mol. Psychiatry*. 2016;21(8):1137–1144. DOI: 10.1038/mp.2015.189.
  47. Lukas M., Neumann I.D. Nasal application of neuropeptide S reduces anxiety and prolongs memory in rats: social versus non-social effects. *Neuropharmacology*. 2012;62(1):398–405. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2011.08.016.
  48. Zhao P., Qian X., Nie Y., Sun E., Wang Z., Wu J. et al. Neuropeptide S ameliorates cognitive impairment of APP/PS1 transgenic mice by promoting synaptic plasticity and reducing A $\beta$  deposition. *Front. Behav. Neurosci.* 2019;13:138. DOI: 10.3389/fnbeh.2019.00138.
  49. Liu X., Si W., Garau C., Jüngling K., Pape H.C., Schulz S., Reinscheid R.K. Neuropeptide S precursor knockout mice display memory and arousal deficits. *Eur. J. Neurosci.* 2017;46(1):1689–1700. DOI: 10.1111/ejn.13613.
  50. Grund T., Neumann I.D. Neuropeptide S induces acute anxiolysis by phospholipase C-dependent signaling within the medial amygdala. *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(5):1156–1163. DOI: 10.1038/npp.2017.169.
  51. Grund T., Goyon S., Li Y., Eliava M., Liu H., Charlet A. et al. Neuropeptide S activates paraventricular oxytocin neurons to induce anxiolysis. *J. Neurosci.* 2017;37(50):12214–12225. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2161-17.2017.
  52. Han R.W., Zhang R.S., Xu H.J., Chang M., Peng Y.L., Wang R. Neuropeptide S enhances memory and mitigates memory impairment induced by MK801, scopolamine or A $\beta_{1-42}$  in mice novel object and object location recognition tasks. *Neuropharmacology*. 2013;70:261–267. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.02.002.
  53. Han R.W., Xu H.J., Zhang R.S., Wang P., Chang M., Peng Y.L. et al. Neuropeptide S interacts with the basolateral amygdala noradrenergic system in facilitating object recognition memory consolidation. *Neurobiol. Learn Mem.* 2014;107:32–36. DOI: 10.1016/j.nlm.2013.10.010.
  54. Li C., Wu X.J., Li W. Neuropeptide S promotes maintenance of newly formed dendritic spines and performance improvement after motor learning in mice. *Peptides*. 2022;156:170860. DOI: 10.1016/j.peptides.2022.170860.
  55. Wang C., Xin L., Cai C.C., Cong C.Y., Xie J.F., Kong X.P. et al. Neuropeptide S displays as a key neuromodulator in olfactory spatial memory. *Chem. Senses*. 2020;45(3):195–202. DOI: 10.1093/chemse/bjaa003.

## Вклад авторов

Авлинякулева А.М., Киндякова Е.К. – поиск и анализ статей, оформление рукописи, создание рисунков. Кузьмина С.В. – обсуждение концепции статьи, окончательное редактирование рукописи для публикации. Горина Я.В., Лопатина О.Л. – разработка концепции, поиск статей, редактирование рукописи.

## Информация об авторах

**Авлинякулева Айлар Мередовна** – ассистент, кафедра биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, мл. науч. сотрудник, лаборатория социальных нейронаук, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, ailara@bk.ru, <https://orcid.org/0009-0009-8457-4581>

**Киндякова Екатерина Константиновна** – ассистент, кафедра биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, мл. науч. сотрудник, лаборатория социальных нейронаук, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, kindyakova13@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-3803-1490>

**Кузьмина Светлана Валерьевна** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры психиатрии и медицинской психологии, Казанский ГМУ, г. Казань, skouzmina21@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7330-1213>

**Горина Яна Валерьевна** – д-р биол. наук, доцент, кафедра биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ст. науч. сотрудник, лаборатория социальных нейронаук, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; кафедра биофизики, ИФБиТ, СФУ, г. Красноярск, yana\_20@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3341-1557>

**Лопатина Ольга Леонидовна** – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель лаборатории социальных нейронаук, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; профессор кафедры биофизики, ИФБиТ, СФУ, г. Красноярск, ol.lopatina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7884-2721>

(✉) Авлинякулева Айлар Мередовна, ailara@bk.ru

Поступила в редакцию 10.11.2023;  
одобрена после рецензирования 07.12.2023;  
принята к публикации 21.12.2023

УДК 616.832-004.2-073.86  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-116-125>



## Современные возможности магнитно-резонансной диагностики рассеянного склероза. Обзор литературы

Дегтярев И.Ю., Завадовская В.Д., Куражов А.П., Зоркальцев М.А., Алифирова В.М., Суханова К.С.

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

### РЕЗЮМЕ

Рассеянный склероз остается наиболее часто встречаемым демиелинизирующим заболеванием центральной нервной системы и занимает первое место среди неврологических заболеваний, приводящих к инвалидизации лиц молодого возраста. Наиболее важной лучевой модальностью с диагностической и прогностической точкой зрения, особенно на ранней стадии заболевания, является магнитно-резонансная томография (МРТ), которая в настоящее время остается единственным методом, позволяющим исследовать центральную нервную систему на всем протяжении *in vivo*.

В настоящем обзоре приведены литературные данные о современных достижениях магнитно-резонансной диагностики рассеянного склероза. Ключевое внимание уделяется таким ее перспективным аспектам, как оценка атрофии головного и спинного мозга, оценка перфузии головного мозга и диффузионно-тензорная МРТ. Внедрение данных подходов в МРТ помогает приблизить решение проблемы ранней диагностики рассеянного склероза и повысить информативность оценки клинического ответа на проводимую терапию.

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография, рассеянный склероз, DWI, МР-перфузия

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов при проведении исследования.

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

**Для цитирования:** Дегтярев И.Ю., Завадовская В.Д., Куражов А.П., Зоркальцев М.А., Алифирова В.М., Суханова К.С. Современные возможности магнитно-резонансной диагностики рассеянного склероза. Обзор литературы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):116–125. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-116-125>.

## Modern possibilities of MRI-based diagnosis of multiple sclerosis. Literature review

Degtyarev I.Yu., Zavadovskaya V.D., Kurazhov A.P., Zorkaltsev M.A., Alifirova V.M., Sukhanova K.S.

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

### ABSTRACT

Multiple sclerosis remains the most common demyelinating disease of the central nervous system and ranks first among neurological diseases that lead to disability in young people. The most important diagnostic and prognostic

✉ Дегтярев Илья Юрьевич, [ilya.degtyarev.4201@mail.ru](mailto:ilya.degtyarev.4201@mail.ru)

marker, especially at an early stage of the disease, is magnetic resonance imaging (MRI), which currently remains the only method that allows to explore the entire central nervous system *in vivo*.

The review presents literature data on modern achievements in MRI-based diagnosis of multiple sclerosis. Key attention is paid to such promising methods as assessment of brain and spinal cord atrophy, brain perfusion MRI, and diffusion tensor imaging. Implementation of these approaches in MRI can help solve the problem of early diagnosis of multiple sclerosis and determine more reliable markers of a response to ongoing therapy.

**Keywords:** magnetic resonance imaging, multiple sclerosis, DWI, MR perfusion

**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:** Degtyarev I.Yu., Zavadovskaya V.D., Kurazhov A.P., Zorkaltsev M.A., Alifirova V.M., Sukhanova K.S. Modern possibilities of MRI-based diagnosis of multiple sclerosis. Literature review. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):116–125. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-116-125>.

## ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз (РС) – наиболее часто встречающееся аутоиммунное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы (ЦНС), характеризующееся образованием множественных очагов демиелинизации и разнообразными неврологическими симптомами. Рассеянный склероз занимает первое место среди неврологических заболеваний, приводящих к инвалидизации лиц молодого возраста. Заболевание характеризуется полностью или частично обратимыми эпизодами неврологической инвалидности, которые обычно длятся от нескольких дней до нескольких недель [1].

Во всем мире с диагнозом рассеянного склероза проживает более 2,8 млн человек [2]. В настоящее время РС чаще встречается у женщин, но так было не всегда. С начала 1900-х гг. соотношение полов было почти равным, но с тех пор оно неуклонно увеличивается в сторону преобладания женщин, приближаясь в настоящее время к 3 : 1 [3]. Хотя первая манифестация заболевания может наблюдаться в любом периоде жизни, у большинства пациентов с РС она имеет место в возрасте 20–40 лет. Заболевание оказывает огромное негативное влияние на их функциональную активность, финансовую обеспеченность, а также качество жизни. Затраты на медицинскую помощь при РС оказываются крайне высокими и возрастают по мере прогрессирования инвалидизации [4].

## ПАТОГЕНЕЗ

На сегодняшний день патогенез РС остается до конца не изученным, главным образом из-за ограниченного понимания этиологии этого заболевания. К настоящему времени идентифицированы различные факторы риска развития РС, например, такие как уровень витамина D в сыворотке крови, гене-

тическая предрасположенность и некоторые вирусные инфекции [5]. Однако ни один из этих факторов не был признан как этиологический. Это позволяет предположить, что этиопатогенез заболевания является многофакторным [6].

Хотя триггерные механизмы РС остаются неизвестными, доминирующая в научной среде точка зрения на патогенез данного заболевания состоит в том, что в его возникновении главную роль играет активация аутоагрессии в отношении белков миелина, образующих многослойную оболочку вокруг аксонов и тел нейронов [7]. Таким образом, в качестве основных факторов в патогенезе РС были предложены нарушения в иммунных механизмах. Это обусловлено тем, что Т- и В-лимфоциты избирательно сенсibilизируются специфическими антигенами-мишенями (вероятно, аутоантигенами), которые экспрессируются только в ЦНС. Это косвенно подтверждается обнаружением корреляционной связи между снижением количества и активности циркулирующих Т-регуляторных клеток в периферической крови с обострением симптомов заболевания [8].

В настоящее время многочисленные формы РС (цереброспинальная, спинальная, мозжечковая, оптическая, стволовая и др.) отдельно не выделяются и в диагнозе не указываются. Для стандартизации терминологии и увеличения однородности клинических исследований была введена всемирно признанная и унифицированная классификация РС, которая выделяет четыре варианта его клинического течения (фенотипа):

1. Рецидивно-ремитирующий РС (PPPC) характеризуется наличием периодических обострений с практически полным восстановлением или наличием минимального остаточного неврологического дефицита и отсутствием прогрессирования симптоматики в межприступный период.

2. Первично-прогрессирующий РС (ППРС) характеризуется наличием неуклонного прогрессирования неврологического дефицита от дебюта заболевания при отсутствии явных обострений.

3. Вторично-прогрессирующий РС (ВППРС) характеризуется неуклонным прогрессированием заболевания после определенного периода рецидивно-ремиттирующего течения.

4. Прогрессирующий с обострениями РС характеризуется наличием эскалаций заболевания на фоне неуклонного нарастания неврологической симптоматики.

Установление типа течения данного заболевания у конкретного пациента является ключевым аспектом диагностики РС. Точное описание клинического течения (фенотипа) заболевания важно для прогнозирования, планирования и уточнения объема необходимых клинических исследований, а также выбора оптимальной лечебной стратегии [9].

Данная классификация была частично пересмотрена в 2013 г. [10]. Теперь она учитывает дополнительные критерии РС, такие как его активность и прогрессирование (на основе клинической картины и магнитно-резонансной (МР) картины), тем самым стратифицируя характеристики пациентов по двум осям, которые могут быть оценены отдельно [11]. Таким образом, РС может быть активным или неактивным, прогрессирующим или не прогрессирующим. Разделение активности и прогрессирования заболевания оказалось клинически значимым, поскольку методы лечения РС могут быть эффективными при активно прогрессирующих формах, но не при неактивных прогрессирующих. Кроме того, дополнение классификации РС данными МР-картины отражает понимание того, что для установления особенностей течения данного заболевания, помимо клинического наблюдения, могут использоваться другие показатели [11].

Кроме этого, еще выделяют клинически изолированный синдром (КИС), который является ранним проявлением РС. Клинически изолированный синдром включает в себя острый клинический приступ, поражающий один или несколько участков ЦНС, который может привести к дебюту рецидивно-ремиттирующего РС. По данным проведенных исследований, КИС конвертируется в РППРС через 20 лет только у 21% пациентов с нормальной МР-картиной головного мозга и у 82% пациентов, если на магнитно-резонансной томографии (МРТ) имелось одно или несколько клинически бессимптомных поражений белого вещества головного мозга [12].

На ранних стадиях РС для его точной диагностики только клинических данных недостаточно.

Однако инструментальные и лабораторные исследования не всегда могут обеспечить необходимую точность диагностики РС. Также следует отметить, что в большом количестве публикаций о многочисленных методах, предлагаемых для диагностики РС, не отражена их реальная значимость, поскольку в большинстве из них отсутствует анализ оценки их диагностической эффективности (в первую очередь, чувствительности и специфичности). Общепринятые магнитно-резонансные критерии РС, к сожалению, используются лишь в качестве базисных, не позволяя достоверно оценить риск прогрессирования заболевания.

Другой проблемой остается установление точного типа течения РС, а также предикторов перехода РППРС в ВППРС, что необходимо учитывать для своевременной и эффективной коррекции соответствующей терапии. Разработка всевозможных методов, как инструментальных, так и лабораторных, для решения этих проблем является крайне актуальным направлением развития диагностики РС.

## КРИТЕРИИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ПОРАЖЕНИЙ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Общеизвестно, что особенности патологических процессов при РС, включающих воспаление, демиелинизацию, потерю аксонов и глиоз, можно изучать *in vivo* с использованием как традиционных, так и передовых методов медицинской визуализации [13]. Наиболее важной лучевой модальностью при РС с точки зрения его диагностики и прогноза, особенно на ранней стадии заболевания, является МРТ, которая в настоящее время остается единственным методом, позволяющим исследовать ЦНС на всем протяжении *in vivo*. Используя традиционные импульсные последовательности МРТ в диагностике РС, можно определить количество, локализацию и активность очагов демиелинизации, хотя считается, что чувствительность этих последовательностей очень вариабельна.

Однако рутинная МРТ обладает низкой чувствительностью в выявлении гетерогенности очаговых поражений и патологических изменений, наблюдаемых в ткани ЦНС вне очагов демиелинизации. Кроме того, МРТ не способна разделять отражать количественный уровень повреждения различных компонентов ткани ЦНС, таких как миелин, аксоны и глия [14].

Предпочтительно осуществлять визуализацию демиелинизирующих процессов на высокопольных МР-томографах (с величиной магнитной индукции,

равной или более 1,0 T). Наиболее чувствительными к повреждениям вещества головного мозга при РС являются последовательности на основе T2-ВИ с длинными TE (timeecho) и TR (timerepetition). Это связано с тем, что очаги демиелинизации при РС обладают более длительным временем T2-релаксации по сравнению с внешне неизменным белым веществом.

Многочисленные сопоставления данных нейровизуализации и гистологических исследований позволили идентифицировать патологический субстрат, соответствующий изменениям сигнальных характеристик в различных режимах МРТ. Так, в результате нарушения белково-липидного бислоя, уменьшения количества липидов и увеличения содержания воды очаги демиелинизации при РС визуализируются как участки магнитно-резонансного сигнала повышенной интенсивности на T2-ВИ и пониженной интенсивности на T1-ВИ. МР-сигнал от недавно появившихся очагов определяется преимущественно отеком, а от давно существующих – глиозом. Таким образом, МРТ способна отражать полиморфность патологических изменений, наблюдаемых в ЦНС при РС [15].

В настоящее время общепринятыми магнитно-резонансными критериями РС являются критерии Макдональда (McDonald), впервые опубликованные в 2001 г., а затем пересмотренные и дополненные в 2005 и 2010 гг. Последний пересмотр проводился в 2017 г. Как и в предыдущих пересмотрах данных критериев, постановка диагноза рассеянного склероза требует сочетания клинических и радиологических признаков. Постановка диагноза рассеянного склероза может быть выполнена при соблюдении любых из пяти нижеперечисленных групп критериев, в зависимости от количества клинических атак, наличия диссеминации в пространстве и диссеминации во времени [16, 17].

Очаги демиелинизации при РС обычно имеют округлую или овальную форму, а их диаметр варьирует от нескольких миллиметров до сантиметра и более [18]. Отчасти различия в форме очагов обусловлены прохождением томографического среза под углом к церебральной венуле, которая зачастую представляет собой центр очага демиелинизации при РС. В начальной стадии заболевания очаги кажутся вытянутыми в виде так называемых пальцев Доусона, что, вероятно, связано с воспалительным отеком вещества мозга по ходу медуллярных венул [19].

Следует отметить, что типичной локализацией очагов при РС является перивентрикулярное белое вещество, включая мозолистое тело, субкортикальное белое вещество и инфратенториальную область. Отдельные гиперинтенсивные на T2-ВИ очаги, при-

лежащие к телу или височному рогу бокового желудочка, являются весьма характерными для РС и редко встречаются при других патологиях [20].

Диагностический потенциал МРТ повышается при использовании контрастного усиления, предполагающего внутривенное введение контрастного вещества (КВ). Во-первых, с помощью МРТ с контрастным усилением можно определять степень активности заболевания, что имеет важное прогностическое значение и огромную клиническую ценность при выборе наиболее эффективной терапевтической стратегии. Во-вторых, данный метод позволяет получать дополнительные свидетельства диссеминации очагов демиелинизации во времени путем одновременной визуализации как активных очагов, накапливающих КВ, так и неактивных, не накапливающих его. В-третьих, введение КВ может помочь в идентификации нетипичных очагов и обнаружить латентные структурные повреждения, не различимые на изображениях без контрастирования [21].

Контрастное вещество на основе трехвалентного гадолиния, относящееся к группе позитивных парамагнетиков, в норме не проникает через гематоэнцефалический барьер. Считается, что при РС оно проходит через стенки капилляров и на некоторое время задерживается во внеклеточном пространстве [22].

Нейровизуализационно-патоморфологические сопоставления подтверждают, что накопление КВ происходит исключительно в активных очагах демиелинизации с выраженными воспалительными изменениями в виде отека и клеточной инфильтрации. При этом в выявлении субклинической активности РС при ремиттирующем течении заболевания МРТ с контрастированием может быть более чувствительна, чем оценка клинического статуса. При накоплении КВ патологические участки могут изменять форму и размеры. Обычно вначале это равномерно накапливающие КВ очаги, которые впоследствии по мере прогрессирования заболевания трансформируются в очаги, накапливающие КВ по типу «кольца», «полукольца», после чего степень захвата КВ такими очагами снижается, поскольку они переходят в ряд «хронических».

Вместе с тем известны сложности в дифференциальной диагностике как типичных, так и нетипичных форм РС с опухолевыми поражениями ЦНС. Так, очаги при РС в определенных случаях могут быть ошибочно приняты за накапливающие КВ гематогенные метастазы, а также за первичные опухоли головного мозга (при так называемой псевдотуморозной форме РС). При этом для опухолевых поражений более характерным считается «кольцевидный» тип

их контрастирования, а для очагов демиелинизации при РС – «кольцевидно-разрывной» [23].

## **СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ДИАГНОСТИКИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

Появление эффективных методов лечения сделало раннюю диагностику РС крайне востребованной, в связи с чем были пересмотрены диагностические магнитно-резонансные критерии РС, чтобы с большей точностью исключать состояния, имитирующие это заболевание. Однако идентификация выявленных на МРТ изменений как клинически значимых при РС до сих пор представляет собой известные трудности в связи с тем, что данные традиционной МРТ (общее количество и объем очагов) слабо коррелируют со степенью неврологического дефицита. Данный феномен, получивший название «клинико-магнитно-резонансный парадокс», привел к необходимости изучения патологических процессов, развивающихся в ЦНС наряду с демиелинизацией, и разработки новых методов оценки ультраструктурных, биохимических и функциональных изменений ЦНС [24].

На сегодняшний день отсутствует единое мнение о том, как оценивать и контролировать ответ на лечение РС. В настоящее время в научной литературе широко обсуждаются понятия «ответ» и «неответ», а также временные рамки данного критерия. Обычно отсутствие реакции на лечение определяется на основе трех факторов или их комбинации, включающих нарастание степени неврологического дефицита, частоту рецидивов и наличие активных T2-очагов (определяемых как новые участки поражения, увеличивающие суммарное количество очагов) или контрастируемых очагов на МРТ. Однако клиническая значимость обнаружения минимальной активности РС по данным МРТ является спорной, что актуализирует вопрос дальнейшей разработки рекомендаций, касающихся определения и контроля реакции на лечение [25].

В настоящее время общепризнанно, что очаговые поражения, выявляемые при рутинной МРТ, представляют собой только один аспект заболевания [26]. Вместе с тем передовые технологии МРТ, появляющиеся за последние несколько десятилетий, позволяют выявлять микроструктурные изменения головного мозга у пациентов с РС даже во внешне нормальном белом веществе [27]. Кроме того, корковые поражения и атрофия серого вещества головного мозга могут являться важными дополнительными особенностями данного заболевания [28].

Установлено, что атрофия головного и спинного мозга становится одним из основных проявлений РС и представляет собой весьма актуальную находку [29]. Помимо потери тканей, вызванной деструктивными поражениями белого вещества локального характера, и вторичным их «отмиранием» в связи со специфической для нервных трактов потерей аксонов и нейронов, существует множество других потенциальных механизмов этого процесса, включающих в себя накопление железа, повреждение митохондрий, активацию микроглии и окислительный стресс [30]. Так, атрофия головного мозга начинается на ранней стадии РС и ежегодно прогрессирует у пациентов, не получающих лечение, со скоростью 0,5–1,0% в год независимо от клинического подтипа заболевания [31]. Примечательно, что глобальная атрофия головного мозга может наблюдаться не только во время появления первых симптомов РС, но и даже на его доклинических стадиях [32–34]. Атрофия имеет более тесную связь с неврологическим дефицитом и когнитивными нарушениями по сравнению с традиционными магнитно-резонансными критериями поражений нервной ткани при РС [35].

Атрофию мозга можно легко измерить с помощью широкого спектра методов МРТ. Качественно атрофию можно установить на основании увеличения ликворных пространств в сочетании с уменьшением объема мозговой ткани, а также путем измерения ширины желудочков мозга или площади мозолистого тела в поперечном сечении. Для более эффективных и воспроизводимых измерений в условиях научных исследований и клинических испытаний обычно применяются полностью автоматизированные компьютерные методы сегментации диагностических изображений, основанные на T1-ВИ высокого разрешения, что позволяет проводить раздельную оценку белого и серого вещества головного мозга и, определяя их соотношение, выявлять региональную атрофию. Однако результаты таких исследований следует интерпретировать с осторожностью, так как объем ЦНС также зависит от факторов, не связанных с РС, таких как принимаемые лекарственные препараты, суточные колебания и статус гидратации, а также связанные с РС отек, воспаление и глиоз [36, 37].

К сожалению, оценочные критерии атрофии еще не используются в повседневной клинической практике из-за множества технических проблем и отсутствия консенсуса при выборе стандартизированной методики их определения [38]. В связи с этим в настоящее время продолжается развитие портативных, полностью автоматизированных методов измерения атрофических изменений головного мозга, перспективных для широкого использования в будущем [39].

Помимо приведенных данных о морфологических изменениях головного мозга при РС в литературе имеются сообщения об изменениях перфузии как в очагах поражения, так и в тканях с нормальной визуальной картиной головного мозга [40]. Распространенными методами МРТ для оценки перфузии головного мозга являются магнитно-резонансное контрастирование с динамической восприимчивостью (DSC), МРТ с динамическим контрастированием (DCE) и МРТ с артериальным спин-мечением (ASL). Все эти методы позволяют количественно определять скорость мозгового кровотока (CBF), объем мозгового кровотока (CBV) и среднее время прохождения контрастного вещества по сосудам головного мозга (MTT). Методы DSC и DCE предполагают визуализацию динамического прохождения болюса гадолиний-содержащего контрастного препарата. Первый основан на последовательностях, взвешенных по T2\*, а второй – на последовательностях, взвешенных по T1. В отличие от DSC и DCE, метод ASL основан на использовании контрастных свойств у молекул эндогенной воды, которые, входя в состав крови, маркируются с помощью радиочастотных инверсионных импульсов, прежде чем они достигнут мозга [41].

До сих пор неясно, являются ли изменения перфузии при РС первичным процессом или просто эпифеноменом, обусловленным Валлеровской дегенерацией или атрофией [38, 39]. Вместе с тем накопленные данные свидетельствуют о том, что изменения перфузии головного мозга при РС представляют собой важный компонент данного заболевания. Так, существуют сведения, что снижение перфузии в мозговом веществе может происходить даже во внешне интактных его областях [42]. Также было показано, что гипоперфузия не обязательно связана с участками демиелинизации. Более того, предполагается, что изменения перфузии предшествуют атрофии и формированию очагов поражения [43]. Кроме того, взаимосвязь между перфузией головного мозга и распределением поражений в белом веществе головного мозга наблюдалась в широкой когорте пациентов с РС. В частности, поражения белого вещества у пациентов со вторичным прогрессирующим РС были обнаружены в регионах, характеризующихся более низкой перфузией, чем в контрлатеральных здоровых участках. Напротив, у пациентов с рецидивно-ремитирующей формой РС поражения мозгового вещества чаще встречались в областях с повышенной перфузией. Этот факт указывает на то, что процессы ремиелинизации, которые более эффективны на ранней стадии заболевания, могут быть связаны с изменениями локальной перфузии [44].

В другом исследовании было обнаружено статистически значимое снижение CBF в лобной коре, таламусе и хвостом ядра у пациентов с РС без признаков потери объема серого вещества и уменьшения толщины коры, причем такие отклонения были более распространены при ВПРС по сравнению с РРРС [45]. Причины данных изменений церебральной перфузии при РС до конца не изучены, и на сегодняшний день существует несколько гипотез, пытающихся их объяснить. Во-первых, гипоперфузия может быть связана с нейроаксональными потерями. Однако в большинстве исследований не было обнаружено взаимосвязи между перфузией и атрофией головного мозга, в то время как в других статьях описывалась только частичная связь изменений перфузии со степенью поражений мозгового вещества, выявляемого по данным T2-ВИ.

Кроме того, снижение перфузии также не было связано с показателями атрофии головного мозга. Это подтверждает предположение о том, что она может запускаться другими механизмами. Другие возможные объяснения происхождения мозговой атрофии включают снижение потребности в энергии или замедление тканевого метаболизма, первичную ишемию, нарушение цереброваскулярной реактивности, дисфункцию митохондрий и даже латентно протекающий процесс нейродегенерации до его манифестации на макроморфологическом уровне. В этом случае знание о степени атрофических изменений головного мозга может дать больше терапевтических возможностей, чем обнаружение выраженного и широко распространенного процесса демиелинизации.

Немалый научный интерес вызывает взаимосвязь перфузии головного мозга с контрастным усилением очагов при РС. В литературе приводятся данные, согласно которым у пациентов с РРРС наблюдается увеличение CBF и CBV на 20% по сравнению с исходным уровнем за 3 нед до накопления очагами КВ, увеличение их значений на 25% в период накопления КВ и медленное снижение накопления КВ в очагах при РС до исходного уровня в течение 20 нед после первоначального [46].

Чтобы мониторировать быстро протекающие изменения в ЦНС в периоды манифестации РС и повышения его активности, пациентам необходимо проводить МРТ неоднократно и часто. Золотым стандартом объективизации гемодинамических нарушений при РС является МР-исследование перфузии. Вместе с тем данное исследование сопряжено с повышенным риском дозозависимого осаждения гадолиния в тканях головного мозга вследствие частого повторного введения КВ.

Таким образом, нарушение перфузии головного мозга при РС, вероятнее всего, является одним из звеньев в сложном каскаде патофизиологических процессов, протекающих при данном заболевании. Однако еще предстоит установить, являются ли вышеописанные феномены тесно связанными между собой явлениями одного порядка (возможно, вторичными по отношению к известным иммунологическим нарушениям при РС) или представляют собой всего лишь разрозненные аспекты РС. Выявленные корреляции изменений церебральной перфузии с различными типами течения РС актуализируют вопрос о целесообразности использования перфузионных показателей МРТ в качестве маркеров ранней диагностики РС и особенностей его течения.

Другим передовым перспективным методом нейровизуализации является диффузионно-тензорная МРТ (DTI), которая позволяет проводить оценку целостности нервных проводящих путей. С помощью метода DTI можно анализировать и оценивать элементы микроструктурной архитектуры головного мозга, которые не визуализируются при использовании традиционных импульсных последовательностей. Таким образом, DTI предоставляет важную дополнительную информацию о пространственной организации нервных волокон, направленной когерентности аксонов и степени целостности того или иного нервного тракта [47]. С помощью DTI получены ценные сведения о патогенезе РС как внутри поражений, так и в белом веществе головного мозга, которое представляется интактным по данным рутинной МРТ.

Так, в моделях на животных показано, что с помощью DTI возможно дифференцировать повреждение аксонов от демиелинизации, на основании чего предполагается, что DTI может использоваться для оценки нейропротекторных методов лечения. Таким образом, диффузионно-тензорная визуализация обладает высоким диагностическим потенциалом, позволяя выявлять изменения в очагах РС на самых ранних стадиях данного заболевания, в том числе в макроморфологически неизменном белом веществе головного мозга. DTI также может использоваться для описания микроструктур биологических тканей на основании количественной оценки процессов диффузии воды в пораженных участках мозга при РС. Более того, с помощью DTI возможно определять степень поражения белого вещества головного мозга более точно, чем используя T2-взвешенные изображения [48]. Параметры DTI, включая коэффициенты фракционной анизотропии (FA), радиальной диффузии (RD), средний коэффициент диффузии (MD), могут с высокой точностью характеризовать

состояние нейрональных структур и их нарушения у пациентов, страдающих РС [49].

В основе данного метода лежит неинвазивная оценка молекулярного (броуновского) движения воды, которое в биологических тканях ограничено различными клеточными структурами. В трактах белого вещества головного мозга вода преимущественно диффундирует параллельно направлению аксонов («осевая диффузия»), и визуализация этого физического процесса позволяет детализировать отображение структурной целостности белого вещества на микроуровне. Благодаря применению направленных магнитных градиентов в трех плоскостях в рамках DTI, существует возможность оценивать процессы диффузии воды в направлениях, перпендикулярных нервным трактам («радиальная диффузия»). В связи с этим считается, что осевая диффузия отражает целостность аксонов, а радиальная диффузия – степень их миелинизации, в то время как фракционная анизотропия (FA) является интегральным показателем, характеризующим величину направленности диффузии в конкретно взятом объеме мозгового вещества. При этом низкий коэффициент FA соответствует низкой степени векторности диффузии воды, в то время как высокий коэффициент FA является следствием высоконаправленного движения воды по аксонам.

Установлено, что поражения мозгового вещества при РС ассоциированы со сниженными значениями коэффициента FA, что указывает на возникающие в рамках данного заболевания структурные нарушения нервных проводящих трактов. Высказано предположение, что снижение коэффициента FA может выступать в качестве маркера острых поражений мозгового вещества и, следовательно, являться одним из критериев активности заболевания. RD представляет собой скорость диффузии воды перпендикулярно аксонам, которая в значительной степени связана с процессами демиелинизации и ремиелинизации [50]. Обнаружено, что повышенные значения коэффициента RD потенциально связаны с выявляемыми на T2-взвешенных изображениях очагами, а также с поражением миелина. Также было показано, что повышение данного коэффициента может определяться и в белом веществе головного мозга, в котором по данным традиционной МРТ его структурные изменения полностью отсутствуют. Относительное повышение значений RD также наблюдалось в пораженных нервных волокнах, что соответствует Валлеровской дегенерации [51].

К сожалению, получение качественных диффузно-тензорных изображений сопряжено с техническими трудностями, что ограничивает клиническое применение DTI. Тем не менее недавние достижения

в области технологии постобработки изображений повысили надежность DTI в оценке целостности нервных волокон, что привело к росту чувствительности выявления изменений при РС по сравнению со стандартной МРТ [52].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на сегодняшний день не существует общепринятой и надежной методики нейровизуализации для оценки течения РС, а используемые для этого диагностические критерии основаны, как правило, на учете клинических рецидивов и наличии изменений головного мозга, выявляемых на МРТ. Несмотря на то, что традиционно применяемые последовательности МРТ обеспечивают высокую чувствительность диагностики РС, они не позволяют надежно выявлять предикторы ухудшения клинического течения РС, а результаты данного исследования слабо коррелируют с клиническим статусом пациента.

Внедрение новых технологий, реализуемых в рамках МР-визуализации, может приблизить к решению проблемы ранней диагностики РС и определению более достоверных критериев ответа на проводимую терапию. Лучшее понимание взаимосвязи между перфузионными изменениями, рассеянным склерозом и клиническими исходами может быть важным для получения новых потенциальных маркеров для оценки эффектов фармакологического и реабилитационного вмешательства.

Кроме того, очень перспективно выглядит использование для этих целей DTI. Но текущий объем исследований с использованием DTI относительно ограничен, что указывает на раннюю стадию этих исследований. Однако уже эти данные указывают на то, что количественный показатель FA, измеряемый при DTI, успешно коррелирует с нарушениями при РС. Низкий уровень доказательств предполагает, что FA показывает повреждение тканей при ряде расстройств, но данных недостаточно, чтобы поддерживать его использование в качестве диагностического теста или в качестве предиктора клинических исходов.

Таким образом, методы сбора данных, обработка и интерпретация данных требуют дальнейшей доработки с последующей стандартизацией и валидацией, прежде чем новые технологии будут готовы для широкого клинического применения.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Brownlee W.J., Hardy T.A., Fazekas F., Miller D.H. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *Lancet*. 2017;389(10076):1336–1346. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30959-X.
2. Dobson R., Rice D.R., D’hooghe M., Horne R., Learmonth Y., Mateen F.J. et al. Social determinants of health in multiple sclerosis. *Nat. Rev. Neurol.* 2022;18(12):723–734. DOI: 10.1038/s41582-022-00735-5.
3. Dobson R., Giovannoni G. Multiple sclerosis – a review. *Eur. J. Neurol.* 2019;26(1):27–40. DOI: 10.1111/ene.13819
4. Gbaguidi B., Guillemin F., Soudant M., Debouverie M., Mathey G., Epstein J. Age-period-cohort analysis of the incidence of multiple sclerosis over twenty years in Lorraine, France. *Sci. Rep.* 2022;12(1):1001. DOI: 10.1038/s41598-022-04836-5.
5. Tarlinton R., Khaibullin T., Granatov E., Martynova E., Rizvanov A., Khaiboullina S. The interaction between viral and environmental risk factors in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(2):303. DOI: 10.3390/ijms20020303.
6. Liu R., Du S., Zhao L., Jain S., Sahay K., Rizvanov A. et al. Autoreactive lymphocytes in multiple sclerosis: Pathogenesis and treatment target. *Front. Immunol.* 2022;13:996469. DOI: 10.3389/fimmu.2022.996469.
7. Ttadelmann C., Timmler S., Barrantes-Freer A., Simons M. Myelin in the central nervous system: structure, function, and pathology. *Physiol. Rev.* 2019;99(3):1381–1431. DOI: 10.1152/physrev.00031.2018.
8. Verma N.D., Lam A.D., Chiu C., Tran G.T., Hall B.M., Hodgkinson S.J. Multiple sclerosis patients have reduced resting and increased activated CD4+CD25+FOXP3+T regulatory cells. *Sci. Rep.* 2021;11(1):10476. DOI: 10.1038/s41598-021-88448-5.
9. Pitt D., Lo C.H., Gauthier S.A., Hickman R.A., Longbrake E., Airas L.M. et al. Toward precision phenotyping of multiple sclerosis. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2022;9(6):e200025. DOI: 10.1212/NXI.0000000000200025.
10. Tartaglia M., Canevelli M., Malimpensa L., Belvisi D., Bai-one V., Ferrazzano G. et al. Neurophysiological and clinical biomarkers of secondary progressive multiple sclerosis: A cross-sectional study. *Front. Neurol.* 2023;14:1138600. DOI: 10.3389/fneur.2023.1138600.
11. Kappos L., Bar-Or A., Cree B.A.C., Fox R.J., Giovannoni G., Gold R. et al. EXPAND Clinical Investigators. Siponimod versus placebo in secondary progressive multiple sclerosis (EXPAND): a double-blind, randomised, phase 3 study. *Lancet*. 2018;391(10127):1263–1273. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30475-6.
12. Filippi M., Preziosa P., Meani A., Ciccarelli O., Mesaros S., Rovira A. et al. Prediction of a multiple sclerosis diagnosis in patients with clinically isolated syndrome using the 2016 MAGNIMS and 2010 McDonald criteria: a retrospective study. *Lancet Neurol.* 2018;17(2):133–142. DOI: 10.1016/S1474-4422(17)30469-6.
13. Eshaghi A., Prados F., Brownlee W.J., Altmann D.R., Tur C., Cardoso M.J. et al. MAGNIMS study group. Deep gray matter volume loss drives disability worsening in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2018;83(2):210–222. DOI: 10.1002/ana.25145.
14. Granziera C., Wuerfel J., Barkhof F., Calabrese M., De Stefano N., Enzinger C. et al. MAGNIMS Study Group. Quantitative magnetic resonance imaging towards clinical application in multiple sclerosis. *Brain*. 2021;144(5):1296–1311. DOI: 10.1093/brain/awab029.

15. Goischke H.K. Comorbidities in multiple sclerosis—a plea for interdisciplinary collaboration to improve the quality of life of MS patients. *Degener. Neurol. Neuromuscul. Dis.* 2019;9:39–53. DOI: 10.2147/DNND.S204555.
16. Lunde H.M.B., Assmus J., Myhr K.M., Bø L., Grytten N. Survival and cause of death in multiple sclerosis: a 60-year longitudinal population study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2017;88(8):621–625. DOI: 10.1136/jnnp-2016-315238.
17. Thompson A.J., Banwell B.L., Barkhof F., Carroll W.M., Coetzee T., Comi G. et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria (2017). *Lancet Neurol.* 2018;17(2):162–173. DOI: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
18. Wang K.Y., Uribe T.A., Lincoln C.M. Comparing lesion detection of infratentorial multiple sclerosis lesions between T2-weighted spin-echo, 2D-FLAIR, and 3D-FLAIR sequences. *Clin. Imaging.* 2018;51:229–234. DOI: 10.1016/j.clinimag.2018.05.017.
19. Ineichen B.V., Cananau C., Platt N.M., Ouellette R., Moridi T., Frauenknecht K.B.M. et al. Dilated virchow-robin spaces are a marker for arterial disease in multiple sclerosis. *BioRxiv.* 2023;2023. DOI: 10.1101/2023.02.24.529871.
20. Filippi M., Preziosa P., Banwell B.L., Barkhof F., Ciccarelli O., De Stefano N. et al. Assessment of lesions on magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: practical guidelines. *Brain.* 2019;142(7):1858–1875. DOI: 10.1093/brain/awz144.
21. Yarraguntla K., Seraji-Bozorgzad N., Lichtman-Mikol S., Razmjou S., Bao F., Sriwastava S. et al. Multiple Sclerosis Fatigue: A Longitudinal Structural MRI and Diffusion Tensor Imaging Study. *J. Neuroimaging.* 2018;28(6):650–655. DOI: 10.1111/jon.12548.
22. Oghabian M.A., Fatemidokht A., Haririchian M.H. Quantification of blood-brain-barrier permeability dysregulation and inflammatory activity in ms lesions by dynamic-contrast enhanced MR imaging. *Basic Clin. Neurosci.* 2022;13(1):117–128. DOI: 10.32598/bcn.2022.575.1.
23. Sun Y., Yu H., Guan Y. Glia connect inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Neurosci. Bull.* 2023;39(3):466–478. DOI: 10.1007/s12264-023-01034-9.
24. Tanaka F., Umino M., Maeda M., Nakayama R., Inoue K., Kogue R. et al. Pseudocontinuous arterial spin labeling: clinical applications and usefulness in head and neck entities. *Cancers (Basel).* 2022;14(16):3872. DOI: 10.3390/cancers14163872.
25. Gasperini C., Prosperini L., Tintoré M., Sormani M.P., Filippi M., Rio J. et al. MAGNIMS Study Group. Unraveling treatment response in multiple sclerosis: A clinical and MRI challenge. *Neurology.* 2019;92(4):180–192. DOI: 10.1212/WNL.0000000000006810.
26. Tommasin S., Gianni C., De Giglio L., Pantano P. Neuroimaging techniques to assess inflammation in Multiple sclerosis. *Neuroscience.* 2019;403:4–16. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.07.055.
27. Granberg T., Fan Q., Treaba C.A., Ouellette R., Herranz E., Mangeat G. et al. *In vivo* characterization of cortical and white matter neuroaxonal pathology in early multiple sclerosis. *Brain.* 2017;140(11):2912–2926. DOI: 10.1093/brain/awx247.
28. Bergsland N., Horakova D., Dwyer M.G., Uher T., Vaneckova M., Tyblova M. et al. Gray matter atrophy patterns in multiple sclerosis: A 10-year source-based morphometry study. *Neuroimage Clin.* 2017;17:444–451. DOI: 10.1016/j.nicl.2017.11.002.
29. Tauhid S., Neema M., Healy B.C., Weiner H.L., Bakshi R. MRI phenotypes based on cerebral lesions and atrophy in patients with multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 2014;346(1-2):250–254. DOI: 10.1016/j.jns.2014.08.047.
30. Mahad D.H., Trapp B.D., Lassmann H. Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2015;14(2):183–193. DOI: 10.1016/S1474-4422(14)70256-X.
31. Rebsamen M., McKinley R., Radojewski P., Pistor M., Friedli C., Hoepner R. et al. Reliable brain morphometry from contrast-enhanced T1w-MRI in patients with multiple sclerosis. *Hum. Brain Mapp.* 2023;44(3):970–979. DOI: 10.1002/hbm.26117.
32. Tsagkas C., Geiter E., Gaetano L., Naegelin Y., Amann M., Parmar K. et al. Longitudinal changes of deep gray matter shape in multiple sclerosis. *Neuroimage Clin.* 2022;35:103137. DOI: 10.1016/j.nicl.2022.103137.
33. Yamout B., Al Khawajah M. Radiologically isolated syndrome and multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2017;17:234–237. DOI: 10.1016/j.msard.2017.08.016.
34. Labiano-Fontcuberta A., Mato-Abad V., Álvarez-Linera J., Hernández-Tamames J.A., Martínez-Ginés M.L., Aladro Y. et al. Gray matter involvement in radiologically isolated syndrome. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(13):e3208. DOI: 10.1097/MD.0000000000003208.
35. Cagol A., Schaedelin S., Barakovic M., Benkert P., Todea R.A., Rahmanzadeh R. et al. Association of brain atrophy with disease progression independent of relapse activity in patients with relapsing multiple sclerosis. *JAMA Neurol.* 2022;79(7):682–692. DOI: 10.1001/jamaneurol.2022.1025.
36. Krajnc N., Bsteh G., Berger T. Clinical and Paraclinical Biomarkers and the Hitches to Assess Conversion to Secondary Progressive Multiple Sclerosis: A Systematic Review. *Front. Neurol.* 2021;12:666868. DOI: 10.3389/fneur.2021.666868.
37. Hemond C.C., Bakshi R. Magnetic resonance imaging in multiple sclerosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2018;8(5):a028969. DOI: 10.1101/cshperspect.a028969.
38. Uher T., Krasensky J., Malpas C., Bergsland N., Dwyer M.G., Kubala Havrdova E. et al. Evolution of brain volume loss rates in early stages of multiple sclerosis. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2021;8(3):e979. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000979.
39. Wang C., Beadnall H.N., Hatton S.N., Bader G., Tomic D., Silva D.G. et al. Automated brain volumetrics in multiple sclerosis: a step closer to clinical application. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2016;87(7):754–757. DOI: 10.1136/jnnp-2015-312304.
40. Lagana M.M., Pelizzari L., Baglio F. Relationship between MRI perfusion and clinical severity in multiple sclerosis. *Neural. Regen. Res.* 2020;15(4):646–652. DOI: 10.4103/1673-5374.266906.
41. Hernandez-Garcia L., Lahiri A., Schollenberger J. Recent progress in ASL. *Neuroimage.* 2019;187:3–16. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2017.12.095.
42. Debernard L., Melzer T.R., Alla S., Eagle J., Van Stockum S., Graham C. et al. Deep grey matter MRI abnormalities and

- cognitive function in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Psychiatry Res.* 2015;234(3):352–361. DOI: 10.1016/j.psychres.2015.10.004.
43. Ingrisch M., Sourbron S., Herberich S., Schneider M.J., Kämpfel T., Hohlfeld R. et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging suggests normal perfusion in normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Invest. Radiol.* 2017;52(3):135–141. DOI: 10.1097/RLI.0000000000000320.
  44. Lagana M.M., Pelizzari L., Baglio F. Relationship between MRI perfusion and clinical severity in multiple sclerosis. *Neural. Regen. Res.* 2020;15(4):646–652. DOI: 10.4103/1673-5374.266906.
  45. De la Peña M.J., Peña I.C., García P.G., Gavilán M.L., Malpica N., Rubio M. et al. Early perfusion changes in multiple sclerosis patients as assessed by MRI using arterial spin labeling. *Acta Radiol. Open.* 2019;8(12):2058460119894214. DOI: 10.1177/2058460119894214.
  46. Lapointe E., Li D.K.B., Traboulsee A.L., Rauscher A. What have we learned from perfusion mri in multiple sclerosis? *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2018;39(6):994–1000. DOI: 10.3174/ajnr.A5504.
  47. Gharaylou Z., Sahraian M.A., Hadjighassem M., Kohanpour M., Doosti R., Nahardani S. et al. Widespread Disruptions of White Matter in Familial Multiple Sclerosis: DTI and NOD-DI Study. *Front. Neurol.* 2021;12:678245. DOI: 10.3389/fneur.2021.678245.
  48. Oladosu O., Liu W.Q., Brown L., Pike B.G., Metz L.M., Zhang Y. Advanced diffusion MRI and image texture analysis detect widespread brain structural differences between relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Front. Hum. Neurosci.* 2022;16:944908. DOI: 10.3389/fnhum.2022.944908.
  49. Hori M., Maekawa T., Kamiya K., Hagiwara A., Goto M., Takemura M.Y. et al. Advanced diffusion MR imaging for multiple sclerosis in the brain and spinal cord. *Magn. Reson. Med. Sci.* 2022;21(1):58–70. DOI: 10.2463/mrms.rev.2021-0091.
  50. Chen J., Zhou C., Zhu L. et al. Magnetic resonance diffusion tensor imaging for occult lesion detection in multiple sclerosis. *Exp. Ther. Med.* 2017;13(1):91–96. DOI: 10.3892/etm.2016.3950.
  51. Tae W.S., Ham B.J., Pyun S.B., Kang S.H., Kim B.J. Current clinical applications of diffusion-tensor imaging in neurological disorders. *J. Clin. Neurol.* 2018;14(2):129–140. DOI: 10.3988/jcn.2018.14.2.129.
  52. Granberg T., Fan Q., Treaba C.A., Ouellette R., Herranz E., Mangeat G. et al. *In vivo* characterization of cortical and white matter neuroaxonal pathology in early multiple sclerosis. *Brain.* 2017;140(11):2912–2926. DOI: 10.1093/brain/awx247.

## Информация об авторах

**Дегтярев Илья Юрьевич** – ассистент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, г. Томск, СибГМУ, [ilya.degtyarev.4201@mail.ru](mailto:ilya.degtyarev.4201@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8812-4168>

**Завадовская Вера Дмитриевна** – д-р мед. наук, профессор, и.о. зав. кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, [wzaw@mail.ru](mailto:wzaw@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6231-7650>

**Куражов Алексей Петрович** – д-р мед. наук, профессор, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, [kurazhovap@mail.ru](mailto:kurazhovap@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-1316-5421>

**Зоркальцев Максим Александрович** – д-р мед. наук, доцент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, [zorkaltsev@mail.ru](mailto:zorkaltsev@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0025-2147>

**Алифиров Валентина Михайловна** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск, [v\\_alifirova@mail.ru](mailto:v_alifirova@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4140-3223>

**Суханова Кристина Сергеевна** – врач-рентгенолог, СибГМУ, г. Томск, [athos227930@gmail.com](mailto:athos227930@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-9449-8564>

(✉) Дегтярев Илья Юрьевич, [ilya.degtyarev.4201@mail.ru](mailto:ilya.degtyarev.4201@mail.ru)

Поступила в редакцию 24.04.2023;  
одобрена после рецензирования 25.05.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК 616.36-018.26:576.3

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-126-133>

## Роль звездчатых клеток в формировании ниши прогениторных клеток печени

Жданов В.В.<sup>1</sup>, Чайковский А.В.<sup>1</sup>, Пан Э.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины (НИИФиРМ) им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук

Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии (НИИОПП)

Россия, 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8

### РЕЗЮМЕ

Процессы пролиферации и дифференцировки прогениторных/стволовых клеток в организме обеспечиваются специфическим микроокружением – нишей стволовых клеток. Для всех ниш определены универсальные компоненты – поддерживающие клетки, внеклеточный матрикс и растворимые биологические факторы. Ниша является динамической системой, активность которой зависит от запросов регенерации.

В обзоре представлены данные о строении ниши стволовых клеток печени, одном из ее основных компонентов – звездчатых клетках и их роли в патологии.

**Ключевые слова:** ниша стволовой клетки, звездчатые клетки, прогениторные клетки, регенерация

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов при проведении исследования.

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

**Для цитирования:** Жданов В.В., Чайковский А.В., Пан Э.С. Роль звездчатых клеток в формировании ниши прогениторных клеток печени. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):126–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-126-133>.

## Hepatic stellate cells and their role in the formation of the progenitor cell niche

Zhdanov V.V.<sup>1</sup>, Chaikovskii A.V.<sup>1</sup>, Pan E.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (GRIPRM), Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences  
3, Lenina Av., Tomsk, 634028, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute of General Pathology and Pathophysiology  
8, Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russian Federation

### ABSTRACT

The processes of proliferation and differentiation of progenitor and stem cells in the body are ensured by a specific microenvironment, the stem cell niche. Universal components have been identified for all niches: supporting cells, extracellular matrix, and soluble biological factors. A niche is a dynamic system whose activity depends on regeneration needs.

The review presents data on the structure of the hepatic stem cell niche and one of its main components – stellate cells and their role in pathology.

**Keywords:** stem cell niche, stellate cells, progenitor cells, regeneration

**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:** Zhdanov V.V., Chaikovskii A.V., Pan E.S. Hepatic stellate cells and their role in the formation of the progenitor cell niche. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):126–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-126-133>.

## КОНЦЕПЦИЯ НИШИ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

Впервые концепция существования локальных механизмов тканевой регуляции, обеспечивающих количественный контроль в отношении структур гемопоэза, была высказана в работах Wolf и Trentin. Было введено понятие «гемопозиндуцирующее окружение» (ГИМ) – определенные участки кроветворной ткани, в которых осуществляется локальная регуляция созревания стволовой клетки крови в определенном направлении [1]. Позже Schofield предложил использовать термин «ниша» для обозначения микроокружения гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), начали формироваться первые концепции регуляции популяции стволовых / прогениторных клеток [2].

По современным представлениям, ниша представляет собой специализированное локальное образование, имеющее типичные для различных тканей гистологические и функциональные характеристики, в котором и находятся специфические прогениторные клетки [3, 4]. Ниша является динамической системой, которая обеспечивает тканевой гомеостаз, контролируя процессы пролиферации, дифференцировки, мобилизации и хоминга прогениторных клеточных элементов, поддерживая баланс между покоем и самообновлением [5–7].

Таким образом, нишу стволовой клетки (СК) можно рассматривать как элементарную функциональную единицу процесса регенерации [3, 6, 8]. Взаимодействие соседних клеток-регуляторов со стволовыми клетками имеет решающее значение для создания ниши стволовых клеток как через секретлируемые сигнальные факторы, так и через прямые межклеточные контакты [9].

## ТИПЫ НИШ

Все ниши СК условно можно разделить на два типа: стромальные и эпителиальные [10].

1. Стромальный тип ниши. Примером такого типа ниши может служить микроокружение гемопоэтиче-

ской стволовой клетки. В нише существует широкая стромальная зона, содержащая собственно прогениторные клетки. Важным свойством является взаимодействие между клетками – они оказывают друг на друга паракринное и аутокринное влияние [7, 11].

2. Эпителиальный тип ниши. Характеризуется особенностью цитоархитектоники – клетки располагаются в виде определенных слоев. При этом стволовые/прогениторные клетки образуют непосредственные контакты с другими клетками, в том числе и дочерними, и что важно – с базальной мембраной [12].

## КОМПОНЕНТЫ НИШИ

В общем виде ниша формируется следующими составляющими:

- 1) клетки микроокружения;
- 2) внеклеточный матрикс – механический каркас для ниши, а также среда для хранения и передачи сигнальных молекул, гормонов и факторов роста;
- 3) кровеносные сосуды;
- 4) нервные окончания.

1. Клетки микроокружения: данный компонент ниши представлен различными типами клеток, которые напрямую контактируют со стволовыми клетками, а также секретируют различные регуляторные факторы [3, 13]. Впервые значение клеток микроокружения СК было показано в работах Т.М. Dexter с соавт., установивших, что при добавлении гемопоэтических стволовых клеток к стромальным негемопоэтическим клеткам время существования культуры ГСК увеличивается с 1–2 до 14 нед [2]. Общими компонентами ниши стволовой клетки, характерными для ниш различных органов и тканей, являются такие клетки, как фибробласты, эндотелиоциты и макрофаги [3, 13–16]. Данные клеточные элементы определяют пролиферативный и дифференцировочный статус клеток-предшественников посредством синтеза цитокинов, хемокинов, факторов роста,

других регуляторных веществ и компонентов внеклеточного матрикса [6, 17]. В печени клетки Купфера (печеночные макрофаги) могут взаимодействовать с клетками-предшественниками гепатоцитов, влияя на их пролиферацию и дифференцировку либо за счет прямых контактов, либо путем продукции некоторых гуморальных факторов [16].

2. Внеклеточный матрикс. Долгое время внеклеточный матрикс считался достаточно инертным компонентом тканей, не принимающим особого участия в жизнедеятельности клеток. Однако за последние четверть века исследования в этом направлении позволили получить совершенно новые данные [18, 19]. Межклеточное вещество является достаточно динамичным элементом ниши стволовых клеток, влияя на производство, деградацию и ремоделирование собственных компонентов. Естественно, в первую очередь, межклеточный матрикс создает платформу, каркас для функционирования прогениторных клеточных элементов. Внеклеточный матрикс специфичен по биохимическому составу для каждой ткани и отражает особенности клеток, присутствующих в этой ткани [3, 18, 20].

Известно, что жесткость внеклеточного матрикса является главным свойством, с помощью которого клетки чувствуют внешнее воздействие и реагируют на изменения окружающей среды соответствующим образом. Данный феномен известен как механотрансдукция – преобразование механических стимулов во внутриклеточный биохимический ответ. При этом взаимодействие между клеткой и внеклеточным матриксом является реципрокным: клетки постоянно ремоделируют матрикс в своем микроокружении, а эти динамические модификации в последующем управляют поведением клеток [18, 21].

## **ИННЕРВАЦИЯ НИШИ, НЕРВНЫЕ ОКОНЧАНИЯ**

Помимо упомянутых клеточных элементов ниши стволовой клетки (фибробласты, макрофаги и эндотелиоциты) важными элементами ниши являются нервные волокна. Показано существование миелинизированных и немиелинизированных нервных волокон в костном мозге, большинство из которых расположено рядом с артериолами в кроветворной ткани [5, 6, 22]. Симпатический и парасимпатический отделы вегетативной нервной системы играют важную роль в регуляции ниши ГСК.

Выделение медиаторов терминалями влияет на выработку гемопоэтинов и активность элементов микроокружения стволовой клетки крови [3, 19, 22]. Волокна симпатической и парасимпатической

нервных систем также заканчиваются синапсами и на различных типах клеток печени. За счет стимулирования  $\alpha 1B$ -,  $\alpha 1D$ -,  $\beta 1$ - и  $\beta 2$ -адренорецепторов происходит активация пролиферации звездчатых клеток печени и овальных клеток (оба типа клеток экспрессируют адренорецепторы) [23]. Овальные клетки также несут на себе мускариновые М3-рецепторы, при стимуляции которых ацетилхолином отмечается усиление их пролиферации [24].

## **КРОВЕНОСНЫЕ СОСУДЫ**

Важным элементом любой ниши являются кровеносные сосуды микроциркуляторного русла [2, 5]. Особенное значение придается эндотелиоцитам (эндотелиальные клетки) и перицитам. В костном мозге эндотелиоциты формируют барьер между гемопоэтическими клетками и кровью, регулируют миграцию клеток крови в кровоток [25]. Эндотелиальные клетки, выстилающие синусоидные капилляры (синусоидные эндотелиоциты), являются основой уникальной капиллярной сети, присутствующей в костном мозге и печени.

Указанные элементы вносят вклад в специализированное периваскулярное микроокружение, где находится большинство гемопоэтических стволовых клеток [26]. Эндотелиоциты участвуют в регуляции гомеостаза и стимуляции регенерации тканей как за счет прямого взаимодействия с локальными стволовыми клетками и клетками-предшественниками, так и путем секреции ангиокринных факторов [27]. Известно, что у взрослых животных синусоидные эндотелиоциты костного мозга во многом обеспечивают регенерацию кроветворной ткани [28]. Аналогичные эндотелиоциты выстилают капилляры печени, при этом каждый гепатоцит располагается в непосредственной близости от синусоидной эндотелиальной клетки таким образом, что их плазматические мембраны соприкасаются. При регенерации печени эндотелиальные клетки создают инструктивную сосудистую нишу, которая за счет выработки ангиокринных факторов стимулирует восстановительные процессы, подобно факторам, происходящим из эндотелиальных клеток, которые поддерживают гемопоэз [29].

## **ПРОГЕНИТОРНЫЕ КЛЕТКИ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ. СОСТАВ И ФУНКЦИЯ НИШ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК В РАЗНЫХ ТКАНЯХ**

Выявление и характеристика ниш стволовых клеток до сих пор остаются серьезной проблемой их биологии. Это связано со сложностью идентификации клеток в определенных зонах, в том числе и с

ограниченным количеством известных маркеров, с помощью которых их можно было бы отличить на фоне морфологической схожести, от других клеток конкретной ткани [3, 6]. На сегодняшний день выявлены ниши стволовых клеток кроветворной ткани [14], кожи [30], в кишечнике [31], поперечнополосатой мускулатуре [32], ЦНС [15]. Идет активное изучение ниши прогениторных клеток печени [33] и поджелудочной железы [34].

## ПЕЧЕНЬ

Известно, что гепатоциты и холангиоциты обладают высоким регенеративным потенциалом и способны обеспечивать восстановление ткани печени при умеренной клеточной гибели и локальных повреждениях [35]. Помимо гепатоцитов и холангиоцитов важную роль в процессе регенерации печени играют несколько типов прогениторных клеток, расположенных в различных областях доли. В случаях, когда пролиферация гепатоцитов нарушена в связи с хронической патологией, такой как хронический вирусный гепатит или неалкогольная жировая болезнь печени, гепатоциты не могут эффективно обеспечивать регенерацию паренхимы [36]. При этом активируются печеночные клетки-предшественники, которых, как правило, достаточно для регенерации билиарного и гепатоцеллюлярного эпителия [37].

Известны три популяции прогениторных клеток в печени [38]. Первая группа расположена в каналах Геринга – печеночные стволовые клетки (HrSCs, hepaticstem/progenitors), участвуют в регенерации малых билиарных протоков и непосредственно паренхимы печени. Стволовые клетки печени (HrSCs) являются факультативными бипотентными клетками-предшественниками гепатобластов [38, 39]. Печеночные стволовые клетки экспрессируют комбинацию молекул адгезии эпителиальных клеток (EpcAM), адгезии нервных клеток (NCAM), цитокератина-19, альбумина и являются отрицательными по альфа-фетопротейну (АФП, alpha-fetoprotein) [37]. В качестве второй группы предшественников гепатоцитов можно обозначить прогениторные клетки билиарного тракта (BTSC, BiliaryTreeStem/Progenitor Cells). Это гетерогенная популяция клеток, экспрессирующая различные факторы транскрипции (SOX9, SOX17 и PDX1), поверхностные (EpcAM, LGR5 и (или) CD133) и цитоплазматические маркеры (CK7, CK19). Клетки данного типа также поддерживают обновление холангиоцитов в крупных внутрипеченочных и внепеченочных билиарных протоках [40]. Третьим типом прогениторных клеток является группа самообновляющихся клеток – гепатоцитов Axin2+, прилегающих к центральной вене [38].

## НИША ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ

Ниша прогениторных клеток в печени, как и любая другая ниша, содержит определенный набор клеток, которые напрямую контактируют со стволовыми клетками, формируют межклеточное вещество и секретируют регуляторные факторы [41], оказывая таким образом как прямое, так и опосредованное действие на прогениторные элементы [33]. Ниши стволовых клеток в печени формируют различные типы клеток: гепатоциты; синусоидальные клетки [16]; эндотелиоциты (выстилают печеночные синусоиды) [42]; перисинусоидальные клетки – звездчатые клетки печени (клетки Ито) – располагаются в пространстве Диссе; лейкоциты [43]; а также клетки соединительной ткани (фибробласты, тучные клетки) и ангиобласты [36].

Все указанные типы клеток постоянно взаимодействуют между собой и с гепатоцитами при посредничестве экстрацеллюлярного матрикса, составляя единую структурно-функциональную систему, которая обеспечивает гомеостаз печеночного ацинуса и подчинена выполнению сложных специализированных функций гепатоцитов [44]. Клетки Купфера поддерживают адекватное микроокружение для гепатоцитов за счет ранней активации в них лизосомальных гидролаз, активации рецептора N-ацетилгликозамина, маннозы и галактозы, который может выполнять роль посредника в пиноцитозе некоторых гликопротеинов внеклеточного матрикса. Клетки Купфера также участвуют в ремоделировании внеклеточного матрикса, секретируя локально коллагеназу 4-го типа, матриксные металлопротеиназы (ММП-1, ММП-13), желатиназы и стромолизин [45].

Предшественники звездчатых клеток печени и эндотелиоцитов имеют почти такие же фенотипические признаки, что и их зрелые потомки (звездчатые клетки и эндотелиоциты), однако существуют различия. Например, предшественники звездчатых клеток минимально экспрессируют ретиноиды, тогда как они в большом количестве обнаруживаются в зрелых клетках Ито; предшественники эндотелиальных клеток не экспрессируют CD31 (PECAM), что является отличительной чертой зрелого эндотелия.

Продукты таких клеток микроокружения, как фибробласты и мезенхимальные стволовые клетки, включают матричные факторы (гиалуронаны, коллагены типов III и IV) [42], минимально сульфатированные протеогликаны и ламинины [46]. К ним относятся также растворимые сигналы, такие как фактор, ингибирующий лейкемию (LIF), фактор роста гепатоцитов (HGF) и эпидермальный фактор роста (EGF) [47]. В экспериментах *in vitro* добавление любого

из этих факторов, а также субстратов гиалуроновой кислоты в культуру печеночных клеток вызывает дифференцировку HpSCs в гепатобласты [47, 48]. При повреждении печени звездчатые клетки активируются, продуцируя в дальнейшем коллаген I типа, сульфатированные протеогликаны, а также высокие уровни цитокинов и факторов роста [49]. Помимо сигналинга от ниши к стволовым/прогениторным клеткам существует также обратная связь от стволовых/прогениторных клеток к нише. HpSCs могут активировать звездчатые и эндотелиальные клетки посредством пути Hedgehog (Hh), что приводит к синтезу определенных компонентов матрикса (коллаген IV типа, ламинин, синдеканы и глипиканы), которые связаны с физиологической регенерацией печени [44].

Звездчатые клетки (Клетки Ито, ЗКП) печени были впервые описаны в 1876 г. Купфером и названы им «Sternzellen». В литературе звездчатые клетки печени встречаются под различными названиями (клетки Ито, липоцит, перисинусоидальная клетка или парасинусоидальная клетка, клетки, запасающие жир). В настоящее время широко принятое и предпочтительное обозначение этих клеток – звездчатые клетки печени [50, 51]. Подобно клеткам Купфера и эндотелиальным клеткам печени, звездчатые клетки являются непаренхиматозными клетками, располагаются перисинусоидально в пространстве Диссе, в углублениях между гепатоцитами, ограниченных базолатеральной поверхностью гепатоцитов и антилюминальной стороной синусоидальных эндотелиальных клеток (СЭК) [52].

В серии работ выявлена способность ЗКП депонировать ретиноиды и липиды. Звездчатые клетки печени синтезируют основной компонент внеклеточного матрикса ткани печени – протеогликаны (при этом они синтезируют его примерно в 6 раз больше, чем гепатоциты), а также являются основным источником коллагена I, III, IV, V, VI типов, тенастина, ламинина и фибронектина. Данный тип клеток синтезирует в том числе четыре типа матриксных металлопротеиназ [50]. Также ЗКП тесно взаимодействуют с эндотелиальными клетками и нервными окончаниями посредством своих многочисленных отростков, проходящих через пространство Диссе.

В цитозоле звездчатых клеток имеется шероховатый эндоплазматический ретикулум, редуцированный околядерный аппарат Гольджи, а сама клетка имеет цитоплазматические отростки, некоторые из них являются межпеченочными, а другие субэндотелиальными [50]. Отростки клеток имеют микрошипики, с помощью которых клетка Ито устанавливает контакты с гепатоцитами, получая от последних хе-

мотаксические стимулы, которые вызывают сокращение звездчатой клетки [53]. Клетки Ито содержат вакуоли двух типов (I и II). Вакуоли типа I представляют собой связанные с мембраной клетки образования различных размеров, которые имеют диаметр не более 2 мкм, и их предшественниками являются лизосомы. Вакуоли второго типа не связаны с мембраной и имеют более крупные размеры, превышающие 8 мкм [50, 51, 54].

Различают два типа звездчатых клеток: покоящиеся и активированные. В нормальных, физиологических условиях ЗКП находятся в так называемом неактивированном состоянии и основной их функцией является накопление липидов и витамина А [55]. Звездчатые клетки за счет своей пластичности (в зависимости от своего функционального состояния) и способности к трансдифференцировке выполняют различные (порой взаимоисключающие) функции. При различных типах повреждения (вирусный гепатит, токсический гепатит) ЗКП получают сигналы от гепатоцитов и иммунокомпетентных клеток, активируются и трансформируются в миофибробластоподобные клетки [50, 51]. При активации ЗКП видоизменяются, приобретая плоскую форму, и теряют свои характерные липидные вакуоли [55]. Гранулярный эндоплазматический ретикулум клеток при этом увеличивается за счет активации синтеза белка, а в цитоплазме появляется множество сократительных микрофиламентов.

Активация звездчатых клеток состоит из двух фаз: инициация (первая фаза) и устойчивая активация (вторая фаза) [50]. Первая фаза запускается за счет паракринной стимуляции со стороны поврежденных гепатоцитов, клеток Купфера и эндотелиоцитов. Во вторую фазу активации происходит ряд морфофункциональных изменений клетки: активируется пролиферация, хемотаксис, фиброгенез, появляется сократимость, происходит дегградация матрикса, потеря ретиноидов, а также высвобождение провоспалительных, профиброгенных и промиотогенных стимулов, которые действуют аутокринно и паракринно [56].

Предположение о важной роли клеток Ито в процессе регенерации печени было впервые выдвинуто в работе G. Kent и соавт. [57]. Их близкое анатомическое расположение с гепатоцитами в пространстве Диссе и вокруг клеток-предшественников делает ЗКП главным кандидатом на роль основного компонента ниши резидентных стволовых клеток в печени, а также стимулятора процессов пролиферации самих гепатоцитов [35, 38, 40, 48].

Клетки Ито участвуют в процессе восстановления паренхимы печени как за счет синтеза факторов

роста, хемокинов, эйкозаноидов и других малых молекул с паракриной, юстакриной, аутокринной функцией или хемоаттрактантной активностью, так и синтеза макромолекул межклеточного матрикса, а также его ремоделирования [59]. Активированные ЗКП продуцируют значительное число цитокинов: фактор роста гепатоцитов (HGF), эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor, EGF), эритропоэтин, нейротрофин и трансформирующий фактор роста  $\alpha$  (transforming growth factor alpha, TGF $\alpha$ ). TGF- $\alpha$  и EGF действуют так же и как аутокринные факторы, стимулируя пролиферацию самих ЗКП. Звездчатые клетки печени являются единственным источником фактора роста гепатоцитов (HGF) в печени. Основной точкой приложения HGF являются собственно гепатоциты [60]. При повреждении печени активированные ЗКП пролиферируют и мигрируют в зоны воспаления и некроза гепатоцитов, продуцируя большое количество компонентов внеклеточного матрикса [50].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенных нами исследованиях на модели цирроза печени, вызванного введением тетрахло- руглерода (ТХУ) и 5%-го раствора этанола, показано, что содержание клеток Ито в паренхиме органа (CD45- CD133+) на данной модели патологии увеличивается на 267,2% от интактных значений [61]. Согласно многим данным, помимо печени звездчатые клетки присутствуют в других органах, включая поджелудочную железу [41], почки [62] и легкие [63].

Таким образом, можно сделать вывод, что звездчатые клетки являются ключевыми элементами тканевого микроокружения, участвуют в регуляции регенерации ткани печени. Более того, есть данные о том, что звездчатые клетки сами по себе являются прогениторными элементами и способны дифференцироваться в тканеспецифические клетки [41, 58, 60, 64].

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Роль гемопоэ- зиндуцирующего микроокружения в регуляции крове- творения при цитостатических миелосупрессиях. Томск: STT, 1999:128.
2. Дыгай А.М., Жданов В.В. Теория регуляции кроветворе- ния. М.: Изд-во РАМН, 2012:140.
3. Fuchs E., Blau H.M. tissue stem cells: architects of their niches. *Cell Stem Cell*. 2020;27(4):532–556. DOI: 10.1016/j. stem.2020.09.011.
4. Martinez P., Ballarin L., Ereskovsky A.V. et al. Articulating the “stem cell niche” paradigm through the lens of non-mod- el aquatic invertebrates. *BMC Biol*. 2022;(1):20:23. DOI: 10.1186/s12915-022-01230-5.
5. Юшков Б.Г., Климин В.Г. Повреждение и регенерация. М., 2017:132.
6. Mannino G., Russo C., Maugeri G. et al. Adult stem cell niches for tissue homeostasis. *J. Cell Physiol*. 2022;237(1):239–257. DOI: 10.1002/jcp.30562.
7. Hicks M.R., Pyle A.D. The emergence of the stem cell niche. *Trends Cell Biol*. 2023;33(2):112–123. DOI: 10.1016/j. tcb.2022.07.003.
8. Urbán N., Cheung T.H. Stem cell quiescence: the challenging path to activation. *Development*. 2021;148(3). DOI: 10.1242/ dev.165084.
9. Brunet A., Goodell M.A., Rando T.A. Ageing and rejuvena- tion of tissue stem cells and their niches. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2023;(1):45–62. DOI: 10.1038/s41580-022-00510-w.
10. Нимирицкий П.П., Сагарадзе Г.Д., Ефименко А.Ю., Мака- ревич П.И., Ткачук В.А. Ниша стволовой клетки. *Цитоло- гия*. 2018;60(8):575–586.
11. Ceafalan L.C., Enciu A.M., Fertig T.E. et al. Heterocellu- lar molecular contacts in the mammalian stem cell niche. *Eur. J. Cell Biol*. 2018;97(6):442–461. DOI: 10.1016/j. ejcb.2018.07.001.
12. Fujiwara H., Ferreira M., Donati G. et al. The basement mem- brane of hair follicle stem cells is a muscle cell niche. *Cell*. 2011;144(4):577–589. DOI: 10.1016/j.cell.2011.01.014.
13. Sugiyama T., Omatsu Y., Nagasawa T. Niches for hemato- poietic stem cells and immune cell progenitors. *Int. Immunol*. 2019;31(1):5–11. DOI: 10.1093/intimm/dxy058.
14. Raaijmakers M.H.G.P. Aging of the hematopoietic stem cell niche: an unnerving matter. *Cell Stem Cell*. 2019;25(3):301– 303. DOI: 10.1016/j.stem.2019.08.008.
15. Segel M., Neumann B., Hill M.F.E. et al. Niche stiffness un- derlies the ageing of central nervous system progenitor cells. *Nature*. 2019;573(7772):130–134. DOI: 10.1038/s41586-019- 1484-9.
16. Deng Y., Xia B., Chen Z. et al. Stem cell-based therapy strat- egy for hepatic fibrosis by targeting intrahepatic cells. *Stem Cell Rev. Rep*. 2022;18(1):77–93. DOI: 10.1007/s12015-021- 10286-9.
17. Brizzi M.F., Tarone G., Defilippi P. Extracellular matrix, in- tegrins, and growth factors as tailors of the stem cell niche. *Curr. Opin. Cell Biol*. 2012;24(5):645651. DOI: 10.1016/j. ceb.2012.07.001.
18. Stanton A.E., Tong X., Yang F. Extracellular matrix type modulates mechanotransduction of stem cells. *Acta Biomater*. 2019;96:310–320. DOI: 10.1016/j. actbio.2019.06.048.
19. Lee-Thedieck C., Schertl P., Klein G. The extracellular ma- trix of hematopoietic stem cell niches. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2022;181:114069. DOI: 10.1016/j.addr.2021.114069.
20. Sánchez-Romero N., Sainz-Arnal P., Pla-Palacín I. et al. The role of extracellular matrix on liver stem cell fate: A dynamic relationship in health and disease. *Differentiation*. 2019;106:49–56. DOI: 10.1016/j.diff.2019.03.001.
21. Humphrey J.D., Dufresne E.R., Schwartz M.A. Mechanotrans- duction and extracellular matrix homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2014;15(12):802–812. DOI: 10.1038/nrm3896.
22. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А. Роль вегета- тивной нервной системы в регуляции гемопоэза. Томск, 1997:218.

23. Oben J.A., Diehl A.M. Sympathetic nervous system regulation of liver repair. *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.* 2004;280(1):874–883. DOI: 10.1002/ar.a.20081.
24. Cassiman D., Denef C., Desmet V.J. et al. Human and rat hepatic stellate cells express neurotrophins and neurotrophin receptors. *Hepatology.* 2001;33(1):148–158. DOI: 10.1053/jhep.2001.20793.
25. Comazzetto S., Shen B., Morrison S.J. Niches that regulate stem cells and hematopoiesis in adult bone marrow. *Dev. Cell.* 2021;56(13):1848–1860. DOI: 10.1016/j.devcel.2021.05.018.
26. Hassanshahi M., Hassanshahi A., Khabbazi S. et al. Bone marrow sinusoidal endothelium: damage and potential regeneration following cancer radiotherapy or chemotherapy. *Angiogenesis.* 2017; 20(4):427–442. DOI: 10.1007/s10456-017-9577-2.
27. Poisson J., Lemoine S., Boulanger C. et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J. Hepatol.* 2017;66(1):212–227. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.07.009.
28. Craig D.J., James A.W., Wang Y. et al. Blood vessel resident human stem cells in health and disease. *Stem Cells Transl. Med.* 2022;11(1):35–43. DOI: 10.1093/stcltm/szab001.
29. Lafoz E., Ruat M., Anton A. et al. The Endothelium as a driver of liver fibrosis and regeneration. *Cells.* 2020;9(4):929. DOI: 10.3390/cells9040929.
30. Li K.N., Tumber T. Hair follicle stem cells as a skin-organizing signaling center during adult homeostasis. *EMBO J.* 2021;40(11):e107135. DOI: 10.15252/embj.2020107135.
31. Duckworth C.A. Identifying key regulators of the intestinal stem cell niche. *Biochem. Soc. Trans.* 2021;49(5):2163–2176. DOI: 10.1042/BST20210223.
32. Sousa-Victor P., García-Prat L., Muñoz-Cánoves P. Control of satellite cell function in muscle regeneration and its disruption in ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2022;23(3):204–226. DOI: 10.1038/s41580-021-00421-2.
33. Ge J.Y., Zheng Y.W., Tsuchida T. et al. Hepatic stellate cells contribute to liver regeneration through galectins in hepatic stem cell niche. *Stem Cell Res. Ther.* 2020;11(1):425. DOI: 10.1186/s13287-020-01942-x.
34. Afelik S., Rovira M. Pancreatic  $\beta$ -cell regeneration: Facultative or dedicated progenitors? *Mol. Cell. Endocrinol.* 2017; 445:8594. DOI: 10.1016/j.mce.2016.11.008.
35. Li W., Li L., Hui L. Cell plasticity in liver regeneration. *Trends Cell Biol.* 2020;30(4):329–338. DOI: 10.1016/j.tcb.2020.01.007.
36. Michalopoulos G.K., Bhushan B. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021;18(1):40–55. DOI: 10.1038/s41575-020-0342-4.
37. Overi D., Carpino G., Franchitto A. et al. Hepatocyte injury and hepatic stem cell niche in the progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Cells.* 2020;9(3):590. DOI: 10.3390/cells9030590.
38. Lanzoni G., Cardinale V., Carpino G. The hepatic, biliary, and pancreatic network of stem/progenitor cell niches in humans: A new reference frame for disease and regeneration. *Hepatology.* 2016;64(1):277–286. DOI: 10.1002/hep.28326.
39. Miyajima A., Tanaka M., Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming. *Stem Cell.* 2014;14(5):561–574. DOI: 10.1016/j.stem.2014.04.010.
40. Itoh T., Miyajima A. Liver regeneration by stem/progenitor cells. *Hepatology.* 2014;59(4):1617–1626. DOI: 10.1002/hep.26753.
41. Bynigeri R.R., Jakkampudi A., Jangala R. et al. Pancreatic stellate cell: Pandora's box for pancreatic disease biology. *World J. Gastroenterol.* 2017;23(3):382–405. DOI: 10.3748/wjg.v23.i3.382.
42. Kordes C., Bock H.H., Reichert D. Hepatic stellate cells: current state and open questions. *Biol. Chem.* 2021;402(9):1021–1032. DOI: 10.1515/hsz-2021-0180.
43. Gaça M.D., Pickering J.A., Arthur M.J. et al. Human and rat hepatic stellate cells produce stem cell factor: a possible mechanism for mast cell recruitment in liver fibrosis. *J. Hepatol.* 1999;30(5):850–858. DOI: 10.1016/s10168-8278(99)80139-1.
44. Lorenzini S., Bird T.G., Boulter L. et al. Characterisation of a stereotypical cellular and extracellular adult liver progenitor cell niche in rodents and diseased human liver. *Gut.* 2010;59(5):645–654. DOI: 10.1136/gut.2009.182345.
45. Kamm D.R., McCommis K.S. Hepatic stellate cells in physiology and pathology. *J. Physiol.* 2022;600(8):1825–1837. DOI: 10.1113/JP281061.
46. Hayes A.J., Tudor D., Nowell M.A. et al. Chondroitin sulfate sulfation motifs as putative biomarkers for isolation of articular cartilage progenitor cells. *J. Histochem. Cytochem.* 2008;56(2):125–138. DOI: 10.1369/jhc.7A7320.2007.
47. Wang Y., Cui C.-B., Yamauchi M. et al. Lineage restriction of human hepatic stem cells to mature fates is made efficient by tissue-specific biomatrix scaffolds. *Hepatology.* 2011;53(1):293–305. DOI: 10.1002/hep.24012.
48. Harrill J.A., Parks B.B., Wauthier E. et al. Lineage-dependent effects of aryl hydrocarbon receptor agonists contribute to liver tumorigenesis. *Hepatology.* 2015;61(2):548–560. DOI: 10.1002/hep.27547.
49. Lee Y.A., Wallace M.C., Friedman S.L. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story. *Gut.* 2015;64(5):830–841. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-306842.
50. Schönberger K., Tchorz J.S. Hepatic stellate cells: From bad reputation to mediators of liver homeostasis. *Sci. Signal.* 2023;16(787):eadh5460. DOI: 10.1126/scisignal.adh5460.
51. Blaner W.S., O'Byrne S.M., Wongsiriroj N. et al. Hepatic stellate cell lipid droplets: a specialized lipid droplet for retinoid storage. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009;1791(6):467–473. DOI: 10.1016/j.bbalip.2008.11.001.
52. Gupta G., Khadem F., Uzonon J.E. Role of hepatic stellate cell (HSC)-derived cytokines in hepatic inflammation and immunity. *Cytokine.* 2019;124:154542–154542. DOI: 10.1016/j.cyt.2018.09.004.
53. Melton A.C., Yee H.F. Hepatic stellate cell protrusions couple platelet-derived growth factor-BB to chemotaxis. *Hepatology.* 2007;45(6):1446–1453. DOI: 10.1002/hep.21606.
54. Ефремова Н.А., Грешнякова В.А., Горячева Л.Г. Современные представления о патогенетических механизмах фиброза печени. *Журнал инфектологии.* 2023;15(1):16–24. DOI: /10.22625/2072-6732-2023-15-1-16-24.
55. Tsuchida T., Friedman S.L. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2017;14(7):397–411. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.38.

56. Krizhanovsky V., Yon M., Dickins R.A. et al. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell*. 2008;134(4):657–667. DOI: 10.1016/j.cell.2008.06.049.
57. Kent G., Gay S., Inouye T., et al. Vitamin A-containing lipocytes and formation of type III collagen in liver injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1976;73(10):3719–3722. DOI: 10.1073/pnas.73.10.3719.
58. Roskams T. Different types of liver progenitor cells and their niches. *J. Hepatol.* 2006;45(1):1–4. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.05.002.
59. Chen L., Zhang W., Zhou Q. et al. HSCs play a distinct role in different phases of oval cell-mediated liver regeneration. *Cell. Biochem. Funct.* 2012;30(7):588–596. DOI: 10.1002/cbf.2838.
60. Kitto L.J., Henderson N.C. Hepatic stellate cell regulation of liver regeneration and repair. *Hepatol. Commun.* 2021;5(3):358–370. DOI: 10.1002/hep4.1628.
61. Скурихин Е.Г., Жукова М.А., Пан Э.С., Ермакова Н.Н., Першина О.В., Пахомова А.В. и др. Возрастные особенности реакции печени и стволовых клеток при моделировании цирроза печени. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2021;1:24–30.
62. Cha J.J., Mandal C., Ghee J.Y. et al. Inhibition of renal stellate cell activation reduces renal fibrosis. *Biomedicines*. 2020;8(10):431. DOI: 10.3390/biomedicines8100431.
63. Choi J., Son Y., Moon J.W., Park D.W., Kim Y.S., Oh J. Fusion protein of RBP and albumin domain III reduces lung fibrosis by inactivating lung stellate cells. *Biomedicines*. 2023;11(7):2007. DOI: 10.3390/biomedicines11072007.
64. Pintilie D.G., Shupe T.D., Oh S.H. et al. Hepatic stellate cells' involvement in progenitor-mediated liver regeneration. *Lab. Invest.* 2010;90(8):1199–1208. DOI: 10.1038/labinvest.2010.88.

## Информация об авторах

**Жданов Вадим Вадимович** – д-р мед. наук, чл.-корр. РАН, директор НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, hdanov\_vv@pharmso.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9516-0204>

**Чайковский Александр Васильевич** – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория патофизиологии и экспериментальной терапии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, thav\_pharm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4398-9122>

**Пан Эдгар Сергеевич** – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория регуляции репаративных процессов, НИИОПП, г. Москва, artifexpan@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2163-7647>

(✉) **Жданов Вадим Вадимович**, hdanov\_vv@pharmso.ru

Поступила в редакцию 11.08.2023;  
одобрена после рецензирования 27.08.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК: 618.16-002.27-07-08(048.8)  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-134-143>



## Вульвовагинальная атрофия: современные методы диагностики и лечения (обзор литературы)

Зайнетдинова Л.Ф., Телешева Л.Ф., Медведев Б.И., Хахулина В.В.

Южно-Уральский государственный медицинский университет (ЮУГМУ)  
Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

### РЕЗЮМЕ

**Целью** публикации является обзор современных методов диагностики и лечения вульво-вагинальной атрофии (ВВА), которая является одним из проявлений генитоуринарного менопаузального синдрома у женщин в пери- и постменопаузе.

**Материалы и методы.** Проведен обзор отечественных и зарубежных источников, посвященных распространенности, диагностике и методам лечения ВВА.

**Результаты.** В отличие от вазомоторных симптомов, ВВА прогрессирует с возрастом, вызывая значительное нарушение качества жизни женщин. Симптомы, как правило, начинают беспокоить пациенток в перименопаузе, но их частота и выраженность значительно возрастают в постменопаузе. Диагностика ВВА может представлять некоторые трудности, так как многие женщины воспринимают свое состояние как естественное проявление старения организма и не обращаются за медицинской помощью. В настоящее время предложены медикаментозные и немедикаментозные методы лечения ВВА, каждый из которых имеет свои особенности, показания и противопоказания. Однако безопасность и эффективность некоторых из них полностью не доказана.

**Заключение.** Вульво-вагинальная атрофия часто встречается у женщин пери- и постменопаузального возраста. Современные аспекты диагностики и лечения данной патологии позволяют значительно повысить качество жизни пациенток с симптомами ВВА, однако необходимы дальнейшие исследования для подтверждения безопасности предлагаемых методов лечения и поиск новых.

**Ключевые слова:** вульво-вагинальная атрофия, генитоуринарный менопаузальный синдром, пери- и постменопауза

**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:** Зайнетдинова Л.Ф., Телешева Л.Ф., Медведев Б.И., Хахулина В.В. Вульвовагинальная атрофия: современные методы диагностики и лечения (обзор литературы). *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):134–143. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-134-143>.

## Vulvovaginal atrophy: current methods of diagnosis and treatment

Zainetdinova L.F., Telesheva L.F., Medvedev B.I., Khakhulina V.V.

South Ural State Medical University  
64, Vorovskogo Str., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation

✉ Зайнетдинова Лариса Фоатовна, sea-gull6@yandex.ru

**ABSTRACT**

**Aim.** To review modern methods of diagnosis and treatment of vulvovaginal atrophy (VVA), which is one of the manifestations of genitourinary syndrome of menopause in peri- and postmenopausal women.

**Materials and methods.** A review of domestic and foreign literature on the prevalence and modern methods of diagnosis and treatment of VVA was carried out.

**Results.** Unlike vasomotor symptoms, VVA progresses with age, causing a significant impairment in women's quality of life. Symptoms usually begin to bother perimenopausal patients, but their frequency and severity increase significantly in postmenopausal women. Diagnosis of VVA can present some difficulties, as many women perceive their condition as a natural manifestation of aging and do not seek medical care. Currently, drug and non-drug therapies for VVA have been proposed, each of which has its own characteristics, indications, and contraindications. However, the safety and effectiveness of some of them have not been fully proven.

**Conclusion.** VVA is common in peri- and postmenopausal women. Modern aspects of the diagnosis and treatment of this pathology can significantly improve the quality of life of patients with VVA symptoms. However, further research is needed to confirm safety of the proposed treatment methods, and search for new techniques is required.

**Keywords:** vulvovaginal atrophy, genitourinary syndrome of menopause, peri- and postmenopause

**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:** Zainetdinova L.F., Telesheva L.F., Medvedev B.I., Khakhulina V.V. Vulvovaginal atrophy: current methods of diagnosis and treatment. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):134–143. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-134-143>.

**ВВЕДЕНИЕ**

Одной из актуальных проблем в гинекологии, снижающей качество жизни женщин в климактерии, является генитоуринарный менопаузальный синдром (ГУМС). Термин ГУМС был предложен в 2014 г. Североамериканским обществом менопаузы (NAMS) и Международным обществом изучения женского сексуального здоровья (ISSWSH), а в 2015 г. одобрен Российской ассоциацией по менопаузе. Это симптомокомплекс, ассоциированный со снижением эстрогенов и других половых стероидов, включающий в себя изменения, возникающие в наружных половых органах, промежности, влагалище, уретре и мочевом пузыре [1, 2].

Симптомы ГУМС, как правило, возникают в перименопаузе и прогрессируют в постменопаузальном периоде, приводя к функциональным и анатомическим изменениям [3]. Частота встречаемости ГУМС у женщин в перименопаузе составляет 15–19%, в постменопаузе – 40–90% [4–9]. Распространенность вульво-вагинальной атрофии (ВВА) как одного из проявлений ГУМС составляет у женщин в возрасте 40–45 лет 19%, в пери- и постменопаузе колеблется от 36 до 90% [5, 6, 10]. По данным К. Levine и соавт., у сексуально активных женщин в возрасте 40–65 лет симптомы, соответствующие ВВА, встречаются в 57% [11]. Однако несмотря на широкую распростра-

ненность ВВА и в целом ГУМС, заболевание это часто не диагностируется и не лечится [11–14].

Гистологические изменения эпителия влагалища у женщин в пери- и постменопаузе включают его истончение с признаками кератинизации и высоким соотношением ядра к цитоплазме, преобладанием базальных и парабазальных клеток, резкое снижение количества промежуточных, поверхностных клеток и гликогена. Это приводит к уменьшению количества лактобацилл и повышению pH влагалища. Гипоэстрогенные состояния влагалища также включают атрофию гладкомышечной мускулатуры, изменения в составе соединительной ткани с нарушением соотношения коллагена I и III типа, эластина, гиалуроновой кислоты, что приводит к снижению прочности и эластичности ткани, а также, возможно, к фиброзу и облитерации влагалища.

Истончение эпителия влагалища увеличивает восприимчивость к травмам, что приводит к кровотечениям, петехиям и изъязвлениям, воспалению [9, 15–19]. Низкое количество лактобацилл может вызывать колонизацию влагалища анаэробными микроорганизмами, воспаление и патологические выделения, предрасполагать к инфекции мочевых путей [20, 21]. По литературным данным, у женщин с ВВА при микробиологическом исследовании отделяемого влагалища может наблюдаться картина нормоценоза (44%), атрофического вагинита (42%),

бактериального вагиноза (12%) и неспецифического вагинита (1,7%). При атрофическом вагините по сравнению с вагинальной атрофией отмечается повышение количества нейтрофилов [22–25]. По мнению ряда авторов, увеличение анаэробной микрофлоры может способствовать появлению симптомов ВВА у женщин в пери- и постменопаузе, однако не все исследователи с этим согласны [26–28].

ВВА проявляется такими симптомами, как сухость, жжение, зуд, раздражение, дискомфорт и боль во влагалище, кровянистые выделения во время и после полового контакта, нарушение сексуальной функции, поверхностная диспареуния в отличие от глубокой, которая характерна для эндометриоза [14]. Это хроническая патология, которая прогрессирует с годами. По данным E. Moral и соавт., сухость влагалища является наиболее распространенным и неприятным симптомом, им страдают до 93% женщин. Выраженность этого симптома может быть умеренной или тяжелой в 68% случаев [7].

Диагностика ВВА основывается на данных анамнеза, оценки жалоб пациентки, гинекологического обследования с определением клинических признаков, а также лабораторных методах. Анамнез должен включать вопросы об особенностях половой функции, наличии сниженного либидо и поверхностной диспареунии [14]. При осмотре эпителий влагалища истончен, бледный, гладкий за счет нарушения кровоснабжения может быть опущение стенок влагалища. Истонченный эпителий влагалища легко травмируется при проведении гинекологического исследования, могут быть субэпителиальные кровоизлияния [29].

Кроме этого, используются лабораторные тесты, такие как оценка pH влагалища, индекс вагинального созревания (VMI) и индекс вагинального здоровья (VHI). При снижении уровня эстрогенов среда влагалища становится щелочной ( $\text{pH} > 4,5$ ). На этом фоне снижается количество лактобацилл и увеличивается рост факультативных и облигатных анаэробных микроорганизмов. Индекс вагинального созревания показывает степень созревания эпителия влагалища по соотношению поверхностных, промежуточных и парабазальных клеток. При недостаточности эстрогенов количество поверхностных клеток резко снижается или полностью исчезает, сокращается количество клеток промежуточного слоя и возрастает парабазального и базального [29, 30].

Одним из наиболее часто используемых показателей при диагностике ВВА является индекс вагинального здоровья (VHI). Он позволяет оценить эластичность влагалища, характер и объем выделений, pH, наличие петехий на эпителии и увлажнение. При

атрофии влагалища VHI не превышает 15. Однако не всегда существует корреляция между клиническими признаками и лабораторными данными [29, 31].

Высокую эффективность показали опросники Vulvovaginal Symptoms Questionnaire [32, 33], the Day-to-Day Impact of Vaginal Aging Questionnaire [34], Vaginal and Vulvar Assessment Scale Questionnaire [35] для оценки симптомов ВВА и в целом ГУМС. Однако, несмотря на большую распространенность, ВВА недостаточно диагностируется и лечится в основном из-за склонности многих женщин воспринимать это как нормальный признак естественного старения [9, 16, 36–38].

Терапию ВВА и других проявлений ГУМС необходимо начинать до необратимых атрофических проявлений и продолжать длительно, поскольку симптомы могут возвращаться [39–41]. Основной целью лечения является облегчение симптомов. Для этого используются немедикаментозные и медикаментозные средства. В 2020 г. были опубликованы обновленные рекомендации Североамериканского общества по менопаузе [42]. При легких проявлениях на первом этапе лечения применяются лубриканты и увлажняющие средства. Они лишены побочных эффектов и могут использоваться длительно. Этот вариант лечения рекомендуется женщинам, для которых неприемлемо применение вагинальных эстрогенных препаратов [43, 44]. Вагинальные лубриканты особенно показаны женщинам, которых беспокоит сухость влагалища во время полового акта. Они могут быть на водорастворимой основе и при этом имеют тенденцию высыхать; более прочные на масляной основе, но с меньшим смазывающим эффектом или на основе силикона.

Вагинальные увлажнители представляют собой нерастворимые гидрофильные полимеры с характерной биоадгезивностью и способностью удерживать влагу, которая высвобождается локально, имитируя физиологические вагинальные выделения. Они также могут содержать большое количество вспомогательных веществ, влияющих на pH и осмолярность раствора [43]. Их можно использовать не только при половых контактах, но и регулярно, так как они имеют достаточно продолжительный эффект, повышая влажность слизистой оболочки влагалища и снижая pH. Частота использования прямо пропорциональна тяжести вагинальной атрофии. Рекомендуется местное использование вечером, перед сном в течение 7–10 дней, а затем 2 раза в неделю для поддержания эффекта.

Наиболее часто увлажняющие средства содержат гиалуроновую кислоту – гликозаминогликан, продуцируемый фибробластами, который является

основным компонентом внеклеточного матрикса, присутствующего в соединительной, нервной ткани и эпителии, включая влагалище. Гиалуроновая кислота является сильным антиоксидантом, повышает уровень влаги в клетках и уменьшает симптомы атрофии. При повреждении тканей гиалуроновая кислота может стимулировать миграцию и пролиферацию фибробластов, неоангиогенез, реэпителизацию ткани и отложение коллагеновых волокон. При регулярном, ежедневном или каждые 2–3 дня использовании средства на основе гиалуроновой кислоты снижается выраженность сухости влагалища, и этот эффект сравним с эффектом местной терапии эстрогенами [45, 46]. Гиалуроновая кислота с фитоэстрогенами входит в состав препарата «Эстрогиал», содержащего натриевую соль гиалуроновой кислоты, экстракты клевера, календулы и хмеля, и может применяться в качестве монотерапии у пациенток с явлениями вагинальной атрофии при нежелании или противопоказании к использованию эстрогенов [47, 48].

Негормональный препарат «Мульти-Гин Ликвид-Гель», представляющий собой гель на основе запатентованного комплекса 2QR, бетаина, глицерина и ксантановой камеди, применяется для устранения сухости влагалища и стимулирования естественного увлажнения, предотвращения зуда и развития патологических состояний влагалища, обладает способностью нейтрализовать болезнетворные микроорганизмы поддерживать увлажнение влагалища. Это натуральное, безопасное средство защищает естественную микрофлору и может быть использовано у больных с раком молочной железы [49, 50].

А.Г. Кедрова отмечает хорошее купирование симптомов ВВА при применении препарата «Фламена» у женщин после гинекологических операций или в процессе комбинированного лечения опухолей органов женской репродуктивной системы. «Фламена» представляет гель, содержащий активные компоненты: дигидрокверцетин, лецитин, глицин и сангвиритрин, хорошо диффундирует через стенки влагалища, увлажняя их и улучшая микроциркуляцию. Лечение проводится 14–21 день до снятия симптомов сухости, жжения, зуда, раздражения слизистых оболочек. Затем возможен переход на поддерживающую терапию 2–3 раза/нед [51]. G. Sarobianco и соавт. в своем исследовании показали эффективность применения *Lactobacillus acidophilus*, эстриола и коррекции тазового дна для устранения симптомов ВВА в постменопаузе [52].

Другими возможными компонентами вагинальных увлажнителей являются озониды, промежуточные продукты озона, которые действуют как биологический резервуар, сохраняющий терапевтическую

силу молекулы. На связи с биологическими тканями озониды быстро активируются, стимулируя местную микроциркуляцию, вызывая неоангиогенез, способствуя восстановлению тканей и ингибируя провоспалительные простагландины [53]. Известно, что фибробласты играют важную роль в реэпителизации, синтезе коллагеновых волокон, регенерации внеклеточного матрикса, ремоделировании ткани и высвобождении таких эндогенных факторов роста, как FGF, PDGF, TGF- $\beta$  и VEGF [54, 55]. Озон стимулирует образование коллагена и фибробластов в ране, а также факторов роста PDGF, TGF- $\beta$  и VEGF [56], способствует заживлению ран, активируя транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B и регулируя воспалительные реакции [57, 58]. Озон может влиять на экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 и фактор некроза опухоли- $\alpha$ , а также на адаптивные воспалительные реакции, включая активацию гена циклооксигеназы-2 посредством активации NF- $\kappa$ B [59, 60].

Негормональная терапия ВВА обеспечивает облегчение легких симптомов, в то время как терапия эстрогенами является наиболее эффективной в лечении умеренных и тяжелых симптомов вагинальной атрофии [61]. Местная гормональная терапия эстрогенами применяется в качестве второго этапа в случае неэффективности вагинальных лубрикантов и увлажняющих средств [62, 63].

Локальная терапия ВВА включает использование натуральных эстрогенов в виде таблеток, крема, свечей или колец [64]. Наиболее эффективным и безопасным при лечении симптомов ВВА является эстриол, так как он имеет наименьшее сродство к рецепторам эстрогенов, не превращается в эстрадиол, его системные эффекты крайне ограничены. Отсутствие системного эффекта эстриола объясняется временем связывания с рецептором, не превышающим 4 ч [39].

Применение эстриола интравагинально не имеет возрастных ограничений и может назначаться женщинам старше 60 лет. В начале лечения препараты назначают ежедневно в терапевтической дозе в течение 2–4 нед (терапия насыщения): эстриол (суппозитории вагинальные) 0,5 мг, эстриол (крем вагинальный) – 1 мг/г; по мере улучшения – 2 раза/нед длительно в течение года, далее продолжительность лечения определяется индивидуально (поддерживающая терапия) [65]. Обоснование этого режима введения заключается в том, что абсорбция эстрогенов наиболее высока в течение первых нескольких дней лечения, когда вагинальный эпителий атрофичен, имеет повышенную васкуляризацию. Как только эпителий созреет, поглощение местных эстрогенов снижается и, следовательно, меньшие дозы

эстрогена достаточны для предотвращения повторной атрофии [64].

Повторное интравагинальное введение эстриола приводит к небольшому кумулятивному эффекту. Однако дозы до 0,5 мг эстриола 2 раза/нед не связаны со значительным повышением уровня эстрогена в сыворотке после краткосрочного (1 нед) и длительного (12 мес) лечения [42, 65]. Использование при ВВА низких доз эстриола не нуждается в защите эндометрия прогестероном. Тем не менее системное действие эстрогенов ограничивается низкими дозами, но не устраняется полностью, особенно на ранних стадиях лечения [66]. Локальная терапия эстрогенами приводит к снижению pH влагалища, увеличению количества лактобацилл, созреванию влагалищного эпителия, снижению выраженности симптомов диспареунии и сухости [67–69].

Одним из вариантов лечения симптомов вагинальной атрофии является применение комбинированной вагинальной терапии: лиофилизированной культуры *Lactobacillus casei rhamnosus* (не менее  $2 \times 10^7$  КОЕ жизнеспособных лактобактерий), 0,2 мг эстриола и 2,0 мг прогестерона [70, 71], а также ультранизкой дозы эстриола (0,03 мг) и лиофилизированной культуры *Lactobacillus acidophilus* KS400 ( $100 \times 10^6$  КОЕ жизнеспособных лактобактерий) [72]. Пробиотические лактобактерии восстанавливают гомеостаз во влагалище, усиливая барьерную функцию эпителия, влияя на секрецию антимикробных пептидов и иммунитет слизистых оболочек, блокируя адгезию патогенов. Это позволяет не только поддерживать пролиферацию и созревание вагинального эпителия, но и восстанавливать лактобациллярную микрофлору [70–72].

Наличие вазомоторных симптомов является показанием для назначения менопаузальной гормональной терапии. Однако до 25% женщин, принимающих такую терапию, будут продолжать испытывать симптомы урогенитальной атрофии. Таким женщинам после уменьшения выраженности или прекращения вазомоторных нарушений рекомендуется принимать вагинально эстриол [62, 65].

Местное применение низких доз эстрогена может вызывать побочные эффекты, такие как ощущение жжения и отек слизистой оболочки влагалища, что может снизить приверженность к лечению [73]. Имеются также данные об отсутствии эффективности местной терапии эстрогенами у 23–42% пролеченных женщин [74].

Более 60% женщин в пери- и постменопаузе с раком молочной железы в анамнезе страдают симптомами ВВА. Однако даже местное применение эстрогенов представляет значительный риск, особенно

при эстроген-зависимом гистологическом варианте. Поэтому в случае наличия в анамнезе эстроген-чувствительных опухолей, таких как рак молочной железы, эндометрия, яичников, необходимо индивидуально соотносить риск и пользу совместно с онкологом [36, 75]. Клинические данные крупных обсервационных исследований, таких как Women's Health, Инициативное обсервационное исследование (WHI-OS) и когортные исследования здоровья медсестер, не обнаружили повышенного риска рака эндометрия у женщин, применявших вагинальные эстрогены [76].

Для лечения симптомов ВВА у женщин в менопаузе управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) в феврале 2013 г. был одобрен селективный модулятор рецепторов эстрогена – оспемифен, который действует как агонист эстрогена во влагалище и не оказывает клинически значимого эстрогенного эффекта на эндометрий или молочные железы. Тем не менее безопасность оспемифена не доказана у женщин с раком молочной железы в анамнезе или повышенным риском рака молочной железы, а также при повышенном риске тромбоза. Недостатками оспемифена по сравнению с вагинальными эстрогенами являются необходимость ежедневного применения и системные побочные эффекты (приливы, потенциальный риск тромбоза) [77].

Вагинальное применение дигидроэпиандростерона сульфат (ДГЭА) для лечения симптомов ГУМС обусловлено тем, что ДГЭА – гормон-предшественник, при интравагинальном введении превращается в эстроген и андрогены (тестостерон, андростендион и дигидротестостерон) [2]. Использование препарата ДГЭА по сравнению с плацебо является эффективным средством от сухости влагалища, жжения, зуда и диспареунии, повышает либидо [78]. Однако он еще не зарегистрирован в Великобритании и России, нет данных, подтверждающих его безопасность у пациенток с раком молочной железы в анамнезе [79].

Н.А. Torky и соавт. применили гель-окситоцин для лечения симптомов ВВА у женщин в постменопаузе. На фоне лечения окситоцином наблюдалось увеличение толщины эпителия влагалища, облегчение симптомов ВВА за счет способности окситоцина стимулировать процессы пролиферации, повышать интенсивность кровотока в слизистой оболочке, усиливать секрецию факторов роста [73].

Новой тенденцией, набирающей популярность в лечении ВВА, является использование фракционной лазерной и радиочастотной технологий. Наибольшее распространение получили фракционный микроабляционный CO<sub>2</sub>-лазер, неабляционный фототер-

мический эрбиевый лазер на иттрий-алюминиевом гранате (YAG) и энергетические устройства на основе радиочастот (RF). Лазерные или радиочастотные волны воздействуют, нагревая соединительную ткань стенки влагалища до 40–42 °С. Воздействие тепловой энергии на стенки влагалища и вульвы стимулирует такие биологические процессы, как пролиферация, неоваскуляризация, синтез коллагена и факторов роста, что восстанавливает эластичность и влажность слизистой оболочки влагалища и нивелирует симптомы атрофии [80–82].

Эффективность лазерной терапии в лечении ВБА была оценена по показателям VHI и индекса женской сексуальной функции (FSFI) во многих исследованиях и сопоставима с эффективностью при локальном применении эстрогенов [82–87]. Хотя авторы в целом отмечают, что процедура хорошо переносится, проходит быстро и безболезненно, сообщалось также об усилении болей во влагалище, рубцевании, фиброзе, нарушении мочеиспускания, диспареунии [88]. Для лечения вагинальной атрофии проводится три цикла с интервалом 30–40 дней, в последующем 1 раз/год в качестве поддерживающей терапии, однако безопасность и эффективность использования лазера при вагинальной атрофии полностью не доказана, не ясно, как долго продолжается эффект от проведенного лечения [36, 88].

Радиочастотная чрескожная терапия с регулируемой температурой (TCRF), а в последнее время – низкоэнергетическая динамическая квадриполярная радиочастота (DQRF) могут применяться для лечения симптомов ВБА, сексуальной дисфункции, а также при нарушении мочеиспускания [89–91]. Никаких побочных эффектов, включая ожоги или травмы, не зарегистрировано. Лечение хорошо переносится пациентками. Однако количество больных, как правило, малочисленное и эффективность метода должна быть оценена в более крупных исследованиях [90].

Еще одно направление лечения ВБА, которое находится на стадии изучения, – внутрислизистые (в стенку влагалища) инъекции плазмы, обогащенной тромбоцитами. Инъекции применяют 1 раз в 7–14 дней, курс лечения включает 2–6 процедур. Богатая тромбоцитами плазма (PRP) представляет собой повышенную концентрацию аутологических тромбоцитов, взвешенных в небольшом количестве плазмы после центрифугирования. Принцип PRP-терапии заключается в свойствах тромбоцитов выделять многочисленные факторы роста, которые содержатся в тромбоцитарных гранулах и высвобождаются из них в процессе активации тромбоцитов. Факторы роста стимулируют пролиферацию клеток, их дифференцировку и миграцию в место введения.

PRP-терапия оказывает ремоделирующий эффект, поддерживает регенерацию тканей в месте введения, активирует фибробласты, создающие коллаген и эластин, а также обладает антимикробным и противогрибковым действием. PRP-терапия является безопасным и физиологичным методом, так как применяются собственные компоненты крови пациентки, эффективна при лечении сухости слизистой влагалища, жжения, зуда, дискомфорта, боли при половом контакте, выделениях из половых путей, воспалении слизистой влагалища на фоне атрофии, а также для восстановления микрофлоры и в целом занимает лидирующую позицию в anti-age медицине [92]. Важным фактором облегчения симптомов ВБА может быть отказ от курения, так как курение связано с повышением метаболизма эстрогенов, приводящего к атрофии влагалища [75].

Таким образом, ВБА по-прежнему остается малоизученным, недостаточно диагностируемым заболеванием. Это влияет на качество жизни миллионов женщин в пери- и постменопаузе. За последнее десятилетие были разработаны разные подходы для коррекции нарушений урогенитального тракта, связанных с возрастным дефицитом эстрогенов, которые создают широкие возможности для лечения симптомов ГУМС. Тем не менее многие из предложенных медикаментозных и немедикаментозных методов до сих пор не имеют исчерпывающих данных об их эффективности и безопасности применения.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Юренина С.В., Ермакова Е.И., Глазунова А.В. Диагностика и терапия генитоуринарного менопаузального синдрома у пациенток в пери- и постменопаузе (краткие клинические рекомендации). *Акушерство и гинекология*. 2016;(5):138–144. DOI: 10.18565/aig.2016.5.138-144.
2. Brodman K.F. Genitourinary syndrome of menopause. in: mount sinai expert guides: obstetrics and gynecology (ed); R. Sperling. New York, NY, USA: John Wiley & Sons Ltd, 2020:210–217.
3. Sinha A., Ewies A.A.A. Non-hormonal topical treatment of vulvovaginal atrophy: an up-to-date overview. *Climacteric*. 2013;16:305–331. DOI: 10.3109/13697137.2012.756466.
4. Palma F., Volpe A., Villa P., Cagnacci A. Vaginal atrophy of women in postmenopause. Results from a multicentric observational study: The AGATA study. *Maturitas*. 2016;83:40–44. DOI: 10.1016/j.maturitas.2015.09.001.
5. Kingsber S.A., Krychman M., Graham S., Bernick B., Mirkin S. The Women's EMPOWER Survey: Identifying women's perceptions on vulvar and vaginal atrophy and its treatment. *J. Sex Med*. 2017;14:413–424. DOI: 10.1016/j.jsxm.2017.01.010.
6. Nappi R.E., Seracchioli R., Salvatore S., Cagnacci A., Di Paolantonio T., Busacca M. Impact of vulvovaginal atrophy of menopause: Prevalence and symptoms in Italian women according to the EVES study. *Gynecol. Endocrinol*. 2019;35:453–459. DOI: 10.1080/09513590.2018.1563883.

7. Moral E., Delgado J.L., Carmona F., Caballero B., Guillán C., González P.M. et al. Genitourinary syndrome of menopause. Prevalence and quality of life in Spanish postmenopausal women. The GENISSE study. *Climacteric*. 2018;21:167–173. DOI: 10.1080/13697137.2017.1421921.
8. Cagnacci A., Xholli A., Schlauzero M., Venier M., Palma F., Gambacciani M. Vaginal atrophy across the menopausal age: Results from the ANGEL study. *Climacteric*. 2019;22:85–89. DOI: 10.1080/13697137.2018.1529748.
9. Gandhi J., Chen A., Dagur G., Suh Y., Smith N., Cali B. et al. Genitourinary syndrome of menopause: an overview of clinical manifestations, pathophysiology, etiology, evaluation, and management. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016;215:704–711. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.07.045.
10. Alvisi S., Gava G., Orsili I., Giacomelli G., Baldassarre M., Seracchioli R. et al. Review: vaginal health in menopausal women. *Medicina*. 2019;55:615. DOI: 10.3390/medicina55100615.
11. Levine K., Williams R., Hartmann K. Vulvovaginal atrophy is strongly associated with female sexual dysfunction among sexually active postmenopausal women. *Menopause*. 2008;15:661–666. DOI: 10.1097/gme.0b013e31815a5168.
12. Da Silva A.S., Baines G., Araklitis G., Robinson D., Cardozo L. Modern management of genitourinary syndrome of menopause. *Fac. Rev.* 2021;10:25. DOI: 10.12703/r/10-25.
13. Santoro N., Komi J. Prevalence and impact of vaginal symptoms among postmenopausal women. *J. Sex Med.* 2009;6:2133–2142. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2009.01335.x.
14. Jannini E.A., Nappi R.E. Couplepause: a new paradigm in treating sexual dysfunction during menopause and andropause. *Sex Med. Rev.* 2018;6:384–395. DOI: 10.1016/j.sxmr.2017.11.002.
15. Miller E.A., Beasley D.E., Dunn R.R., Archie E.A. Lactobacilli dominance and vaginal pH: Why is the human vaginal microbiome unique? *Front. Microbiol.* 2016;7:1936. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01936.
16. Briggs P. Genitourinary syndrome of menopause. *Post. Reprod. Health.* 2020;26(2):111–114. DOI: 10.1177/2053369119884144.
17. Portman D.J., Gass M.L. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *Menopause*. 2014;21:1063–1068. DOI: 10.1097/GME.0000000000000329.
18. Nappi R.E., Palacios S., Panay N., Particco M., Krychman M.L. Vulvar and vaginal atrophy in four European countries: Evidence from the European REVIVE Survey. *Climacteric*. 2016;19(2):188–197. DOI: 10.3109/13697137.2015.1107039.
19. Kim H., Kang S.Y., Chung Y.J., Kim J.H., Kim M.R. The recent review of the genitourinary syndrome of menopause. *J. Menopausal. Med.* 2015;21:65–71. DOI: 10.6118/jmm.2015.21.2.65.
20. Briggs P. Genitourinary syndrome of menopause. *Post. Reproductive Health.* 2020;26(2):111–114. DOI: 10.1177/2053369119884144.
21. Gliniewicz K., Schneider G.M., Ridenhour B.J., Williams C.J., Song Y., Farage M.A. et al. Comparison of the vaginal microbiomes of premenopausal and postmenopausal women. *Front. Microbiol.* 2019;10:193. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00193.
22. Stika C.S. Atrophic vaginitis. *Dermatol. Ther.* 2010;23(5):514–522. DOI: 10.1111/j.1529-8019.2010.01354.x.
23. Савельева Г.М., Сухих Г.Т., Серов В.Н., Радзинский В.Е., Манухин И.Б. (ред.) Гинекология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017:1008.
24. Овсянникова Т.В., Макаров И.О., Боровкова Е.И., Куликов И.А. Местная терапия урогенитальных нарушений в пери- и постменопаузе. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2010;4(3):25–28.
25. Rees M., Perez-Lopez F.R., Ceasu I., Depypere H., Erel T., Lambrinoudaki I. et al. EMAS clinical guide: low-dose vaginal estrogens for postmenopausal atrophy. *Maturitas*. 2012;73(2):171–174. DOI: 10.1016/j.maturitas.2012.06.009.
26. Hummelen R., Macklaim J.M., Bisanz J.E., Hammond J.A., McMillan A., Vongsa R. et al. Vaginal microbiome and epithelial gene array in post-menopausal women with moderate to severe dryness. *PLoS One*. 2011;6:e26602. DOI: 10.1371/journal.pone.0026602.
27. Brotman R.M., Shardell M.D., Gajer P., Fadrosch D., Chang K., Silver M.I. et al. Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy. *Menopause*. 2014;21:450–458. DOI: 10.1097/GME.0b013e3182a4690b.
28. Shen J., Song N., Williams C.J., Brown C.J., Yan Z., Xu C., Forney L.J. Effects of low dose estrogen therapy on the vaginal microbiomes of women with atrophic vaginitis. *Sci. Rep.* 2016;6:24380. DOI: 10.1038/srep24380.
29. Аполихина И.А., Горбунова Е.А. Клинико-морфологические аспекты вульвовагинальной атрофии. *Медицинский совет*. 2014;(9):110–117.
30. Hess R., Austin R.M., Dillon S., Chang C.C., Ness R.B. Vaginal maturation index self-sample collection in mid-life women: Acceptability and correlation with physician-collected samples. *Menopause*. 2008;15:726–729. DOI: 10.1097/gme.0b013e31816c5541.
31. Bachmann G. Urogenital ageing: An old problem newly recognized. *Maturitas*. 1995;22:S1–S5. DOI: 10.1016/0378-5122(95)00956-6.
32. Fernandez-Alonso A.M., Cuerva M.J., Chedraui P., Pérez-López F.R. Screening and management of female sexual dysfunction during the second half of life. In: Pérez-López F.R. (ed.). *Postmenopausal diseases and disorders*. Switzerland: Springer International Publishing, 2019:165–185.
33. Erekson E.A., Yip S.O., Wedderburn T.S., Martin D.K., Li F.-Y., Choi J.N. et al. The vulvovaginal symptoms questionnaire: a questionnaire for measuring vulvovaginal symptoms in postmenopausal women. *Menopause*. 2013;20:973–979. DOI: 10.1097/GME.0b013e318282600b.
34. Huang A.J., Gregorich S.E., Kuppermann M., Nakagawa S., Van Den Eeden S.K., Brown J.C. et al. Daily impact of the vaginal aging questionnaire: a multivariate measure of the impact of vaginal symptoms on functioning and well-being in postmenopausal women. *Menopause*. 2015;22(2):144–154. DOI: 10.1097/GME.0000000000000281.
35. Eaton A.A., Baser R.E., Seidel B., Stabile C., Canty J.P., Goldfrank D.J. et al. Validation of clinical tools for vaginal

- and vulvar symptom assessment in cancer patients and survivors. *J. Sex Med.* 2017;14(1):144–151. DOI: 10.1016/j.jsxm.2016.11.317.
36. Alvisi S., Gava G., Orsili I., Giacomelli G., Baldassarre M., Seracchioli R. et al. Vaginal health in menopausal women. *Medicina*. 2019;55(10):615. DOI: 10.3390/medicina55100615.
  37. Angelou K., Grigoriadis T., Diakosavvas M., Zacharakis D., Athanasiou S. The genitourinary syndrome of menopause: an overview of the recent data. *Cureus*. 2020;12(4):e7586. DOI: 10.7759/cureus.7586.
  38. Mac Bride M.B., Rhodes D.J., Shuster L.T. Vulvovaginal atrophy. *Mayo Clin. Proc.* 2010;85:87–94. DOI: 10.4065/mcp.2009.0413.
  39. Прилепская В.Н. Генитоуринарный менопаузальный синдром: возможности эстриола. *Гинекология*. 2018;20(1):5–8. DOI: 10.26442/2079-5696\_20.1.5-8.
  40. Panay N., Palacios S., Bruyniks N., Particco M., Nappi R.E. Symptom severity and quality of life in the management of vulvovaginal atrophy in postmenopausal women. *Maturitas*. 2019;124:55–61. DOI: 10.1016/j.maturitas.2019.03.013.
  41. Nappi R.E., Biglia N., Cagnacci A., Di Carlo C., Luisi S., Paoletti A.M. Diagnosis and management of symptoms associated with vulvovaginal atrophy: expert opinion on behalf of the Italian VVA study group. *Gynecol. Endocrinol.* 2016;32:602–606. DOI: 10.1080/09513590.2016.1183627.
  42. The 2020 genitourinary syndrome of menopause position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2020;27(9):976–992. DOI: 10.1097/GME.0000000000001609.
  43. Edwards D., Panay N. Treating vulvovaginal atrophy/genitourinary syndrome of menopause: How important is vaginal lubricant and moisturizer composition? Review. *Climacteric*. 2016;19(2):151–161. DOI: 10.3109/13697137.2015.1124259.
  44. ACOG Practice Bulletin No. 141: management of menopausal symptoms. *Obstet. Gynecol.* 2014;123(1):202–216. DOI: 10.1097/01.AOG.0000441353.20693.78.
  45. Salwowska N.M., Bebenek K.A., Źądło D.A., Weisło-Dziadecka D.L. Physiochemical properties and application of hyaluronic acid: A systematic review. *J. Cosmet. Dermatol.* 2016;15(4):520–526. DOI: 10.1111/jocd.12237.
  46. Mitchell C.M., Guthrie K.A., Larson J., Diem S., LaCroix A.Z., Caan B. et al. Sexual frequency and pain in a randomized clinical trial of vaginal estradiol tablets, moisturizer, and placebo in postmenopausal women. *Menopause*. 2019;26(8):816–822. DOI: 10.1097/GME.0000000000001341.
  47. Шалина М.А., Лисянская М.В., Нестеров И.М. Современная терапия пациенток с вульвовагинальной атрофией в пери- и постменопаузе. (Опыт клинического применения). *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2022;22(5):100–103. DOI: 10.17116/rosakush202222051100.
  48. Татарова Н.А., Линде В.А., Гусев С.Н. Негормональная терапия генитоуринарного менопаузального синдрома. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2021;20(2):141–146. DOI: 10.20953/1726-1678-2021-2-141-146.
  49. Тихомирова Е.В., Балан В.Е., Титченко Ю.П., Фомина-Нилова О.С. Возможности негормональной терапии пациенток с вульвовагинальной атрофией. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2020;20(4):58–64. DOI: 10.17116/rosakush20202004158.
  50. Пестрикова Т.Ю., Юрасова Е.А., Швеева М.А., Ковалева Т.Д. Персонализированный подход к тактике ведения пациенток с атрофическим вульвовагинитом в постменопаузе. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2020;20(3):62–67. DOI: 10.17116/rosakush20202003162.
  51. Кедрова А.Г. Профилактика атрофии влагалища после лечения опухолей органов женской репродуктивной системы. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2019;15(4):73–78. DOI: 10.17650/1994-4098-2019-15-4-73-78.
  52. Capobianco G., Wenger J.M., Meloni G.B., Dessole M., Cherchi P.L., Dessole S. Triple therapy with Lactobacilli acidophili, estriol plus pelvic floor rehabilitation for symptoms of urogenital aging in postmenopausal women. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2014;289(3):601–608. DOI: 10.1007/s00404-013-3030-6.
  53. Di Mauro R., Cantarella G., Bernardini R., Di Rosa M., Barbagallo I., Distefano A. et al. The biochemical and pharmacological properties of ozone: the smell of protection in acute and chronic diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:634. DOI: 10.3390/ijms20030634.
  54. Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev.* 2003;83:835–870. DOI: 10.1152/physrev.2003.83.3.835.
  55. Vincent F. Mechanisms of cutaneous wound repair. In: Freedberg I.M., Eisen A.Z., Wolff K., Austen K.F., Goldsmith L.A., Katz S.I. (eds) *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. 6th ed. New York: McGraw Hill, 2003:236–246.
  56. Kim H.S., Noh S.U., Han Y.W., Kim K.M., Kang H., Kim H.O. et al. Therapeutic Effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J. Korean Med. Sci.* 2009;24(3):368–374. DOI: 10.3346/jkms.2009.24.3.368.
  57. Valacchi G., Fortino V., Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br. J. Dermatol.* 2005;153:1096–1100. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2005.06939.x.
  58. Janic B., Umstead T.M., Phelps D.S., Floros J. Modulatory effects of ozone on THP-1 cells in response to SP-A stimulation. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2005;288:L317–L325. DOI: 10.1152/ajplung.00125.2004.
  59. Fischer S.M. Is cyclooxygenase-2 important in skin carcinogenesis? *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 2002;21:183–191.
  60. Valacchi G., Pagnin E., Corbacho A.M., Olano E., Davis P.A., Packer L. et al. *In vivo* ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radic. Biol. Med.* 2004;36(5):673–681. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.12.005.
  61. Management of symptomatic vulvovaginal atrophy: 2013 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2013;20(9):888–902. DOI: 10.1097/GME.0b013e3182a122c2.
  62. The NAMS 2017 Hormone Therapy Position Statement Advisory Panel. The 2017 hormone therapy position statement of the North American menopause society. *Menopause*. 2017;24:728–753. DOI: 10.1097/GME.0000000000000921.
  63. Phillips N.A., Bachmann G.A. Genitourinary syndrome of menopause: common problem, effective treatments. *Cleve Clin. J. Med.* 2018;85:390–398. DOI: 10.3949/ccjm.85a.15081.

64. Santen R.J. Vaginal administration of estradiol: effects of dose, preparation and timing on plasma estradiol levels. *Climacteric*. 2015;18(2):121–126. DOI: 10.3109/13697137.2014.947254.
65. Клинические рекомендации. Менопауза и климактерическое состояние у женщин 2021. URL: <https://geropharm.ru/uploads/file/menopauza-i-klimaktericheskoe-sostoyanie-ughenschiny-kr-2021.pdf> [дата обращения: 29.03.2023].
66. Jokar A., Davari T., Asadi N., Ahmadi F., Foruhari S. Comparison of the Hyaluronic Acid Vaginal Cream and Conjugated Estrogen Used in Treatment of Vaginal Atrophy of Menopause Women: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Int. J. Community Based Nurs Midwifery*. 2016;4(1):6978.
67. Козлов П.В., Доброхотова Ю.Э., Ильина И.Ю. Современные подходы к медикаментозной коррекции генитоуринарного менопаузального синдрома. *Лечебное дело*. 2021;2:58–64. DOI: 10.24412/2071-5315-2021-12331.
68. Biehl C., Plotsker O., Mirkin S. A systematic review of efficacy and safety of vaginal estrogen products for the treatment of genitourinary syndrome of menopause. *Menopause*. 2019;26(4):431–453. DOI: 10.1097/GME.0000000000001221.
69. Phillips N.A., Bachmann G.A. Genitourinary syndrome of menopause: Common problem, effective treatments. *Cleve Clin. J. Med*. 2018;85(5):390–398. DOI: 10.3949/ccjm.85a.15081.
70. Обоскалова Т.А., Лаврентьева И.В., Прохорова О.В., Воронцова А.В. Коррекция симптомов вагинальной атрофии при терапии агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона. *Доктор.ру*. 2016;3(120):30–33.
71. Клинышкова Т.В., Самосудова И.Б., Миронова О.Н. Оценка цервикального скрининга при лечении вульвовагинальной атрофии в пери- и постменопаузе. *Гинекология*. 2016;18(6):32–35.
72. Muecka A.O., Ruana X., Prasauskasc V., Grobe P., Ortmann O. Treatment of vaginal atrophy with estriol and lactobacilli combination: a clinical review. *Climacteric*. 2018;21(2):140–147. DOI: 10.1080/13697137.2017.1421923.
73. Torky H.A., Taha A., Marie H., El-Desouky E., Raslan O., Moussa A.A. et al. Role of topical oxytocin in improving vaginal atrophy in postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *Climacteric*. 2018;21(2):174–178. DOI: 10.1080/13697137.2017.1421924.
74. Kingsberg S.A., Wysocki S., Magnus L., Krychman M.L. Vulvar and vaginal atrophy in postmenopausal women: findings from the REVIVE (REal Women's Views of Treatment Options for Menopausal Vaginal ChangEs) survey. *J. Sex Med*. 2013;10(7):1790–1799. DOI: 10.1111/jsm.12190.
75. Palacios S., Mejía A., Neyro J.L. Treatment of the genitourinary syndrome of menopause. *Climacteric*. 2015;18:23–29. DOI: 10.3109/13697137.2015.1079100.
76. Crandall C.J., Hovey K.M., Andrews C.A., Chlebowski R.T., Stefanick M.L., Lane D.S. et al. Breast cancer, endometrial cancer, and cardiovascular events in participants who used vaginal estrogen in the Women's Health Initiative Observational Study. *Menopause*. 2018;25(1):11–20. DOI: 10.1097/GME.0000000000000956.
77. Bachmann G., Santen R.J. Treatment of genitourinary syndrome of menopause (vulvovaginal atrophy). URL: <https://uptodatefree.ir/topic.htm?path=treatment-of-genitourinary-syndrome-of-menopause-vulvovaginal-atrophy> [дата обращения: 29.03.2023].
78. Labrie F., Archer D.F., Koltun W., Vachon A., Young D., Frenette L. et al. Efficacy of intravaginal dehydroepiandrosterone (DHEA) on moderate to severe dyspareunia and vaginal dryness, symptoms of vulvovaginal atrophy, and of the genitourinary syndrome of menopause. *Menopause*. 2018;25(11):1339–1353. DOI: 10.1097/GME.0000000000001238.
79. Тихомирова Е.В., Балан В.Е., Фомина-Нилова О.С. Методы лечения генитоуринарного синдрома на современном этапе. *Медицинский совет*. 2020;(13):91–96. DOI: 10.21518/2079-701X-2020-13-91-96.
80. Аполихина И.А., Рамазанова М.О. Первый российский опыт применения ND:YAG-лазера (неодимового лазера) для лечения симптомов генитоуринарного менопаузального синдрома. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. 2021;10(1):6–10. DOI: 10.33029/2303-9698-2022-10-1-6-10.
81. Wańczyk-Baszk J., Woźniak S., Milejski B., Paszkowski T. Genitourinary syndrome of menopause treatment using lasers and temperature-controlled radiofrequency. *Menopause Rev*. 2018;17(4):180–184. DOI: 10.5114/pm.2018.81743.
82. Salvatore S., Athanasiou S., Candiani M. The use of pulsed CO<sub>2</sub> lasers for the treatment of vulvovaginal atrophy. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol*. 2015;27:504–508. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000230.
83. Gambacciani M., Levancini M., Russo E., Vacca L., Simoncini T., Cervigni M. Long-term effects of vaginal erbium laser in the treatment of genitourinary syndrome of menopause. *Climacteric*. 2018;21:148–152. DOI: 10.1080/13697137.2018.1436538.
84. Athanasiou S., Pitsouni E., Falagas M.E., Salvatore S., Grigoriadis T. CO<sub>2</sub>-laser for the genitourinary syndrome of menopause. How many laser sessions? *Maturitas*. 2017;104:24–28. DOI: 10.1016/j.maturitas.2017.07.007.
85. Pitsouni E., Grigoriadis T., Falagas M.E., Salvatore S., Athanasiou S. Laser therapy for the genitourinary syndrome of menopause. A systematic review and meta-analysis. *Maturitas*. 2017;103:78–88. DOI: 10.1016/j.maturitas.2017.06.029.
86. Arroyo C. Fractional CO<sub>2</sub> laser treatment for vulvovaginal atrophy symptoms and vaginal rejuvenation in perimenopausal women. *Int. J. Womens Health*. 2017;9:591–595. DOI: 10.2147/IJWH.S136857.
87. Eder S.E. Early effect of fractional CO<sub>2</sub> laser treatment in Post-menopausal women with vaginal atrophy. *Laser Ther*. 2018;27(1):41–47. DOI: 10.5978/islsm.18-OR-04.
88. Gordon C., Gonzales S., Krychman M.L. Rethinking the techno vagina: A case series of patient complications following vaginal laser treatment for atrophy. *Menopause*. 2019;26(4):423–427. DOI: 10.1097/GME.0000000000001293.
89. Caruth J.C. Evaluation of the safety and efficacy of a novel radiofrequency device for vaginal treatment. *Surg. Technol. Int*. 2018;32:145–149.
90. Vicariotto F., Raichi M. Technological evolution in the radiofrequency treatment of vaginal laxity and menopausal vulvo-vaginal atrophy and other genitourinary symptoms. First experiences with a novel dynamic quadripolar device. *Minerva Ginecol*. 2016;68:225–236.

91. Alinsod R.M. Temperature controlled radiofrequency for vulvovaginal laxity. *Prime*. 2015;3(4):16–21.
92. Аполихина И.А., Уруймагова А.Т., Тетерина Т.А. Со-

временные возможности и перспективы развития эстетической гинекологии. *Медицинский оппонент*. 2019;3(7):63–69.

### Информация об авторах

**Зайнетдинова Лариса Фоатовна** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии, ЮУГМУ, г. Челябинск, sea-gull6@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5256-843X>

**Телешева Лариса Федоровна** – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, ЮУГМУ, г. Челябинск, teleshevalarisa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7884-9675>

**Медведев Борис Иванович** – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии, ЮУГМУ, г. Челябинск, borismedvedev423@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0000-5633-6951>

**Хахулина Виктория Владимировна** – преподаватель, кафедра акушерства и гинекологии, ЮУГМУ, г. Челябинск, viktoriahahulina95@mail.ru.

(✉) **Зайнетдинова Лариса Фоатовна**, sea-gull6@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.05.2023;  
одобрена после рецензирования 01.06.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

УДК 616.12-008.46-036.12-044.22  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-144-155>



## Проект новой классификации хронической сердечной недостаточности Российского кардиологического общества: есть ли очевидные преимущества перед действующими?

Калюжин В.В.<sup>1</sup>, Тепляков А.Т.<sup>2</sup>, Беспалова И.Д.<sup>1</sup>, Калюжина Е.В.<sup>1</sup>, Черногорюк Г.Э.<sup>1</sup>, Терентьева Н.Н.<sup>3</sup>, Гракова Е.В.<sup>2</sup>, Копьева К.В.<sup>2</sup>, Гарганеева Н.П.<sup>1</sup>, Лившиц И.К.<sup>1</sup>, Останко В.Л.<sup>1</sup>, Шаловой А.А.<sup>1</sup>, Пушникова Е.Ю.<sup>2</sup>, Аптекарь В.Д.<sup>2</sup>

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

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

<sup>3</sup> Сургутский государственный университет (СурГУ)  
Россия, 628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1

### РЕЗЮМЕ

В интересах практического здравоохранения менять привычные классификации нужно как можно реже, хотя и отказываться от перемен следует только при достаточных основаниях, например, когда отсутствуют очевидные преимущества новой классификации перед действующими или полностью исчерпаны возможности их модификации путем внесения принципиальных изменений и дополнений. В этом плане показательна эволюция подходов к классификации хронической сердечной недостаточности (ХСН), приобретающая особую актуальность в связи с тем, что в настоящее время экспертами Российского кардиологического общества (РКО) активно обсуждается проект новой классификации ХСН. Авторы лекции сделали краткий исторический экскурс и рассмотрели основные классификации ХСН, применяющиеся в Северной Америке, Европе и России.

Предлагаемая экспертами РКО новая классификация ХСН, представляющая собой фактически видоизмененную классификацию североамериканских коллег, не имеет очевидных преимуществ перед действующей в России с 2002 г. классификацией сердечной недостаточности, основанной на привычной для отечественных интернистов классификации Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко, которая вошла в плоть и кровь российских медиков и выдержала проверку временем. К тому же принципы, заложенные в её основу, обеспечивают потенциал для ее гибкой модификации, возможности которой не являются полностью исчерпанными.

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, классификация, стадия, функциональный класс, фракция выброса

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

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

**Для цитирования:** Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Черногорюк Г.Э., Терентьева Н.Н., Гракова Е.В., Копьева К.В., Гарганеева Н.П., Лившиц И.К., Останко В.Л., Шаловой А.А., Пушникова Е.Ю., Аптекарь В.Д. Проект новой классификации хронической сердечной недостаточности

Российского кардиологического общества: есть ли очевидные преимущества перед действующими? *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):144–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-144-155>.

## New draft classification of chronic heart failure of the Russian Society of Cardiology: are there any obvious advantages over the current ones?

Kalyuzhin V.V.<sup>1</sup>, Teplyakov A.T.<sup>2</sup>, Beshpalova I.D.<sup>1</sup>, Kalyuzhina E.V.<sup>1</sup>, Chernogoryuk G.E.<sup>1</sup>, Terentyeva N.N.<sup>3</sup>, Grakova E.V.<sup>2</sup>, Kopeva K.V.<sup>2</sup>, Garganeeva N.P.<sup>1</sup>, Livshits I.K.<sup>1</sup>, Ostanko V.L.<sup>1</sup>, Shalovay A.A.<sup>1</sup>, Pushnikova E.Yu.<sup>2</sup>, Aptekar V.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMCC) of the Russian Academy of Sciences

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

<sup>3</sup> Surgut State University

1, Lenina Av., Surgut, 628412, Russian Federation

### ABSTRACT

In the interests of practical healthcare, routine classifications should be modified as rarely as possible. At the same time changes should be discarded only on sufficient grounds, for example, when there are no obvious advantages of a new classification over the existing ones or they can no longer be modified by introducing fundamental changes and amendments. In this regard, the evolution of approaches to the classification of chronic heart failure (CHF) is prominent. It becomes particularly relevant due to the fact that currently experts of the Russian Society of Cardiology (RSC) are actively discussing a new draft classification of CHF. The authors of the lecture gave a brief historical insight and reviewed the main classifications of CHF used in North America, Europe, and Russia. The new classification of CHF proposed by RSC experts, which is actually a modified classification of North American colleagues, does not have obvious advantages over the currently used CHF classification in Russia (since 2002). The latter is based on the classification by Vasilenko – Strazhesko which is familiar to domestic internists, since it has become an indispensable part of their clinical practice and has stood the test of time. In addition, its underlying principles provide the potential for its flexible modification.

**Keywords:** chronic heart failure, classification, stage, functional class, ejection fraction

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

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

**For citation:** Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Beshpalova I.D., Kalyuzhina E.V., Chernogoryuk G.E., Terentyeva N.N., Grakova E.V., Kopeva K.V., Garganeeva N.P., Livshits I.K., Ostanko V.L., Shalovay A.A., Pushnikova E.Yu., Aptekar V.D. New draft classification of chronic heart failure of the Russian Society of Cardiology: are there any obvious advantages over the current ones? *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):133–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-144-155>.

## ВВЕДЕНИЕ

В Философском энциклопедическом словаре, выпущенном 150-тысячным тиражом издательством «Советская энциклопедия» в 1983 г., приводится следующее развернутое определение термина «классификация» (от лат. *classis* – разряд, класс и *facio* – делать, раскладывать): «...система соподчиненных понятий (классов объектов) какой-либо области

знания или деятельности человека, часто представляемая в виде различных по форме схем (таблиц) и используемая как средство для установления связей между этими понятиями или классами объектов, а также для ориентировки в многообразии понятий или соответствующих объектов» [1]. При этом авторы выделяют искусственные и естественные классификации. В последних в качестве основания берутся наиболее существенные признаки, из которых

вытекает максимум производных, так что классификация служит источником знания о классифицируемых объектах. Искусственные классификации лишены этих свойств, так как в них за основу берутся один или несколько несущественных, зато легко различимых признаков. В качестве примера можно привести примитивный дискриптивный подход к классификации, основанный на дихотомическом делении: болен – здоров; беременная – небеременная, сердечная недостаточность +/-.

Понятно, что в такой неточной науке, как медицина, построить полностью естественную классификацию, подобную периодической системе химических элементов Д.И. Менделеева, практически невозможно. Но многие ученые-медики во все времена стремились к созданию таковых, если и не совершенно естественных, то по меньшей мере располагающихся на шкале «естественность – искусственность» максимально близко к ним.

Классификация, построенная с соблюдением всех логических требований и являющаяся удобным инструментом клинической практики, может пережить не одну смену парадигм. Вместе с тем в большинстве классификаций отчетливо проявляется диалектический характер развития научного знания. Ситуация складывается таким образом, что на каждом этапе развития научной мысли создатели той или иной классификации подводят своеобразный итог предшествующего накопления знаний, знаменуя начало нового периода эволюционирования, результатом которого практически неизбежно становится пересмотр доминирующей парадигмы, что может стать стимулом разработки более совершенной классификации [2].

По полностью разделяемому нами мнению Б.И. Шулуто [3], в интересах практического здравоохранения менять привычные стереотипы (в частности, классификации) нужно как можно реже. Хотя и отказываться от перемен следует только при достаточных основаниях, например, когда отсутствуют очевидные преимущества новой классификации перед действующими или неполностью исчерпаны возможности их модификации путем внесения принципиальных изменений и дополнений. В этом плане показательна эволюция подходов к классификации хронической сердечной недостаточности (ХСН), приобретающая особую актуальность в связи с тем, что в настоящее время экспертами Российского кардиологического общества (РКО) активно обсуждается проект новой классификации ХСН, имеющей, по мнению ее авторов, преимущества перед действующими [4, 5].

Целью настоящей лекции является обсуждение проекта новой классификации ХСН РКО.

## ИСТОРИЯ ВОПРОСА

Перед тем как приступить к обсуждению целевого вопроса лекции, позволим себе краткий исторический экскурс. Попытки осмысленного классифицирования ХСН уходят в далекое прошлое. Еще Jean-Nicolas Corvisart-Desmarets, прижизненно определяя размеры сердца с помощью перкуссии, виртуозом которой он был, и сопоставляя эти данные с результатами аутопсии, выделял два типа кардиомегалии (использовал термин «аневризма»): активный (с увеличением толщины стенок камеры сердца и повышением ее сократимости) и пассивный (с истончением стенок камеры сердца и снижением ее сократимости) [6]. Заложив основы концепции ремоделирования сердца, пионер современной кардиологии представил осторожные рассуждения о лево- и правожелудочковой (в том числе вторичной по отношению к левожелудочковой) сердечной недостаточности. Он прозорливо описал в виде трехчленной формулы наиболее частый сценарий трансформации размера, формы и функции сердца после его повреждающей перегрузки: перегрузка левого желудочка (ЛЖ) давлением – формирование «активной аневризмы» ЛЖ – развитие «пассивной аневризмы» левого предсердия и правого желудочка. А также дал превосходную характеристику трех стадий (периодов) аневризмы сердца – того, что сейчас назвали бы ХСН<sup>1</sup>.

На первой стадии, которую грамотный врач может подозревать из-за наличия у больного предрасположенности к ее развитию, пациент жалуется на слабость, одышку и сердцебиение при физической нагрузке, без каких-либо находок при физическом исследовании, за исключением кардиомегалии. На второй стадии выраженность симптомов нарастает: пациент мгновенно устает и ему часто хочется отдохнуть, сердцебиения становятся сильнее и учащенные, а дыхание – чрезвычайно затрудненным при минимальной физической нагрузке: «...пациент не может подняться сразу по трем или четырем ступенькам без того, чтобы ему не пришлось остановиться из-за нехватки воздуха». Больной начинает задыхаться даже в покое, когда он не в силах свободно дышать в горизонтальном положении и для облегчения дыхания вынужденно принимает сидячее положение, появляется отеки стоп и лодыжек в вертикальном положении, которая обычно исчезает в течение ночи. На третьей стадии выраженность симптомов и признаков ХСН достигает максимума, при котором

<sup>1</sup> Corvisart J.N. An essay on the organic diseases and lesions of the heart and great vessels. Translated by J. Gates. Boston: Bradford and Read, 1812:344.

жизнь пациента ежеминутно подвергается самой непосредственной опасности: «Смерть всегда вмешивается, чтобы прекратить болезненную сцену, которую представляет собой это сочетание симптомов». Выраженность одышки достигает степени удушья, прогрессирует отечный синдром (вплоть до анасарки), в больших полостях скапливается жидкость, уменьшается диурез, выявляется значительное расширение вен на шее и болезненное увеличение печени, край которой становится плотным. Таким образом Jean-Nicolas Corvisart-Desmarests, пусть и широкими мазками, но достаточно точно обрисовал континуум сердечной недостаточности (фактически от факторов риска до ее терминальной стадии) – парадигму, которая используется во всех без исключения современных классификациях ХСН, основанных на выделении стадий патологического процесса.

Не будем утомлять читателя слишком длинным экскурсом в далекое прошлое, перейдем к действующим в настоящее время классификациям ХСН. Наиболее проверенной временем является классификация Нью-Йоркской ассоциации сердца (New York Heart Association, NYHA<sup>1</sup>). Убедительно обоснованная более 100 лет назад P.D. White и M.M. Myers<sup>2</sup> необходимость дополнить диагностическое заключение у пациента с кардиоваскулярной патологией интранзологической характеристикой его функционального статуса в настоящее время воспринимается как аксиома, а базирующаяся на этом принципе классификация ХСН NYHA получила международное признание. Она применяется повсеместно и рассматривается в качестве краеугольного камня при определении стратегии лечения во всех современных руководствах и рекомендациях, посвященных сердечной недостаточности [7–9]. Обсуждаемая классификация позволяет оценивать уровень снижения физической активности и степень клинических проявлений ХСН. Однако ее нельзя применять для оценки тяжести заболевания сердца, являющегося причиной функциональных нарушений, так как выраженность симптомов (особенно в случае эффективной терапии) необязательно отражает степень вызывающей их дисфункции миокарда или соответствует ей, что снижает прогностическую силу результата классификации [7, 10–14].

Другим многократно отмеченным ограничением классификации ХСН NYHA является ее низкая воспроизводимость [8, 15], поскольку при оценке функционального статуса у пациента с ХСН следует

учитывать отчетливый субъективизм как врача, так и больного в определении того, какое ограничение физической активности является небольшим или, наоборот, значительным, а также того, какая нагрузка является привычной для больного [16]. Данный субъективизм закономерно приводит к низкой воспроизводимости результатов оценки функционального класса (ФК) ХСН у одного и того же пациента разными врачами [15, 16–18]. Для объективизации оценки ФК наиболее часто предлагают оценивать в функциональной пробе толерантность к физической нагрузке (дистанция пути, пройденного за 6 мин, пороговая нагрузка и др.) и максимальный объем потребляемого кислорода [9, 19]. Однако и такой подход не всегда обеспечивает радикальное повышение точности классификации [20–22].

Надежды по меньшей мере отчасти решить проблемы с обозначенными выше недостатками функциональной классификации ХСН NYHA связывали с подходом, основанном на дополнительном выделении стадии патологического процесса, с помощью которого можно более надежно и объективно классифицировать пациентов с ХСН в ходе развития болезни сердца и сосудов, а также назначить лечение в строгом соответствии с этапом развития патологического состояния. В конце 2001 г. на страницах медицинских журналов *Circulation* и *Journal of the American College of Cardiology* рабочей группой Американской коллегии кардиологов (АКК) и Американской ассоциации сердца (ААС) были опубликованы очередные рекомендации по оценке и лечению ХСН у взрослых. Здесь впервые в развитии ХСН выделяли четыре стадии – от ситуации угрозы с наличием факторов риска (стадия А) до терминальной стадии (стадия D) [23]. Такое же деление сохранилось и в последующих рекомендациях, включая таковые 2022 г. [8]. Эта классификация дополняет, но не заменяет функциональную классификацию NYHA, отражающую выраженность симптомов ХСН у пациентов, которых можно отнести к стадии С или D [8].

Что касается первой половины классификации АКК и ААС, то на стадии А (позволяет описать пациента, который подвержен высокому риску развития сердечной недостаточности, но не имеет структурных или функциональных нарушений со стороны перикарда, миокарда или сердечных клапанов) и В (диагностическое заключение применимое для пациента со структурными нарушениями сердца,

<sup>1</sup> New York Heart Association. Diseases of the heart and blood vessels: nomenclature and criteria for diagnosis, by the Criteria Committee of the New York Heart Association / Charles E. Kossmann chairman [and others]. Boston: Little, Brown, 1964:463.

<sup>2</sup> White P.D., Myers M.M. The classification of cardiac diagnosis. *JAMA*. 1921;77:1414–1415. DOI: 10.1001/jama.1921.026304440034013.

у которого никогда не было симптомов или признаков сердечной недостаточности) ХСН как таковой нет, так как последнюю определяют как сложный клинический синдром с соответствующими симптомами и признаками [8]. Таким образом, половина обсуждаемой классификации сердечной недостаточности фактически применима лишь в клинической ситуации без сердечной недостаточности!

Возникает резонный вопрос: насколько бессимптомной в действительности является ХСН у пациента с так называемыми структурными заболеваниями сердца, которую нам предлагают обозначить в диагностическом заключении как «стадия В»? Например, на приеме у врача на первый взгляд «бессимптомный» пациент, длительно страдающий артериальной гипертензией, у которого при рутинном эхокардиографическом исследовании выявили концентрическую гипертрофию миокарда и тип диастолической дисфункции ЛЖ с нарушением релаксации, а также высокий уровень натрийуретических пептидов в сыворотке крови. Неужели кто-то в самом деле думает, что при целенаправленном опросе такого пациента велика вероятность того, что он будет отрицать наличие одышки, утомляемости и сердцебиения при интенсивной и продолжительной физической нагрузке? Очевидно, у подавляющего большинства пациентов с так называемой pre-heart failure (буквальный перевод «предсердечная недостаточность» звучит, прямо скажем, не по-русски) ответ будет положительным. Подобные жалобы у этого пациента с изолированной кардиоваскулярной патологией мы однозначно будем интерпретировать как проявление скрытой сердечной недостаточности, а не как, например, детренированности.

Американские эксперты в руководстве 2013 г. [24] у пациентов со стадией В ХСН, которые принципиально отличаются от больных со стадией С тем, что у них никогда не было симптомов или признаков сердечной недостаточности, все же допускали наличие таких симптомов (пусть и при физической активности, превышающей обычную), соответствующих I ФК (табл. 1). Выбор в качестве основания классификации признаков, которые допускают двойственное толкование, не может не вызывать когнитивный диссонанс, так как члены классификации должны взаимно исключать друг друга. Это все равно что вначале вам пытались доказать, что крокодилы не летают, а потом говорят – летают, только низко. С учетом того, что ведущие кардиологи страны неоднократно высказывали аргументированные возражения также относительно введения в отечественную классификацию ХСН стадии А [25, 26], неудивительно, что в России данный подход не был принят.

Таблица 1

| Сопоставление стадий и функциональных классов ХСН [24] |  |
|--|--|
| Стадия ХСН   | Функциональный класс по классификации NYHA |
| A  | Нет сердечной недостаточности              |
| B  | I  |
| C  | I  |
|  | II   |
|  | III  |
| D  | IV   |

В нашей стране к классификации ХСН, в которой учитывается деление по стадиям и ФК, шли иначе. С неоднократно модернизируемой классификацией стадий ХСН Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко (утверждена на XII Всесоюзном съезде терапевтов в 1935 г.) хорошо знакомы несколько поколений врачей, успешно применявших ее в своей повседневной практической деятельности при заболеваниях сердечно-сосудистой системы с первичным поражением левых отделов сердца. Определиться с I и II стадиями нелеченой ХСН достаточно просто прямо у постели больного: I стадия – скрытая сердечная недостаточность, проявляющаяся только при физической нагрузке; IIА – клинически выраженная моноventрикулярная (левожелудочковая); IIБ – тяжелая бивентрикулярная (правожелудочковая, вторичная по отношению к левожелудочковой) [15]. При фенотипе леченной ХСН, когда в ситуации компенсированной сердечной недостаточности утрачивается информативность так называемых гемодинамических сдвигов (симптомы и признаки застоя в малом и большом круге кровообращения при полной компенсации могут отсутствовать!), точно объективизировать ее I или II стадию можно по результатам эхокардиографической оценки ремоделирования (наличие и выраженность сферификации и истончения стенок) и функции ЛЖ (в первую очередь диастолической). При этом следует диагностировать бессимптомную дисфункцию ЛЖ, адаптивное ремоделирование ЛЖ или дезадаптивное ремоделирование ЛЖ, которым соответствуют I, IIА или IIБ стадии ХСН. О модификации классификации, выполненной в 2002 г. экспертами Общества специалистов по сердечной недостаточности (ОССН), речь пойдет ниже [27]. При этом принципиальным отличием ХСН III стадии от ХСН II Б стадии является наличие необратимых структурных изменений органов-мишеней (сердца, легких, сосудов, головного мозга, почек) [27].

Согласитесь, что более подробная классификация стадий ХСН Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко имеет существенные преимущества перед

тривиальным подходом, предложенным американскими коллегами, которые подобно сведению всей палитры ахроматических оттенков к белому и черному предлагают выделять только две стадии С и D клинически выраженной ХСН. Консервативно-курабельная стадия симптомной сердечной недостаточности С – выраженность клинических проявлений в пределах этой стадии может отличаться как кочка от Казбека, начиная от скрытой левожелудочковой сердечной недостаточности, соответствующей I ФК в далеком прошлом, заканчивая тяжелой актуальной бивентрикулярной сердечной недостаточностью с анасаркой. Стадия D – ее обозначают по-разному: «терминальная», «рефрактерная» или «прогрессирующая» сердечная недостаточность, при которой оптимальная фармакотерапия, а также сердечная ресинхронизирующая терапия не являются эффективными, что становится причиной повторных госпитализаций и обосновывает необходимость применения таких передовых методов лечения, как трансплантация сердца и механическая поддержка кровообращения, и (или) переход к паллиативной помощи [8]. Попытка описать весь континуум событий клинически выраженной сердечной недостаточности с помощью двух стадий, конечно, лучше, чем примитивное дихотомическое деление +/- (сердечная недостаточность: есть/нет). Но такой подход определенно представляет собой шаг назад от представлений, существующих в начале прошлого века, и даже во времена Jean-Nicolas Corvisart-Desmarests.

Классификация Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко не лишена недостатков, за которые ее нередко критикуют специалисты по сердечной недостаточности. Наиболее часто поводом для критики классификации становится ее так называемая жесткость, заключающаяся в том, что в качестве градаций авторы используют стадийный подход, исключающий переход от более высоких градаций к более низким [16, 28]. Действительно, обсуждаемая классификация утверждалась в далеком 1935 г., когда возможности эффективной фармакологической или хирургической коррекции тяжелой ХСН были более чем скромными. Врач фактически наблюдал «естественное» прогрессирующее течение сердечной недостаточности, и поэтому классификация не предусматривала пересмотра установленной стадии в *обратном* направлении [15]. Но и в наше время, когда никем не ставится под сомнение, что внедрение в клиническую практику достижений клинической фармакологии и кардиохирургии нередко обеспечивает положительную динамику параметров, характеризующих процесс ремоделирования сердца, эксперты допускают лишь так называемое *step-up* рестадирование («стадия ХСН

может ухудшаться, несмотря на лечение») [29]. С учетом сказанного, следует обсуждать возможность отмены положения, исключающего переход от более высоких градаций к более низким [15, 16].

Принципы, заложенные в основу классификации ХСН Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко, обеспечивают потенциал для ее гибкой модификации, возможности которой, по нашему мнению, не являются полностью исчерпанными. Так было в 2002 г., когда эксперты ОССН предложили для обсуждения комбинированную классификацию, в которой учитывалось деление по стадиям и ФК. В официальном комментарии ОССН к обсуждаемой классификации обращается внимание на преемственность данной редакции с классификациями Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко, принятой в России, и NYHA, которой пользуется весь мир [29]. При этом классификация «потеряла» все дополнения к классическому варианту классификации 1935 г., которые были сделаны за ее долгую историю. Но в нее были введены новые понятия – «бессимптомная дисфункция ЛЖ», «адаптивное ремоделирование сердца и сосудов», «деадаптивное ремоделирование сердца и сосудов», «финальная стадия ремоделирования органов». Предложенная трансформация классификации обеспечила точность определения стадии патологического процесса даже в ситуации эффективной коррекции декомпенсации сердечной деятельности, благодаря опоре на результаты эхокардиографического исследования. С другой стороны появилась возможность объективизировать изменение функционального статуса пациента в ходе лечения или «естественного» течения заболевания за счет отражения в диагностическом заключении ФК.

С учетом того, что своевременное и верное распознавание сердечной недостаточности как, впрочем, и диагностика пресловутой «предсердечной недостаточности» (не с помощью же перкуссии выявлять концентрическую гипертрофию ЛЖ или дилатацию левого предсердия!), не мыслится без ультразвуковой оценки структуры и функции сердца, следует пресекать любые разговоры о недоступности эхокардиографии или сложности в оценке адаптивного и дезадаптивного ремоделирования. Обеспечение повсеместной доступности такого исследования – прямая обязанность руководства региональных и федеральных органов управления системы здравоохранения.

Эхокардиографическое исследование у пациентов с сердечной недостаточностью необходимо и потому, что в соответствии со всеми последними рекомендациями авторитетных международных и национальных кардиологических организаций

[7, 8] ХСН следует классифицировать и в зависимости от значения фракции выброса (ФВ) ЛЖ. Напомним, что в Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем 11-го пересмотра (<https://icd.who.int>), для шифровки левожелудочковой сердечной недостаточности с сохраненной, умеренно сниженной и сниженной ФВ ЛЖ используются разные коды: BD11.0, BD11.1 и BD11.2 соответственно.

Мы не ставим под сомнение эвристичность обсуждения остающегося открытым важного вопроса о границе «нормальной» и «сниженной» ФВ ЛЖ (по-видимому, без учета полового диморфизма обойтись не удастся) [30–32]. До достижения консенсуса по этому вопросу частичным решением проблемной ситуации является указание в диагностическом заключении, наряду с фенотипом ХСН, конкретного значения ФВ ЛЖ. В то же время можно сколько угодно обсуждать обоснованные сомнения в практической целесообразности выделения трех фенотипов ХСН по итогу исходной ультразвуковой оценки значения ФВ ЛЖ (со сниженной, с умеренно сниженной и сохраненной ФВ ЛЖ), так же как и реклассификации сердечной недостаточности, исходя из динамики обсуждаемого индикатора глобальной контрактильной активности ЛЖ, установленной при последующих эхокардиографических исследованиях. Однако отказ в одностороннем порядке от такого деления или упрощение фенотипирования до дихотомии (со сниженной и сохраненной ФВ ЛЖ) в российской классификации будет означать, что мы идем не в ногу со всеми миром. В этой связи (исключительно для унификации терминологии) призываем отказаться от упрощения до дихотомии фенотипирования ХСН по значению ФВ ЛЖ.

Принимая во внимание многочисленные экспериментальные и клинические исследования, результаты которых позволяют поставить под сомнение «монопольную» роль систолической дисфункции сердца как главной и единственной гемодинамической причины, ответственной за возникновение и клинические проявления ХСН, в диагностическом заключении следует приветствовать и характеристику состояния диастолической функции ЛЖ (особенно у пациентов с ХСН и сохраненной ФВ ЛЖ) [15, 33–37]. Следовательно, выделение подобной рубрики в классификации – еще один вектор возможной модификации действующей классификации ХСН.

## ПРОЕКТ КЛАССИФИКАЦИИ ХСН РКО

Полагая, что действующая классификация ОССН 2002 г. уже не согласуется с современными представлениями об эволюции ХСН, стратегиями ее про-

филактики и лечения, эксперты РКО инициировали обсуждение целесообразности внесения изменений в российскую классификацию ХСН по стадиям [4]. Проект классификация ХСН РКО был опубликован в девятом выпуске Российского кардиологического журнала 2023 г. (табл. 2) [5].

Таблица 2

| Классификация ХСН РКО (проект, 2023 г.) [5]  |
|--|
| <b>Риск развития сердечной недостаточности:</b> наличие заболеваний и состояний с высоким риском развития ХСН.   |
| <b>Предсердечная недостаточность:</b> отсутствие симптомов и признаков ХСН в настоящем и прошлом. Наличие признаков структурного и/или функционального поражения сердца и/или повышения уровня мозгового натрийуретического пептида.             |
| <b>Стадия 1. Проявляющаяся клинически сердечная недостаточность:</b> наличие симптомов и признаков ХСН в настоящем или прошлом, вызванных нарушением структуры и/или функции сердца.   |
| <b>Стадия 2. Далеко зашедшая, клинически тяжелая сердечная недостаточность:</b> тяжелые симптомы и признаки ХСН в покое, повторные госпитализации по поводу ХСН, несмотря на попытки оптимизировать терапию ХСН или непереносимость терапии ХСН. |

При знакомстве с проектом невозможно не отметить поразительное сходство предложенного документа с классификацией североамериканских коллег, не имеющей, как было отмечено выше, очевидных преимуществ перед отечественной классификацией 2002 г., от активного применения которой в нашей стране воздерживались более 20 лет. На просторах Интернета можно встретить искрометный афоризм «Медицинская наука шагнула далеко вперед, догнать ее – наша задача», точно описывающий непрерывный характер развития научного знания. Однако мы не понимаем, накопление каких новых научных сведений по этиологии, патогенезу, клинике и профилактике ХСН привело к тому, что по прошествии почти четверти XXI в. остро возникла парадоксальная необходимость возврата к позициям начала столетия с тем, чтобы не отстать от прогресса.

В соответствии с международным универсальным определением, которое цитируется экспертами РКО [4], сердечная недостаточность – это клинический синдром с симптомами и/или признаками, вызванными структурными и/или функциональными нарушениями сердца, подтвержденными повышенным уровнем натрийуретических пептидов и/или объективными признаками легочного или системного застоя [38]. Однако в данном проекте при описании клинических проявлений сердеч-

ной недостаточности вместо написания сочетания союзов через косую черту («и/или») применяют в классификации только союз «и» («симптомы(ов) и признаки(ов)») [5].

Что касается обозначенных в американском прототипе как стадии (А и В) начальных этапов сердечно-сосудистого континуума, когда сердечной недостаточности (сложный клинический синдром с соответствующими симптомами/признаками) по сути дела нет, то в российском проекте их стадиями не называют, сохраняя тем не менее за ними первые две строки классификации ХСН (классификация сердечной недостаточности и у пациентов без сердечной недостаточности!). Наличие разделов классификации ХСН, в которых сердечная недостаточность отрицается (так называемый сдвиг влево), объясняется необходимостью сфокусироваться на начальных этапах сердечно-сосудистого континуума с акцентом на те заболевания и состояния, при которых риск развития ХСН особенно высокий, что является критически важным для обращения внимания врача на профилактические стратегии, снижающие сердечно-сосудистые риски [4].

Российским интернистам, воспитанным на идеях С.П. Боткина и И.И. Мечникова, с университетской скамьи хорошо усвоившим, что *предупредить болезнь гораздо легче, чем их лечить*, не надо объяснять значение первичной профилактики, мероприятия которой особенно успешны в группах высокого риска. Все, что необходимо для обеспечения эффективности этих мероприятий, кроме знаний, касающихся конкретных факторов риска ХСН, и осознанной необходимости воздействия на те, которые можно модифицировать, – это своевременно диагностировать и корректируемые факторы, скрупулезно зафиксировать в диагностическом заключении и сделать все для контроля ситуации с помощью немедикаментозных воздействий и оптимальной фармакотерапии в

соответствии с актуальными рекомендациями [39–42]. Исходя из дидактических соображений, акцент на профилактические стратегии можно сделать в подробной схеме сердечно-сосудистого континуума, в которую допустимо включить его самые ранние звенья (начать даже не с больших факторов риска ХСН, а с факторов риска факторов риска – так называемых первичных факторов риска). Но классификация сердечной недостаточности, которая, как мы уже отмечали выше, в идеале служит источником знания о классифицируемых объектах, не должна выходить за рамки своей основной функции, заключающейся в делении пациентов с ХСН в соответствии со стадией синдрома. В свете изложенного в классификации ХСН можно принять «сдвиг влево» не далее скрытой сердечной недостаточности, проявляющейся только при предъявлении к системе кровообращения повышенных требований.

В обсуждаемой работе представлено также краткое описание классификационных признаков, касающихся лишь ХСН с низкой (<50%) ФВ ЛЖ (табл. 3). Последнее вызывает недоумение и ряд вопросов, один из которых позволим себе озвучить. Авторы-разработчики не признают существование «нормосистолической» сердечной недостаточности или разработку классификационных признаков ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ отложили до лучших времен?

Согласно данным, представленным в табл. 3, наличие или отсутствие структурных изменений сердца (например, гипертрофии ЛЖ) предполагается подтверждать результатами клинического исследования (по-видимому, пальпации и перкуссии), так как анализ эхокардиографии сводится к оценке значения ФВ ЛЖ. По той же причине на клинические признаки (в частности, пытаюсь отличить отеки голеней от их пастозности) придется опираться, чтобы разграничить 1-ю и 2-ю стадии ХСН.

Таблица 3

| Классификационные признаки ХСН с низкой ФВ ЛЖ |  |   |                                    |
|---|--|---|------------------------------------|
| Показатель                                    | Клинические  | Лабораторные (уровень натрий-уретического пептида выше нормы) | Эхокардиографические (ФВ ЛЖ < 50%) |
| Риск ХСН                                      | Проявления имеющихся заболеваний (артериальная гипертензия, ИБС, сахарный диабет и т.д.)                                       | –   | –                                  |
| Предсердечная недостаточность                 | Проявления имеющихся заболеваний + структурные и(или) функциональные изменения сердца (например, гипертрофия левого желудочка) | +   | –                                  |
| 1-я стадия ХСН                                | Одышка, пастозность голеней  | +   | +                                  |
| 2-я стадия ХСН                                | Одышка, пастозность (отеки) голеней + скопление жидкости в полостях (гидроторакс, гидроперикард, асцит)                        | +   | +                                  |

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца.

Предвидим большие трудности на этом пути (например, непонятно, будет ли обосновывать заключение о терминальной стадии синдрома наличие незначительного правостороннего гидроторакса), с которыми мы сталкивались до тех пор, пока эксперты ОССН не дополнили классификационные признаки стадий ХСН рядом эхокардиографических показателей, введя в классификацию Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко такие понятия, как «бессимптомная дисфункция ЛЖ», «адаптивное ремоделирование сердца и сосудов», «дезадаптивное ремоделирование сердца и сосудов».

В соответствии с обсуждаемым проектом эксперты РКО предлагают примеры формирования диагностических заключений, которые позволяют лучше понять практический смысл классификации. Заметим, что примеры формулировки диагноза в любом документе требуют от его авторов

большой смелости, так как любая неточность, в том числе связанная с несовершенством самой классификации, становится предметом критики. Они, образно говоря, выходят на линию огня. Вероятно, в связи с этим авторы многих клинических рекомендаций избегают таких примеров. Убеждены в том, что примеры формулировки диагноза должны стать неотъемлемой частью клинических рекомендаций, без которой они не должны утверждаться Научно-практическим советом Минздрава РФ.

Рассмотрим примеры формулировки для каждой стадии («предстадии») ХСН (табл. 4), которые вызывают вопросы и замечания. Начнем с того, что нарушено единое требование к рубрификации диагноза. Нерубрифицированный диагноз, как известно, независимо от своего содержания, расценивается как неверно оформленный [43, 44].

Таблица 4

| Примеры формулировки клинического диагноза у пациента с ХСН   |  |
|---|--|
| Примеры формулировки клинического диагноза [5]  | Вопросы и замечания  |
| Гипертоническая болезнь, II стадия. Риск 3. Дислипидемия. Высокий риск ХСН  | <p>О высоком риске в диагнозе сообщается дважды. При гипертонической болезни риск развития ХСН может быть каким-то другим (например, низким)? Если нет, к чему об этом упоминать в диагнозе? Авторы пишут – для того, чтобы «нацеливать врачей на более тщательное ведение пациентов». Однако, что такое «более тщательное ведение пациентов», нам непонятно. Простите, но без повторного (!) упоминания в диагнозе о высоком риске грамотный клиницист не назначит в соответствии с актуальными рекомендациями оптимальную фармакотерапию? К сожалению, плохой врач, и трижды описав в диагностическом заключении высокий риск, это не сделает. Артериальная гипертензия является фактором риска только ХСН или также ИБС, нарушений сердечного ритма, патологии периферических артерий, цереброваскулярных заболеваний и хронической болезни почек? Просим прощения, но нам неясно – клиницисту каждый высокий риск описывать в диагнозе отдельно («Высокий риск ХСН. Высокий риск ишемической болезни сердца. Высокий риск ...») или списком, через запятую?</p> <p>При наличии коморбидной патологии практикующий врач должен в комбинированном клиническом диагнозе повторно описывать высокий риск после каждого заболевания и состояния, при которых вероятность развития ХСН особенно высока (перечень достаточно обширный: артериальная гипертензия, ожирение, ИБС, фибрилляция предсердий, кардиомиопатии, сахарный диабет, хроническая болезнь почек, хроническая обструктивная болезнь легких, противоопухолевая терапия) [4]?</p> |
| Сахарный диабет 2-го типа. ХБП, 3а стадия. Предсердечная недостаточность.   | <p>Оставим без внимания то, что диагноз сахарного диабета и хронической болезни почек не является полным, но о каких структурных и(или) функциональных изменениях сердца, обнаружение которых позволило обосновать «предсердечную недостаточность» (что хотите с нами делайте, но иначе, как издевательством над «великим, многословным и могучим» русским языком такую терминологию назвать не можем), идет речь, неизвестно. Если о гипертрофии ЛЖ, то в диагнозе, по-видимому, пропущена информация о симптоматической артериальной гипертензии у пациента с диабетической нефропатией (ее также следует классифицировать). Не лучше ли конкретно описать в диагнозе эти структурные и(или) функциональные изменения сердца (например, форму и выраженность гипертрофии ЛЖ), не подменяя вычурным и неконкретным термином?</p>  |
| ИБС: стенокардия напряжения 2 ФК. Аортокоронарное шунтирование в 2018 г. ХСН, I стадия. 2 ФК.<br>ИБС: постинфарктный кардиосклероз (инфаркт миокарда в 2020 г). ХСН, II стадия. 3 ФК. Аневризма ЛЖ. Правосторонний гидроторакс. | <p>Применение дихотомической классификации стадий ХСН приводит к тому, что за таким диагнозом пациента с многоикрой сердечной недостаточностью видно хуже, чем при использовании действующей классификации ОССН (об этом уже писали выше, повторяться не будем).</p> <p>От фенотипирования ХСН по значению ФВ ЛЖ авторы отказались.</p>  |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предлагаемая экспертами РКО новая классификация ХСН, представляющая собой фактически видоизмененную классификацию североамериканских коллег, не имеет очевидных преимуществ перед действующей в России с 2002 г. классификацией сердечной недостаточности, основанной на привычной для отечественных интернистов классификации Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко. Последняя, по образному выражению В.Ю. Мареева [45], вошла в плоть и кровь российских медиков и выдержала проверку временем. К тому же принципы, заложенные в ее основу, обеспечивают потенциал для ее гибкой модификации, возможности которой, по нашему мнению, не являются полностью исчерпанными.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Философский энциклопедический словарь; под ред. Л.Ф. Ильичёва, П.Н. Федосеева, С.М. Ковалёва, В.Г. Панова. М.: Сов. энциклопедия, 1983:840.
2. Мейен С.В., Шрейдер Ю.А. Методологические аспекты теории классификации. *Lethaea Rossica. Российский палеоботанический журнал*. 2017;14:101–110.
3. Шулуто Б.И. Нефрология 2002. Современное состояние проблемы. СПб.: Ренкор, 2002:780.
4. Шляхто Е.В. Классификация сердечной недостаточности: фокус на профилактику. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(1):7–8. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5351.
5. Галявич А.С., Недогода С.В., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н. О классификации хронической сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(9):13–18. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5584.
6. Karamanou M., Vlachopoulos C., Stefanadis C., Androustos G. Professor Jean-Nicolas Corvisart des Marets (1755–1821): founder of modern cardiology. *Hellenic J. Cardiol*. 2010;51(4):290–293.
7. McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., Gardner R.S., Baumbach A., Böhm M. et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur. Heart J*. 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368
8. Heidenreich P.A., Bozkurt B., Aguilar D., Allen L.A., Byun J.J., Colvin M.M. et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2022;145(18):e895–e1032. DOI: 10.1161/CIR.0000000000001063.
9. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Беграбекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А. и др. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). *Диагностика, профилактика и лечение. Кардиология*. 2018;58(S6):8–161. DOI: 10.18087/cardio.2475.
10. Международное руководство по сердечной недостаточности; под ред. С.Дж. Болл, Р.В.Ф. Кемпбелл, Г.С. Френсис; пер. с англ. М.: МЕДИА СФЕРА, 1995:89.
11. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Калюжин О.В. Сердечная недостаточность. М.: Медицинское информационное агентство, 2018:376.
12. Caraballo C., Desai N.R., Mulder H., Alhanti B., Wilson F.P., Fiuzat M. et al. Clinical Implications of the New York Heart Association Classification. *J. Am. Heart Assoc*. 2019;8(23):e014240. DOI: 10.1161/JAHA.119.014240.
13. Rohde L.E., Zimerman A., Vaduganathan M., Claggett B.L., Packer M., Desai A.S. et al. Associations Between New York Heart Association Classification, Objective Measures, and Long-term Prognosis in Mild Heart Failure: A Secondary Analysis of the PARADIGM-HF Trial. *JAMA Cardiol*. 2023;8(2):150–158. DOI: 10.1001/jamacardio.2022.4427.
14. Lindberg F., Tomasoni D., Savarese G. What Role for New York Heart Association Class in Heart Failure Clinical Trials? *JAMA Cardiol*. 2023;8(8):793. DOI: 10.1001/jamacardio.2023.1638.
15. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Останко В.Л., Терентьева Н.Н. и др. Корректная формулировка диагноза у пациента с хронической сердечной недостаточностью: реальность или несбыточная мечта? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(3):128–136. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-3-128-136.
16. Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В. Диагностика и лечение хронической сердечной недостаточности. 3-е изд., испр. М.: Миклош, 2004: 352.
17. Caraballo C., Desai N.R., Mulder H., Alhanti B., Wilson F.P., Fiuzat M. et al. Clinical Implications of the New York Heart Association Classification. *J. Am. Heart Assoc*. 2019;8(23):e014240. DOI: 10.1161/JAHA.119.014240.
18. Cosiano M.F., Vista A., Sun J.L., Alhanti B., Harrington J., Butler J. et al. Comparing New York Heart Association Class and patient-reported outcomes among patients hospitalized for heart failure. *Circ. Heart Fail*. 2023;16(1):e010107. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.122.010107.
19. Agdamag A.C., Van Iterson E.H., Tang W.H.W., Finet J.E. Prognostic role of metabolic exercise testing in heart failure. *J. Clin. Med*. 2023;12(13):4438. DOI: 10.3390/jcm12134438.
20. Lim F.Y., Yap J., Gao F., Teo L.L., Lam C.S.P., Yeo K.K. Correlation of the New York Heart Association classification and the cardiopulmonary exercise test: A systematic review. *Int. J. Cardiol*. 2018;263:88–93. DOI: 10.1016/j.ijcard.2018.04.021.
21. Ritt L.E.F., Ribeiro R.S., Souza I.P.M.A., Ramos J.V.S.P., Ribeiro D.S., Feitosa G.F. et al. Low concordance between NYHA Classification and Cardiopulmonary Exercise Test Variables in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *Arq. Bras. Cardiol*. 2022;118(6):1118–1123. DOI: 10.36660/abc.20210222.
22. Zimerman A., da Silveira A.D., Solomon S.D., Rohde L.E. NYHA classification for decision-making in heart failure: Time to reassess? *Eur. J. Heart Fail*. 2023;25(7):929–932. DOI: 10.1002/ejhf.2923.
23. Hunt S.A., Baker D.W., Chin M.H., Cinquegrani M.P., Feldman A.M., Francis G.S. et al. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force

- on Practice Guidelines (Committee to revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001;38(7):2101–2113. DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01683-7.
24. Yancy C.W., Jessup M., Bozkurt B., Butler J., Casey D.E. Jr., Drazner M.H. et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation.* 2013;128(16):e240–327. DOI: 10.1161/CIR.0b013e31829e8776.
25. Ситникова М.Ю. Нужна ли нам стадия А в классификации хронической сердечной недостаточности? *Журнал Сердечная недостаточность.* 2009;10(4):237–238.
26. Самородская И.В., Ларина В.Н., Чернявская Т.К., Какорина Е.П. Сравнение классификаций и обоснование необходимости трансдисциплинарного консенсуса для учета заболеваемости и смертности, ассоциированной с хронической сердечной недостаточностью. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2022;11(1):6–16. DOI: 10.17802/2306-1278-2022-11-1-6-16.
27. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). *Журнал Сердечная недостаточность.* 2013;81(7):379–472.
28. Мухарлямов Н.М., Мареев В.Ю. Лечение хронической сердечной недостаточности. М.: Медицина, 1985:208.
29. Официальные комментарии ОССН к обсуждаемой классификации ХСН. *Журнал Сердечная недостаточность.* 2002;3(2):62.
30. Российское кардиологическое общество (РКО). Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал.* 2020;25(11):311–374. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-4083.
31. Salem J.E., Nguyen L.S., Hammoudi N., Preud'homme G., Hulot J.S., Leban M. et al. Complex association of sex hormones on left ventricular systolic function: insight into sexual dimorphism. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2018;31(2):231–240. e1. DOI: 10.1016/j.echo.2017.10.017.
32. Агеев Ф.Т., Овчинников А.Г., Агеева С.Ф., Мареев В.Ю. Что такое «нормальная фракция выброса левого желудочка» и ее связь с патогенезом и эффективностью лечения сердечной недостаточности. *Кардиология.* 2023;63(6):69–74. DOI: 10.18087/cardio.2023.6.n2404.
33. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Знакомьтесь: диастолическая сердечная недостаточность. *Журнал Сердечная недостаточность.* 2000;1(2):40–44.
34. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Соловцов М.А. Роль систолической и диастолической дисфункции левого желудочка в клинической манифестации хронической сердечной недостаточности у больных, перенесших инфаркт миокарда. *Терапевтический архив.* 2002;74(12):15–18.
35. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Рязанцева Н.В., Вечерский Ю.Ю., Хлапов А.П., Колесников Р.Н. Диастола сердца. Физиология и клиническая патофизиология. Томск: Изд-во ТПУ, 2007:212.
36. Obokata M., Reddy Y.N.V., Borlaug B.A. Diastolic Dysfunction and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Understanding Mechanisms by Using Noninvasive Methods. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2020;13(1–2):245–257. DOI: 10.1016/j.jcmg.2018.12.034.
37. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Черногорюк Г.Э., Терентьева Н.Н. и др. Диастолическая сердечная недостаточность: границы применения термина. *Бюллетень сибирской медицины.* 2023;22(1):113–120. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-1-113-120.
38. Bozkurt B., Coats A.J.S., Tsutsui H., Abdelhamid C.M., Adamopoulos S., Albert N. et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(3):352–380. DOI: 10.1002/ehf.2115.
39. Visseren F.L.J., Mach F., Smulders Y.M., Carballo D., Koskinas K.C., Böck M. et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2022;29(1):5–115. DOI: 10.1093/eurjpc/zwab154.
40. Piepoli M.F., Adamo M., Barison A., Bestetti R.B., Biegus J., Böhm M. et al. Preventing heart failure: a position paper of the Heart Failure Association in collaboration with the European Association of Preventive Cardiology. *Eur. J. Heart Fail.* 2022;24(1):143–168. DOI: 10.1002/ehf.2351.
41. Wong N.D., Sattar N. Cardiovascular risk in diabetes mellitus: epidemiology, assessment and prevention. *Nat. Rev. Cardiol.* 2023;20(10):685–695. DOI: 10.1038/s41569-023-00877-z.
42. Handelsman Y., Butler J., Bakris G.L., DeFronzo R.A., Fonarow G.C., Green J.B. et al. Early intervention and intensive management of patients with diabetes, cardiorenal, and metabolic diseases. *J. Diabetes Complications.* 2023;37(2):108389. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2022.108389.
43. Забозлаев Ф.Г., Зайратьянц О.В., Кактурский Л.В., Клевно В.А., Кучук С.А., Максимов А.В. Методические рекомендации по сопоставлению заключительного клинического и патологоанатомического/судебно-медицинского диагнозов. *Судебная медицина.* 2019;5(4):48–56. DOI: 10.19048/2411-8729-2019-5-4-48-56.
44. Клевно В.А., Зайратьянц О.В., Забозлаев Ф.Г., Кактурский Л.В., Какорина Е.П., Лысенко О.В. и др. Правила формулировки судебно-медицинского и патологоанатомического диагнозов, выбора и кодирования причин смерти по МКБ-10. *Руководство для врачей.* М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023:656.
45. Мареев В.Ю. Рекомендации по рациональному лечению больных с сердечной недостаточностью Раздел 2. Определение понятия ХСН, причины развития, патогенез, классификация и цели терапии. *Consilium Medicum.* 1999;1(3):111–115.

## Информация об авторах

**Калюжин Вадим Витальевич** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhinvv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>

**Тепляков Александр Трофимович** – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Vgelen1970@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0721-0038>

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

**Калюжина Елена Викторовна** – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhina.e@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7978-5327>

**Черногорюк Георгий Эдинович** – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, chernogoryuk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5780-6660>

**Терентьева Надежда Николаевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней СурГУ, г. Сургут, nadiater@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0462-3526>

**Гракова Елена Викторовна** – д-р мед. наук, 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>

**Гарганеева Наталья Петровна** – д-р мед. наук, профессор, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, garganeeva@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7353-7154>

**Лившиц Инна Климентьевна** – канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, lik78.78@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2357-6910>

**Останко Валентина Леонидовна** – канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, valentina209@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9950-721X>

**Шаловой Алла Алексеевна** – канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, allashalovay.2708@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7258-4883>

**Пушикова Елена Юрьевна** – канд. мед. наук, врач-кардиолог, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, reu@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0456-9398>

**Аптекарь Владимир Дмитриевич** – д-р мед. наук, зав. кардиологическим отделением № 4, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, avd@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0009-0001-1167-0814>

(✉) **Калюжин Вадим Витальевич**, kalyuzhinvv@mail.ru

Поступила в редакцию 08.12.2023;  
одобрена после рецензирования 15.12.2023;  
принята к публикации 23.12.2023

УДК 616.74-009.7:575.21:616.127  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-156-165>



## Спектр фенотипических проявлений моногенных заболеваний, связанных с генами кардиомиопатий

Кучер А.Н., Назаренко М.С.

Научно-исследовательский институт (НИИ) медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
634050, г. Томск, ул. Набережная Ушайки, 10

### РЕЗЮМЕ

**Цель** настоящего исследования заключалась в обобщении данных о спектре наследственных заболеваний и их фенотипических проявлениях при структурно-функциональных нарушениях в 75 генах, патогенные варианты которых связаны с формированием различных типов кардиомиопатий (КМП). Поиск научных публикаций проведен в зарубежных (PubMed) и отечественных (eLibrary) электронных библиотеках. Анализ данных выполнен с использованием баз Simple ClinVar, An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders, а также интернет-ресурса STRING.

Показано, что подавляющее большинство генов КМП обладают плейотропизмом и при моногенных заболеваниях, вызванных мутациями в данных генах, регистрируют широкий спектр патологических проявлений в различных системах органов (сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной, костно-мышечной системы и соединительной ткани, кожи и придатков, органов зрения и слуха, почек), а также нарушения метаболизма и иммунитета. В связи с этим вне зависимости от первичного диагноза при выявлении у пациентов в генах КМП патогенных / вероятно патогенных вариантов или вариантов с неопределенной значимостью рекомендуется проведение детального и комплексного клинического обследования. Это имеет важное значение для уточнения эффектов редких вариантов генов, выделения клинически и прогностически значимых признаков для КМП и моногенных заболеваний, связанных с генами КМП, а также выявления групп риска и управляемых триггеров, способствующих проявлению патогенных генетических вариантов.

**Ключевые слова:** гены кардиомиопатий, моногенные заболевания, фенотипические проявления

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансировании Госзадания Министерства науки и высшего образования (№ 122020300041-7).

**Для цитирования:** Кучер А.Н., Назаренко М.С. Спектр фенотипических проявлений моногенных заболеваний, связанных с генами кардиомиопатий. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):156–165. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-156-165>.

## Monogenic diseases associated with cardiomyopathy genes and their phenotypic manifestations

Kucher A.N., Nazarenko M.S.

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center (NRMCC) of the Russian Academy of Sciences  
10, Naberezhnaya Ushayki Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

✉ Назаренко Мария Сергеевна, [maria.nazarenko@medgenetics.ru](mailto:maria.nazarenko@medgenetics.ru)

**ABSTRACT**

**The aim** of the present study was to summarize the data on the spectrum of genetic diseases and their phenotypic manifestations in case of structural and functional defects in 75 genes, pathogenic variants of which are associated with the formation of different types of cardiomyopathy (CMP). The search for scientific publications was carried out in foreign (PubMed) and Russian (eLibrary) digital libraries. The data analysis was performed using the Simple ClinVar, An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders, and STRING databases.

It was shown that the vast majority of CMP genes are pleiotropic. Monogenic diseases caused by mutations in CMP genes are characterized by a wide range of pathological manifestations in various organs and systems (cardiovascular, nervous, endocrine, musculoskeletal systems, connective tissue, skin and appendages, organs of vision and hearing, kidneys) as well as by metabolic and immune disorders. Therefore, if a patient (regardless of the primary diagnosis) has pathogenic / likely pathogenic variants or variants of uncertain significance in the CMP genes, we recommend a detailed and comprehensive clinical examination. This is important for clarifying the effects of rare genetic variants, identifying significant clinical and prognostic features for CMP and monogenic diseases associated with CMP genes, and identifying risk groups and controllable triggers that contribute to the manifestation of pathogenic genetic variants.

**Keywords:** cardiomyopathy genes, monogenic diseases, phenotypic manifestations

**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 state assignment from the Ministry of Science and Higher Education (No. 122020300041-7).

**For citation:** Kucher A.N., Nazarenko M.S. Monogenic diseases associated with cardiomyopathy genes and their phenotypic manifestations. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):156–165. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-156-165>.

**ВВЕДЕНИЕ**

Одной из ключевых проблем современных медико-биологических исследований является понимание закономерностей реализации генетической программы и выявление механизмов формирования генетически детерминированных фенотипов, в том числе и патологических [1, 2]. Достижения в области молекулярно-генетических исследований, системной биологии и системной медицины позволяют по-новому взглянуть на вопрос трансформации от генотипа к фенотипу [3].

Кардиомиопатии (КМП) – клинически и этиологически гетерогенная группа патологий миокарда – выступают ярким примером сложности формирования патологического фенотипа. КМП могут иметь моногенную, олигогенную или полигенную основу [4–6], которая реализуется в патологический фенотип на протяжении многих десятилетий (проявляется чаще у взрослых) и в ряде случаев только при определенных триггерах среды [5, 6]. С клинической точки зрения выделяют гипертрофическую (ГКМП), дилатационную (ДКМП), рестриктивную (РКМП) и правожелудочковую аритмогенную кардиомиопатию (ПЖАКМП), причиной которых чаще рассматривают нарушения в функционировании определенных генов [6–8].

Однако к аналогичным нарушениям миокарда могут приводить воздействия как внешних, так и внутренних средовых факторов (например, лекарственно-индуцированная, диабетическая, перипаретальная, стресс-индуцированная, воспалительная (миокардит) КМП и др.). И у пациентов с данными состояниями также выявляют патогенные варианты в генах, которые рассматриваются в качестве причинных для КМП [9–11]. В некоторых случаях наблюдается сочетание нескольких типов КМП или переход от одной к другой форме по мере прогрессирования болезни [12–14], а также КМП могут выступать в качестве симптома других сложных патологических фенотипов [11, 15].

Известны десятки генов, патогенные / вероятно патогенные варианты которых могут приводить к одному из типов КМП. Для разных КМП число и спектр причинных генов различаются, но неблагоприятные варианты в одних и тех же генах (и даже одни и те же варианты) могут приводить как к разным, так и к одним и тем же типам КМП [16]. Все больше накапливается данных, что, с одной стороны, нарушения в разных генах могут приводить к развитию сходных фенотипов (в частности, к КМП), а с другой – патологические варианты в одном и том же гене могут способствовать формированию различных клинических фенотипов и признаков, даже не

связанных с основной патологией [4, 6, 17, 18]. Выявление особенностей фенотипа, а также уточнение спектра возможных нарушений в организме при наличии патогенных вариантов в генах представляют интерес не только с фундаментальной точки зрения (для определения сферы компетенции конкретных генов), но и имеет клиническую значимость, в частности для трансляционной медицины [3, 19]. Цель настоящего исследования заключалась в обобщении данных о спектре наследственных заболеваний и их фенотипических проявлениях при структурно-функциональных нарушениях в генах КМП.

## ИСТОЧНИК ДАННЫХ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ИНСТРУМЕНТЫ

Информация о генах первичных КМП не полностью совпадает по данным разных источников (баз данных ClinGen, SimpleClinVar, Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders (OMIM) и др.), что связано с различиями в использованных критериях отнесения генов к категории значимых. В настоящем исследовании в качестве источника информации о генах КМП была использована база Simple ClinVar (<https://simple-clinvar.broadinstitute.org/>), дата обращения – февраль 2023 г.

Анализ сферы компетенции генов КМП проводился на основании данных An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders (OMIM) (<https://www.omim.org/>) о моногенных заболеваниях, к которым могут приводить мутации в привлеченных к рассмотрению генах КМП. Для описания особенно-

стей фенотипических проявлений при моногенных заболеваниях, причиной которых являются мутации в генах КМП, использовался MeSH – словарь биомедицинских терминов, которые применяются для индексации документов в MEDLINE (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/>). Для характеристики генов КМП использовался также интернет-ресурс STRING (<https://string-db.org/>). Поиск научных публикаций проведен в зарубежных (PubMed) и отечественных (eLibrary.ru) электронных библиотеках.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ ПЕРВИЧНЫХ КАРДИОМИОПАТИЙ

Согласно Simple ClinVar, патогенные / вероятно патогенные варианты 75 генов могут приводить к одной из форм первичных КМП: для ГКМП указаны 40 таких генов, для ДКМП – 50 генов, для ПЖАКМП – 11 генов, для РКМП – семь генов (рис.). Большинство генов КМП являются белок-кодирующими, два гена относятся к генам некодирующих РНК – *FLNC-AS1* и *TTN-AS1*. Наряду со специфичными (которые охарактеризованы как причинные в отношении одного типа КМП), есть гены, варианты в которых могут приводить к разным типам КМП. Например, варианты в генах *ACTN2*, *DES*, *LMNA* и *TMEM43* рассматриваются в качестве причинных для ГКМП, ДКМП и АКМП; в генах *MYH7*, *TNNI3*, *TNNT2* и *TTN* – для ГКМП, ДКМП и АКМП и т.д. (см. рис.). Иными словами, патогенные варианты в одних и тех же генах КМП могут приводить к различным патологическим фенотипам на уровне сердца.

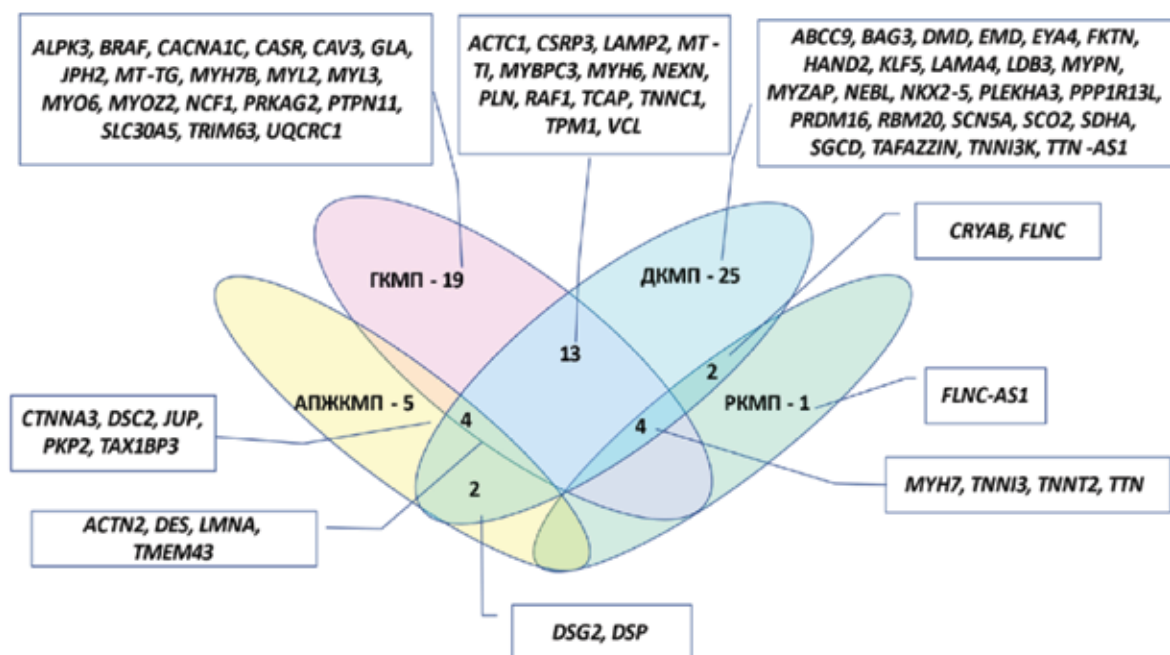


Рисунок. Общие и специфические гены для разных моногенных КМП

Согласно Tissue expression database (<https://tissues.jensenlab.org/>), по данным STRING, привлеченные к рассмотрению гены КМП экспрессируются во многих тканях, включая различные отделы сердца (правый желудочек, сердечная мышца, левое и правое предсердие, желудочек, предсердие), эмбриональные ткани (21 ген), ткани женской репродуктивной системы (17 генов), яичка (девять генов), плода (13 генов), органов чувств (шесть генов), прямой кишки (пять генов), желчного пузыря (три гена), в адипоцитах (два гена), тромбоцитах (четыре гена) и др. [20, 21]. В частности, в эмбриональных структурах (ВТО:0000174 по [20]) экспрессируются гены *PKP2*, *UQCRC1*, *VCL*, *RAF1*, *MYH7B*, *SDHA*, *DSC2*, *NCF1*, *TMEM43*, *FLNC*, *PTPN11*, *MYPN*, *HAND2*, *DMD*, *LMNA*, *BAG3*, *EMD*, *KLF5*, *JUP*, *MYH6*, *LAMP2*, в органах чувств – гены *BAG3*, *DMD*, *VCL*, *SDHA*, *NCF1*, *PTPN11* и т.д. Экспрессия в различных типах тканей и на разных стадиях онтогенеза позволяет предположить, что нарушения в работе генов КМП могут сказаться на функционировании не только сердечно-сосудистой, но и других систем органов.

По STRING [21], 71 белок, кодируемый генами КМП, функционально связан (средний локальный коэффициент кластеризации – 0,656), регистрируются в целом 683 функциональных или физических взаимодействия (в среднем на белок – 19,2) при ожидаемых 35 взаимодействиях (уровень достигнутой статистической значимости обогащения в сети межбелковых взаимодействий  $p < 1.0e-16$ ). Не включенными в сеть оказались белковые продукты лишь семи генов: *NCF1*, *TAX1BP3*, *KLF5*, *SLC30A5*, *PLEKHA3*, *PRDM16* и *CASR*. Объединение в единую сеть бел-

ков, кодируемых генами КМП, является ожидаемым в связи с критериями их выбора для анализа, но это также предполагает возможность вовлеченности в общие патологические состояния данных генов и при поражении других систем органов.

## СПЕКТР МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ГЕНАМИ КМП (ПО OMIM) И ИХ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ

Для 13 генов в базе Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders (OMIM) [22] не указаны моногенные заболевания – для генов *HAND2*, *KLF5*, *MT-TG*, *MT-TI*, *MYH7B*, *MYZAP*, *NEBL*, *PLEKHA3*, *PPP1R13L*, *SLC30A5*, *TAX1BP3*, *TRIM63*, *TTN-AS1*. Для 62 оставшихся генов приведено в общей сложности 191 заболевание, причем только для двух патологий речь идет о предрасположенности (для гена *CASR* – к идиопатической генерализованной эпилепсии, для *SCN5A* – к синдрому внезапной детской смерти), в большинстве случаев отмечается аутосомно-доминантное (72,8%), аутосомно-рецессивное (17,3%) и реже смешанное аутосомно-доминантное/аутосомно-рецессивное (4,0%), аутосомно-доминантное/дигенное доминантное (1,2%) и X-сцепленное (4,6%) наследование болезни при наличии патологических вариантов; в пяти случаях в качестве причины патологии рассматриваются соматические мутации (для онкологических болезней).

Гены КМП характеризуются как разной «нагруженностью» моногенными заболеваниями, так и их разнообразием. Наибольшее число заболеваний (от 5 до 11) зарегистрировано для генов *LMNA*, *SCN5A*, *MYH7*, *BRAF*, *NKX2-5*, *DSP*, *TTN*, *CASR*, *CAV3* (табл. 1).

Таблица 1

| Гены КМП, характеризующиеся наибольшей «нагруженностью» моногенными заболеваниями по OMIM |  |
|---|--|
| Ген   | Моногенные заболевания   |
| <i>LMNA</i>   | ДКМП, 1А; болезнь Шарко – Мари – Тута, тип 2В1; мышечная дистрофия Эмери – Дрейфуса, тип 2 (АД); мышечная дистрофия Эмери – Дрейфуса 3, тип АР; синдром «сердце – рука», словенский тип; прогерия Хатчинсона – Гилфорда; липодистрофия, семейная частичная, тип 2; синдром Малюфа; мандибулоакральная дисплазия; мышечная дистрофия, врожденная; рестриктивная дермопатия 2 – всего 11 заболеваний |
| <i>SCN5A</i>  | Фибрилляция предсердий, семейная, 10; синдром Бругада 1; ДКМП 1Е; блокада сердца, непрогрессирующая; блокада сердца, прогрессирующая, тип 1А; синдром удлиненного интервала QT 3; синдром слабости синусового узла 1; фибрилляция желудочков, семейная, 1; предрасположенность к синдрому внезапной детской смерти – всего 9 заболеваний   |
| <i>MYH7</i>   | ДКМП 1S; ГКМП 1; дистальная миопатия Лэнга; некомпактность левого желудочка 5; миопатия с накоплением миозина (АД и АР); лопаточно-перонеальный синдром, миопатический тип – всего 7 заболеваний   |
| <i>BRAF</i>   | Аденокарцинома легкого (соматическая), кардио-кожный синдром, колоректальный рак (соматический), ЛЕОПАРД синдром 3, меланома злокачественная (соматическая), немелкоклеточный рак легкого (соматический), синдром Нунан 7 – всего 7 заболеваний  |
| <i>NKX2-5</i>   | Дефект межпредсердной перегородки 7, с дефектами АВ-проводимости или без них; конотрункальные пороки сердца, вариационные; синдром гипоплазии левых отделов сердца 2; гипотиреоз врожденный, незобный, 5; тетрада Фалло; дефект межжелудочковой перегородки 3 – всего 7 заболеваний  |
| <i>DSP</i>  | Аритмогенная дисплазия правого желудочка 8, ДКМП с пушистыми волосами и кератодермией, ДКМП с пушистыми волосами, кератодермией и агенезией зубов; буллезный эпидермолиз, летальный акантолитический; ладонно-подошвенный кератоз II; синдром хрупкость кожи – «шерстистые» волосы – всего 6 заболеваний   |

Окончание табл. 1

| Ген         | Моногенные заболевания  |
|-------------|---|
| <i>TTN</i>  | ДКМП 1G; ГКМП семейная 9; мышечная дистрофия, поясно-конечностная, АД 10; миопатия, миофибрилярная, 9, с ранней дыхательной недостаточностью; миопатия Салиха; большеберцовая мышечная дистрофия, поздняя – всего 6 заболеваний               |
| <i>CASR</i> | Гиперпаратиреоз, неонатальный; гипокальциемия, АД; гипокальциемия, АД, с синдромом Барттера; гипокальциурическая гиперкальциемия I типа; идиопатическая генерализованная эпилепсия, предрасположенность, тип 8, поздняя – всего 5 заболеваний |
| <i>CAV3</i> | ГКМП, семейная; креатинфосфокиназа, повышенный уровень в сыворотке; синдром удлинённого интервала QT, тип 9; миопатия дистальная, тип Татеяма; болезнь периодических мышечных спазмов, тип 2, поздняя – всего 5 заболеваний                   |

Примечание. АД и АР – аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный тип наследования соответственно.

Еще для 14 генов (*ABCC9*, *ACTC1*, *ACTN2*, *CACNA1C*, *CRYAB*, *FKTN*, *FLNC*, *LDB3*, *MYH6*, *MYO6*, *MYPN*, *PTPN11*, *SDHA*, *TNNT2*) указано по четыре моногенных болезни, а для остальных генов число указанных в OMIM нозологических единиц не превышает трех.

Из приведенного перечня моногенных заболеваний для генов КМП (см. табл. 1) очевидно, что патологические проявления при мутациях в данных генах обнаруживаются не только на уровне сердечно-сосудистой системы, но и других органов. В терминологии MeSH наследственные заболевания, причиной которых являются патогенные варианты в генах КМП, могут проявляться симптомами поражения различных систем органов (табл. 2). По данным OMIM и MeSH, поражением сердечно-сосудистой системы сопровождаются моногенные заболевания, причиной которых являются 56 генов КМП, поражением костно-мышечной системы и соединительной ткани – 24 гена КМП, кожи и придатков, а также нарушения метаболизма – по восемь генов, патология центральной нервной системы связана с шестью генами КМП. Кроме того, при мутациях в четырех и менее генов регистрировались нарушения эндокринной системы, патология почек, глаз, иммунитета, слуха и некоторых других признаков.

Обращает на себя внимание тот факт, что «рейтинг» генов КМП по числу нозологий, указанных в OMIM, не полностью согласуется с таковым в отношении спектра систем органов, в которых происходят такие нарушения. Полное соответствие таких показателей наблюдается только для гена *LMNA* (максимальное число наследственных болезней и число пораженных систем) и ряда генов с небольшим числом указанных в OMIM моногенных заболеваний (например, для генов *ALPK3*, *CSR3*, *JPH2*, *LAMA4*, *CTNNA3* и некоторых других указано поражение только сердечно-сосудистой системы). Близкие оценки получены для генов *BRAF*, *CASR* и *CAV3*, которые имеют высокий «рейтинг» и по числу нозологий, и по числу затронутых нарушений при моногенных заболеваниях систем органов (см. табл. 1, 2).

Важно подчеркнуть, что перечень представленных в MeSH нарушений, характерных для моногенных заболеваний, вызванных патогенными вариантами в генах КМП, не является исчерпывающим и не учитывает все патологические признаки, характерные для соответствующих болезней.

В пределах отдельных систем органов также регистрируется разнообразие клинических проявлений при моногенных заболеваниях, обусловленных патогенными вариантами в генах КМП (см. табл. 2) [22]. Нарушения в работе генов КМП могут приводить к другим патологиям сердца (различные аритмии, пороки сердца и сосудов и др.). Так, к фибрилляции предсердий или желудочков сердца приводят варианты в генах *ABCC9* и *SCN5A*. Ряд генов КМП (*CTNNA3*, *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *PKP2*, *TMEM43*) выступают в качестве причинных для развития аритмогенной правожелудочковой дисплазии или аритмий в числе симптомов, синдромов и заболеваний (тахикардии при синдроме Бругада – гены *SCN5A*, *CACNA1C*, синдроме Вольфа – Паркинсона – Уайта – ген *PRKAG2*) [22].

Согласно клиническим наблюдениям, фибрилляция предсердий может быть начальной стадией проявления кардиомиопатий (в том числе и у носителей патогенных / вероятно патогенных вариантов в генах КМП) [23]. Фенотип аритмогенной КМП может встречаться при других генетически обусловленных кардиомиопатиях [24]. Однако аритмии не всегда проявляются у пациентов с моногенными КМП даже при наличии одного и того же патогенного варианта, что наблюдалось, в частности, для пациентов с ГКМП, вызванной заменой p.Gln1233Ter в гене *MYBPC3* [25].

Следует подчеркнуть, что из 62 генов КМП, информация по моногенным заболеваниям для которых представлена в OMIM, для шести генов не указано болезней, проявляющихся патологией сердечно-сосудистой системы – для генов *CASR*, *SCO2*, *EMD*, *LAMP2*, *NCF1* и *UQCRC1*. Это указывает на неполноту информации в OMIM о возможных моногенных заболеваниях, причиной которых являются патогенные варианты в генах КМП.

Таблица 2

| Примеры фенотипических проявлений* (по MeSH) моногенных заболеваний, к которым приводят патогенные варианты в генах КМП |   |                         |  |                              |  |                             |                              |                               |  |                         |                |                 |                  |
|---|---|-------------------------|--|------------------------------|--|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--|-------------------------|----------------|-----------------|------------------|
| Гены  | ОММ {всего нозологий}   | ССЗ                     | Костно-мышечная система/соединительная ткань     | Патология нервной системы    | Кожа и придатки                          | Неоплазия                   | Признаки                     | Метаболизм                    | Эндокринная патология                    | Патология почек         | Патология глаз | Нарушение слуха | Итого MeSH Terms |
| LMNA  | 115200, 605588, 181350, 616516, 610140, 176670, 151660, 212112, 248370, 613205, 619793 {11} | КМП, ВПС                | МД, деформации рук, мандибулоакральная дисплазия | Моторно-сенсорная нейропатия | Рестриктивная дермопатия                 | –                           | –                            | Прогерия, Н. липидного обмена | Дисгенез гонад                           | Урогенитальные А.       | –              | –               | 7                |
|   |   |                         |  |                              |  |                             |                              |                               |  |                         |                |                 |                  |
| BRAF  | 211980, 115150, 114500, 613707, 155600, 211980, 613706 {7}                                  | ВПС                     | А. мышц и скелета, соединительной ткани          | –                            | Эктодермальная дисплазия, Н. пигментации | О. легких, О. ЖКТ, меланома | Н. питания, А. лица и черепа | –                             | –  | –                       | –              | –               | 5                |
| PTPN11  | 151100, 607785, 156250, 163950 {4}  | ВПС                     | А. мышц и скелета, соединительной ткани          | –                            | Эктодермальная дисплазия, Н. пигментации | О. кости и хряща; лейкоз    | Н. питания, А. лица и черепа | –                             | –  | –                       | –              | –               | 5                |
| SDHA  | 613642, 252011, 619259, 614165 {4}  | КМП                     | –  | Нейродегенерация, атаксия    | –  | Параангиома                 | –                            | Митохондриальные 3.           | –  | –                       | АЗН            | –               | 5                |
| RAF1  | 615916, 611554, 611553 {3}  | КМП, ВПС                | А. мышц и скелета, соединительной ткани          | –                            | Эктодермальная дисплазия, Н. пигментации | –                           | Н. питания, А. лица и черепа | –                             | –  | –                       | –              | –               | 4                |
| SACNA1C   | 611875, 618447, 620029, 601005 {4}  | Ар                      | А. скелета                                       | Судороги, аутизм             | –  | –                           | Нейромышечные проявления     | –                             | –  | –                       | –              | –               | 4                |
| CASR  | 239200, 601198, 601198, 145980, 612899 {5}  | –                       | –  | Эпилепсия                    | –  | –                           | –                            | П. метаболизма кальция        | 3. парацинтовидных желез и надпочечников | Н. транспорта в каналах | –              | –               | 4                |
| FKTN  | 611615, 253800, 613152, 611588 {4}  | КМП                     | МД   | А. головного мозга           | –  | –                           | –                            | –                             | –  | –                       | А. глаз        | –               | 4                |
| ABCC9   | 614050, 608569, 239850, 619719 {4}  | КМП, Ар, кардиомиопатия | МП, остеопороз, дисплазия                        | –                            | Гипертрихоз                              | –                           | –                            | –                             | –  | –                       | –              | –               | 3                |
| CAI3  | 192600, 123320, 611818, 614321, 606072 {5}  | КМП, Ар                 | МД   | –                            | –  | –                           | Уровень КФК                  | –                             | –  | –                       | –              | –               | 3                |
| CRYAB   | 615184, 613763, 608810, 613869 {4}  | КМП                     | МП   | –                            | –  | –                           | –                            | –                             | –  | –                       | Катаракта      | –               | 3                |
| TMEM43  | 604400, 619832, 614302 {3}  | КМП                     | МД   | –                            | –  | –                           | –                            | –                             | –  | –                       | –              | П. СН           | 3                |

Примечание. ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, ВПС – врожденный порок сердца, Ар – аритмии, МД – мышечная дистрофия, МП – миопатия, КФК – креатинфосфокиназа, АЗН – арофия зрительного нерва, СН – слуховой нерв, А. – аномалия; П. – патология, О. – онкопатология, Н. – нарушение, 3. – заболевание.

\* в таблицу не включена категория «Патология иммунной системы» по MeSH, которая установлена только для гена *NCF1* (характерна дисфункция фагоцитов).

Второй по частоте поражения при наличии патогенных вариантов в генах КМП являлась костно-мышечная система и соединительная ткань – при мутациях в 24 генах регистрировались аномалии мышц, скелета и соединительной ткани, мышечные дистрофии, миопатии и некоторые другие нарушения (см. табл. 2). В частности, к различным формам миопатии приводят мутации в генах *ACTN2* (врожденная миопатия со структурированными ядрами и аномалиями Z-линии; миопатия дистальная, тип 6, с манифестацией у взрослых), *BAG3* (миопатия, миофибриллярная, тип 6) и др. [22].

Патогенные варианты в генах КМП связаны с развитием и других моногенных заболеваний, проявляющихся патологическими изменениями кожных покровов и волос (в том числе рестриктивная дермопатия, нарушение пигментации кожи, кератоз, «шерстистые» волосы и др.), онкозаболеваниями (меланома, лейкоз и др.), неврологическими расстройствами (нейродегенеративные изменения, судороги, эпилепсия, атаксия, аутизм и др.), метаболическими (изменение липидного обмена, митохондриальная патология, болезни накопления и др.) и эндокринными (патология паращитовидной железы и надпочечников) нарушениями (см. табл. 2), а также различных синдромов, для которых характерен широкий спектр структурно-функциональных расстройств. При этом, с одной стороны, сложные клинические фенотипы регистрируются при некоторых типах КМП, а с другой – кардиомиопатии (или другие нарушения со стороны миокарда) могут выступать в качестве симптома наследственного заболевания или синдрома [22].

ДКМП, причиной которой являются патогенные варианты в гене *DSP*, сочетается у пациентов с пушистыми волосами и кератодермией; при ДКМП и ГКМП (в обоих случаях причинный вариант локализован в гене *ACTN2*) может регистрироваться некомпактный миокард левого желудочка. КМП как симптом наблюдается при синдроме Барта (регистрируют ДКМП, нейтропению, проксимальную миопатию, задержку физического и моторного развития; причинный ген – *TAFAZZIN*); болезни Данона (ГКМП, миопатия, снижение интеллекта, причинный ген – *LAMP2*); синдроме LEOPARD (характеризуется гипертрофией миокарда, нарушениями параметров электрокардиограммы (ЭКГ), множественными лентиго, гипертелоризмом, стенозом легочной артерии, аномалиями развития половых органов, задержкой роста и глухотой, в качестве причинных могут выступать патогенные варианты генов *PTPN11*, *RAF1*, *BRAF*); синдрому Малуфа (ДКМП, скелетные аномалии, нарушения репродуктивной сферы, задержка интеллектуального развития, причинный ген – *LMNA*),

болезнь Наксоса (аритмогенная дисплазия правого желудочка, кератоз ладоней и подошв и «шерстистые» волосы, причинный ген – *JUP*) и др. [22].

Примечательно, что поражение других систем органов наблюдается при моногенных заболеваниях, причиной которых являются разные гены КМП. Так, нарушения кожных покровов и структуры волос выявлены при аритмогенной правожелудочковой дисплазии (причинный ген – *DSC2*); кардио-кожном синдроме (*BRAF*); летальном акантолитическом буллезном эпидермолизе, ладонно-подошвенном кератозе II (ген *DSP*), синдроме Канту (ген *ABCC9*), рестриктивной дермопатии 2 (ген *LMNA*) и др. Мутации в генах КМП могут приводить к поражению органов чувств в качестве как изолированных фенотипов (гены *EYA4*, *MYO6* – глухота; *CRYAB* – катаракта), так и отдельных симптомов (в генах *GLA*, *PTPN11*, *RAF1*, *BRAF*, *FKTN*) [22].

Онкозаболевания вызывают соматические мутации в гене *BRAF* (аденокарциному, колоректальный рак, меланому, немелкоклеточный рак легкого) и гене *PTPN11* (ювенильный миеломоноцитарный лейкоз), а патогенные варианты в гене *SDHA* приводят к параганглиоме 5. Кроме того, следует отметить, что для синдромов, вызванных мутациями в генах КМП, наблюдаются пороки развития различных систем органов, отставание в физическом и интеллектуальном развитии, нарушения в репродуктивной системе [22].

Как уже отмечалось, приведенные в MeSH данные о фенотипических проявлениях при моногенных заболеваниях, вызванных мутациями в генах КМП, нельзя рассматривать исчерпывающими, и по мере более детального описания таких пациентов их фенотипические особенности и, соответственно, сфера компетенции генов будут уточняться. Так, обнаружены значительные связи между патогенными вариантами в гене *PTPN11* и легочным стенозом (как клапанным, так и надклапанным) и дисплазией легочных клапанов [2]. Показано, что дети и молодые взрослые пациенты с синдромом Нуна, имеющие патогенные варианты в гене *PTPN11*, несмотря на худощавое телосложение, характеризуются неблагоприятным метаболическим профилем (низкий уровень липопротеинов высокой плотности, тенденция к повышению уровня триглицеридов, более высокий уровень медианы НОМА-IR, нарушение метаболизма глюкозы согласно тесту на толерантность к глюкозе) [17]. Описаны редкие случаи связанной с патогенными вариантами в гене *ALPK3* детской кардиомиопатии (ДКМП, ГКМП, смешанный фенотип ДКМП/ГКМП с переходом по мере прогрессирования до ГКМП), сочетающиеся с черепно-лицевыми скелетными аномалиями [13].

Расширяется спектр моногенных заболеваний, вызванных патогенными вариантами в генах КМП. Так, на основании особенностей экспрессии и изучения сетей белок-белкового взаимодействия с использованием инструментов *in silico* ген *TTN* рассматривается в качестве кандидата для артрогрипоза типа 10 (врожденного заболевания опорно-двигательной системы, проявляющееся контрактурами суставов, недоразвитием мышц, поражением спинного мозга) [26].

В целом на основании обобщения данных о фенотипических особенностях моногенных заболеваний, обусловленных патогенными вариантами в генах КМП, с учетом функциональной связанности кодируемых ими белков, можно ожидать вовлеченность данных генов в нормальную изменчивость и в формирование предрасположенности к патологическим состояниям сердечно-сосудистой, костно-мышечной, нервной, эндокринной и других систем органов. Признаки, связанные с данными системами органов, могут представлять интерес для более детального изучения у пациентов с различными КМП, в том числе и с моногенными формами.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на неполноту данных (вследствие особенностей формирования любых информационных ресурсов), приведенные сведения позволяют сделать несколько обобщений. Во-первых, очевидно, что гены КМП обладают плеiotропизмом, и локализованные в них патогенные варианты могут приводить к нарушениям в различных системах органов. Во-вторых, экспрессия в различных органах и функциональная связанность белков, кодируемых генами КМП, предполагают участие многих генов в определении структурно-функциональных особенностей систем органов, для которых регистрировались изменения при уже известных моногенных заболеваниях. В-третьих, моногенные заболевания вызывают патогенные варианты генов с сильным эффектом и, соответственно, характеризуются крайними фенотипическими проявлениями (даже при условии неполной пенетрантности и экспрессивности). Отсюда следует, что полиморфные варианты этих же генов могут вносить определенный вклад в нормальную изменчивость признаков соответствующих систем органов и участвовать в формировании полигенной основы детерминации различных болезней.

Это положение подтверждается данными широкогеномных ассоциативных исследований (GWAS), согласно которым полиморфные варианты генов КМП вовлечены в формирование изменчивости не только параметров, отражающих функциональное

состояние сердечно-сосудистой системы (ЭКГ- и ЭхоКГ-параметров, артериального давления и др.), но и нарушений различных систем органов (эндокринной, мочеполовой, костно-мышечной, органов зрения и слуха и др.), биохимических показателей и клеточного состава крови [27]. На наш взгляд, с учетом сложности генетической детерминации (от моногенного до полигенного компонента), неполной пенетрантности и экспрессивности генетических вариантов, возможного модифицирующего влияния различных генетических факторов на клиническую картину КМП [25, 28, 29] этот аспект в дальнейшем требует более детального рассмотрения.

Кроме того, приведенные данные определяют и некоторые важные направления исследований, которые в дальнейшем могут иметь существенную клиническую значимость. Прежде всего, это касается детального клинического обследования пациентов с диагностированным наследственным заболеванием, причиной которого являются или могут являться гены КМП. Обследование должно быть комплексным и не ограничиваться подробной характеристикой ранее описанных симптомов и традиционно обследуемых показателей / систем органов. Так, V. Lodato с соавт. [3] отмечают, что врачи, наблюдающие за КМП у детей, могут столкнуться с самыми «причудливыми сценариями». И для диагностики патологии необходимы знания в области кардиологии, педиатрии, с учетом особенностей метаболизма, рентгенологических данных и генетических особенностей (как клинических, так и молекулярных) и персонализированный подход. По мере накопления таких данных можно будет выделить клинически и прогностически значимые признаки для КМП и других моногенных заболеваний, связанных с генами КМП, а также те маркеры, которые могут способствовать фенотипическому проявлению патогенного варианта. Детальное фенотипическое описание пациентов важно для уточнения эффектов, выявляемых при проведении молекулярно-генетического обследования редких вариантов генов КМП, а также вариантов с неопределенной клинической значимостью (VUS). Такой подход может в дальнейшем позволить своевременно выявлять группы риска и управляемые триггеры, способствующие проявлению патогенных вариантов.

Настоящее исследование базировалось на основании анализа генов КМП. В то же время нам представляется целесообразной оценка сферы компетенции генов и для других моногенных заболеваний, а также более глубокое комплексное обследование индивидов с установленным или подозреваемым диагнозом различных наследственных болезней.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Nussinov R., Tsai C.J., Jang H. Protein ensembles link genotype to phenotype. *PLoS Comput. Biol.* 2019;15(6):e1006648. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006648.
- Leoni C., Blandino R., Delogu A.B., De Rosa G., Onesimo R., Verusio V. et al. Genotype-cardiac phenotype correlations in a large single-center cohort of patients affected by RASopathies: Clinical implications and literature review. *Am. J. Med. Genet. A.* 2022;188(2):431–445. DOI: 10.1002/ajmg.a.62529.
- Lodato V., Parlapiano G., Cali F., Silvetti M.S., Adorisio R., Armando M. et al. Cardiomyopathies in children and systemic disorders when is it useful to look beyond the heart? *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2022;9(2):47. DOI: 10.3390/jcdd9020047.
- Cerrone M., Remme C.A., Tadros R., Bezzina C.R., Delmar M. Beyond the one gene-one disease paradigm: complex genetics and pleiotropy in inheritable cardiac disorders. *Circulation.* 2019;140(7):595–610. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035954.
- Hershberger R.E., Cowan J., Jordan E., Kinnamon D.D. The complex and diverse genetic architecture of dilated cardiomyopathy. *Circ Res.* 2021;128(10):1514–1532. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318157.
- McKenna W.J., Judge D.P. Epidemiology of the inherited cardiomyopathies. *Nat. Rev. Cardiol.* 2021;18(1):22–36. DOI: 10.1038/s41569-020-0428-2.
- Brieler J., Breeden M.A., Tucker J. Cardiomyopathy: an overview. *Am. Fam. Physician.* 2017;96(10):640–646.
- El Hadi H., Freund A., Desch S., Thiele H., Majunke N. Hypertrophic, dilated, and arrhythmogenic cardiomyopathy: Where are we? *Biomedicine.* 2023;11(2):524. DOI: 10.3390/biomedicine11020524.
- Povysil G., Chazara O., Carss K.J., Deevi S.V.V., Wang Q., Armisen J. et al. Assessing the role of rare genetic variation in patients with heart failure. *JAMA Cardiol.* 2021;6(4):379–386. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.6500.
- Kozioł K.J., Aronow W.S. Peripartum cardiomyopathy: current understanding of pathophysiology, diagnostic work-up, management, and outcomes. *Curr. Probl. Cardiol.* 2023;48(8):101716. DOI: 10.1016/j.cpcardiol.2023.101716.
- Paul C., Peters S., Perrin M., Fatkin D., Amerena J. Non-ischaemic dilated cardiomyopathy: recognising the genetic links. *Intern. Med. J.* 2023;53(2):178–185. DOI: 10.1111/imj.15921.
- Комиссарова С.М., Ринейская Н.М., Чакова Н.Н., Ниязова С.С. Смешанный фенотип: некомпактный миокард левого желудочка и гипертрофическая кардиомиопатия. *Кардиология.* 2020;60(4):137–145. DOI: 10.18087/cardio.2020.4.n728.
- Ding W.W., Wang B.Z., Han L., Li Z.P., Zhang W., Wang H. et al. ALPK3 gene-related pediatric cardiomyopathy with craniofacial-skeletal features: a report and literature review. *Zhonghua Er Ke Za Zhi – Chinese Journal of Pediatrics.* 2021;59(9):787–792. [Chinese]. DOI: 10.3760/cma.j.cn112140-20210222-00150.
- Gonçalves L., Pires I., Santos J., Correia J., Neto V., Moreira D. et al. One genotype, two phenotype: Hypertrophic cardiomyopathy with left ventricular non-compaction. *Cardiol. J.* 2022;29(2):366–367. DOI: 10.5603/Cj.2022.0020.
- Joury A., Faaborg-Andersen C., Quintana R.A., da Silva-de-Abreu A., Nativi-Nicolau J. Diagnostic tools for cardiac amyloidosis: a pragmatic comparison of pathology, imaging and laboratories. *Curr. Probl. Cardiol.* 2023;48(5):101106. DOI: 10.1016/j.cpcardiol.2022.101106.
- Simple ClinVar. URL: <https://simple-clinvar.broadinstitute.org/>
- Noronha R.M., Villares S.M.F., Torres N., Quedas E.P.S., Homma T.K., Albuquerque E.V.A. et al. Noonan syndrome patients beyond the obvious phenotype: A potential unfavorable metabolic profile. *Am. J. Med. Genet. A.* 2021;185(3):774–780. DOI: 10.1002/ajmg.a.62039.
- Римская Е.М., Новиков П.С., Салами Х.Ф., Голицын С.П. Синдром Бругада и синдром ранней реполяризации: различные клинические формы синдрома J-волны на примере одной семьи. *Кардиологический вестник.* 2022;17(2):81–87. DOI: 10.17116/Cardiobulletin20221702181.
- Yu C., Deng X.J., Xu D. Gene mutations in comorbidity of epilepsy and arrhythmia. *J. Neurol.* 2023;270(3):1229–1248. DOI: 10.1007/s00415-022-11430-2.
- Tissue expression database. URL: <https://tissues.jensenlab.org/>
- STRING. URL: <https://string-db.org/>
- Online Mendelian Inheritance in Man. URL: <https://omim.org/>
- Yoneda Z.T., Anderson K.C., Quintana J.A., O'Neill M.J., Sims R.A., Glazer A.M. et al. Early-onset atrial fibrillation and the prevalence of rare variants in cardiomyopathy and arrhythmia genes. *JAMA Cardiol.* 2021;6(12):1371–1379. DOI: 10.1001/jamacardio.2021.3370.
- Cipriani A., Perazzolo Marra M., Bariani R., Mattesi G., Vio R., Bettella N. et al. Differential diagnosis of arrhythmogenic cardiomyopathy: phenocopies versus disease variants. *Minerva Med.* 2021;112(2):269–280. DOI: 10.23736/S0026-4806.20.06782-8.
- Salakhov R.R., Golubenkov M.V., Valiakhmetov N.R., Pavlyukova E.N., Zarubin A.A., Babushkina N.P. et al. Application of long-read nanopore sequencing to the search for mutations in hypertrophic cardiomyopathy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(24):15845. DOI: 10.3390/ijms232415845.
- Biswas A., Nath S.D., Ahsan T., Hossain M.M., Akhteruzzaman S., Sajib A.A. *TTN* as a candidate gene for distal arthrogryposis type 10 pathogenesis. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2022;20(1):119. DOI: 10.1186/s43141-022-00405-5.
- GWAS Catalog. The NHGRI-EBI Catalog of human genome-wide association studies. URL: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>
- Кучер А.Н., Валиахметов Н.Р., Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Павлюкова Е.Н., Назаренко М.С. Фенотипическая вариабельность гипертрофической кардиомиопатии у носителей патогенного варианта p.Arg870His гена *MYH7*. *Бюллетень сибирской медицины.* 2022;21(3):205–216. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-3-205-216. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-3-205-216.
- Кучер А.Н., Слепцов А.А., Назаренко М.С. Генетический ландшафт дилатационной кардиомиопатии. *Генетика.* 2022;58(4):371–387. DOI: 10.31857/S0016675822030080.

## Информация об авторах

**Кучер Аксана Николаевна** – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, г. Томск, aksana-kucher@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3824-3641>

**Назаренко Мария Сергеевна** – д-р мед. наук, руководитель лаборатории популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, г. Томск, maria.nazarenko@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0673-4094>

(✉) **Назаренко Мария Сергеевна**, maria.nazarenko@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 11.05.2023;  
одобрена после рецензирования 20.06.2023;  
принята к публикации 14.09.2023

## Особенности микробиоты легких при туберкулезной инфекции

Орлова Е.А., Огарков О.Б., Колесникова Л.И.

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (НЦ ПЗСРЧ)  
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16

### РЕЗЮМЕ

Микробиота легких представляет собой маятник, который колеблется между двумя статическими состояниями – от небольшого количества транзитных микробов в норме до моделей устойчивой микробной колонизации при патологии. Микробиота легких остается малоизученной и загадочной частью патогенеза туберкулезной инфекции.

В настоящем обзоре отражены общие патогенетические механизмы влияния микробиоты легких при респираторной патологии и представлены основные методологические трудности в изучении легочного микробиома. Рассмотрены результаты доступных исследований, посвященных изучению особенностей микробного разнообразия легких человека при туберкулезе с применением методов метагеномного секвенирования. Несмотря на высокую вариабельность представленных данных, дисбиоз при туберкулезе чаще характеризуется снижением бактериального разнообразия и обогащением легочной микробиоты анаэробными представителями. *Acinetobacter*, *Campylobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* и *Streptococcus*, а также некоторые другие микроорганизмы указываются как важные патогенетические факторы дисбиоза при туберкулезе легких, роль которых еще предстоит выяснить.

**Ключевые слова:** микробиота, микробиом, легкие, туберкулез, метагеномика

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

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках темы государственного задания № 121022500179-0.

**Для цитирования:** Орлова Е.А., Огарков О.Б., Колесникова Л.И. Особенности микробиоты легких при туберкулезной инфекции. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):166–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-166-175>.

## Features of the lung microbiota in tuberculosis infection

Orlova E.A., Ogarkov O.B., Kolesnikova L.I.

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (SC FHHRP)  
16, Timiryazeva Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

### ABSTRACT

Normal lung microbiota is a small number of transient microbes; however, respiratory pathology may be associated with persistent microbial colonization of the lungs. It remains a poorly understood and mysterious part of the pathogenesis of tuberculosis infection.

The review considers the general pathogenetic mechanisms of the effect of lung microbiota in respiratory pathology and presents the main methodological difficulties in the study of the lung microbiome. This review is aimed at analyzing the results of the available studies on diverse microbial composition of human lungs in tuberculosis using metagenomic sequencing methods. Despite high variability of the presented data, we can conclude that dysbiosis in tuberculosis is more often characterized by a decrease in bacterial diversity and enrichment of lung microbiota with anaerobic bacteria. *Acinetobacter*, *Campylobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, and *Streptococcus*, as well as some other microorganisms are indicated as important pathogenetic factors of dysbiosis in pulmonary tuberculosis, the role of which is yet to be elucidated.

**Keywords:** microbiota, microbiome, lungs, tuberculosis, metagenomics

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

**Source of financing.** The study was carried out within state assignment No. 121022500179-0.

**For citation:** Orlova E.A., Ogarkov O.B., Kolesnikova L.I. Features of the lung microbiota in tuberculosis infection. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):166–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-166-175>.

## ВВЕДЕНИЕ

Современные подходы, в том числе исследования на основе метагеномного секвенирования, подтвердили существование микробиоты легкого – сообщества микроорганизмов, колонизирующих ткани легкого. Она отличается от микробиоты других биотопов человеческого организма низкой биомассой и динамичным разнообразием своего состава, поскольку дыхательные пути являются гетерогенной средой с низким содержанием питательных веществ, высоким уровнем фосфолипидов, антимикробных пептидов и клеток иммунной системы, препятствующих микробной колонизации [1]. Низкая бактериальная нагрузка в легких поддерживается физиологически, чтобы обеспечить эффективный газообмен.

Микробиота легких, наряду с микробиотой желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), вносит значительный вклад в развитие респираторных заболеваний и, таким образом, может рассматриваться как патогенетический фактор. При этом нарушается баланс между микробной иммиграцией и элиминацией, а состав микробиоты легких различается в зависимости от патологии. Наиболее изученные изменения микробиоты легких связаны с обострением хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [2], астмы [3], муковисцидоза [4], обструктивного апноэ [5] и легочных инфекций [6]. Менее изучены легочные дисбиозы при вирусе иммунодефицита человека (ВИЧ) [7] и разных формах рака легкого [8].

Несмотря на то что туберкулез (ТБ) остается одним из ведущих инфекционных заболеваний легких, количество доступных работ, посвященных микробиоте легкого при ТБ, остается весьма ограниченным в отличие от изменений кишечного, кожного,

урогенитального микробиомов. Ранее нами были обнаружены сапрофитические бациллы *Bacillus licheniformis* и *Brevibacillus* spp. в составе биопленок при посеве мокроты от больных ТБ легких [9, 10], а с помощью секвенирования ДНК изучено микробное разнообразие казеозного некроза хирургически иссеченных туберкулезных очагов [11]. Кроме этого, отечественные исследования были посвящены бактериологическому анализу микробиоты бронхов у больных ТБ [12] и микробиоты легких у мышей в модели экспериментального ТБ [13].

В настоящее время секвенирование нового поколения и метагеномный анализ стали золотыми стандартами в исследованиях инфекционных заболеваний легких и микробиоты человека [14–16]. Систематический поиск выявил 20 оригинальных исследований, посвященных изучению состава и структуры микробного разнообразия легких при ТБ у людей методами метагеномного секвенирования.

Цель данного обзора заключается в обобщении патогенетических механизмов влияния респираторной микробиоты на здоровье легких и анализе доступных исследований по изучению микробиоты легких человека в контексте легочного ТБ. Отдельное внимание уделено обсуждению уникальных методологических сложностей, возникающих при анализе легочного микробиома (генетического компонента микробиоты).

## МИКРОБИОТА ЛЕГКИХ КАК ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР

В настоящее время микробиота, с одной стороны, рассматривается как фактор, поддерживающий иммунный гомеостаз легких, а с другой стороны, как участник патологического процесса при респираторных заболеваниях.

раторных заболеваниях. Общая закономерность патологического процесса при заболеваниях легких заключается в нарушении биоценоза легкого, который обычно неблагоприятен для размножения бактерий. Условия микробного роста в легких радикально изменяются за счет притока богатой питательными веществами слизи и отека, установления кислородных градиентов [17], увеличения концентрации провоспалительных молекул, способствующих росту бактерий [18], и нарушения местных механизмов иммунной защиты [19]. Нижние дыхательные пути (трахея и легкие) не являются однородной тканью, а состоят из областей с различным уровнем кислорода, pH, температурой, содержанием слизи и популяциями иммунокомпетентных клеток. Патологические изменения в легких также редко носят гомогенный характер. Гораздо чаще образуются участки поврежденной ткани, в которых происходят локальное воспаление и изменение условий микроокружения. В свою очередь, между дисбиозом микробиоты и заболеванием легких устанавливается петля положительной обратной связи. Такие изменения дают дифференциальное преимущество в выживании некоторым видам бактерий и ухудшают рост других, поэтому состав микробиоты легких при разных заболеваниях различается [20].

Несмотря на то что легкие являются сильно аэрируемым органом, в их микробиоте обнаруживаются виды с разными потребностями в кислороде. Бактерии типов Bacteroidota (*Prevotella* и *Porphyromonas*) и Fusobacteriota являются облигатными анаэробами, тогда как Bacillota, Pseudomonadota, Actinomycetota состоят как из облигатно аэробных (*Pseudomonas* и *Neisseria*), так и факультативно (*Streptococcus* и *Haemophilus*) и облигатно анаэробных (*Veillonella*) родов. Снижение уровня кислорода в легких происходит при необратимой обструкции дыхательных путей, когда площадь доступной для газообмена поверхности уменьшается на 90%, что способствует росту анаэробных микроорганизмов [21].

Оптимальная для их усиленного роста анаэробная или обедненная кислородом микросреда формируется при ХОБЛ, эмфиземе, легочном фиброзе и казеозном некрозе в туберкулезном очаге [22]. При воспалении локальный pH в легких может снижаться, что способствует развитию ацидофильных микроорганизмов, например инфекции *Lactobacillus* (тип Bacillota) при ХОБЛ. Общее соотношение между Bacteroidota и Bacillota меняется в пользу последних, поскольку большинство Bacteroidota чувствительны к pH и не могут развиваться в кислой среде [20]. Многочисленные воспалительные метаболиты (катехоламины, воспалительные цитокины), повышен-

ная температура и свободный АТФ также являются факторами роста для некоторых видов бактерий [21].

В здоровых дыхательных путях вырабатывается относительно мало защитной слизи (около 100 мл/сут). Для избегания защитных свойств слизистого слоя некоторыми микроорганизмами применяются специфические механизмы, например формирование биопленок – заключенных в секретируемый полимерный матрикс бактериальных популяций, прикрепленных друг к другу и биотической поверхности [23]. Хотя рост биопленок в здоровом легком остается под сомнением из-за очень низкой бактериальной нагрузки и мукоцилиарного клиренса, при ряде заболеваний биопленки могут иметь патогенетическое значение. У пациентов с муковисцидозом в дыхательных путях наблюдается высокая продукция слизи и нарушение мукоцилиарного клиренса. Повышенная ее продукция приводит к локальным очагам аноксии, повышению температуры и способствует стойкой бактериальной колонизации [21]. Например, области с высоким уровнем слизи обеспечивают дополнительную конкурентную нишу для *Pseudomonas aeruginosa* [24] и нетипируемой *Haemophilus influenzae* [25]. Такая форма дополнительно помогает патогенным бактериям стать более устойчивыми к антибиотикам [23]. Тем не менее, по нашим наблюдениям, современные клинические штаммы *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) в подавляющем большинстве случаев не образуют биопленки *in vitro*, однако способны к их продукции в микст-культурах [9]. Факторы лекарственной устойчивости или окружающая патоген-среда макроорганизма, вероятно, препятствуют продукции биопленок МБТ [10].

Таким образом, дисбиоз легких не всегда играет роль ведущего звена патогенеза респираторных заболеваний, а причинно-следственные отношения могут быть разнонаправлены в зависимости от патологии. Общими патогенетическими механизмами влияния микробиоты на здоровье легких можно назвать: нарушение баланса между иммиграцией и элиминацией микроорганизмов, изменение состава микробиоты за счет микроанатомической дифференциации биотических и абиотических условий, а также использование микроорганизмами специфических, патоген-ассоциированных механизмов.

## МИКРОБИОТА ЛЕГКИХ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ

Несмотря на более чем столетнюю историю изучения МБТ, остаются пробелы в понимании факторов, определяющих патогенез и клинический исход ТБ легких. Важную роль играют разнонаправленные взаимодействия клеток иммунной системы с МБТ [26, 27] и, вероятно, с комменсалами легких [28–30].

В ходе систематического поиска выявлено 20 работ, направленных на анализ особенностей микробиоты легких при ТБ у людей с применением методов метагеномного секвенирования. Более половины из них опубликованы за предыдущие 3 года и не входят в последние доступные обзоры литературы [30, 31].

Анализ полученных в этих исследованиях данных кратко представлен ниже (таблица). Большинство исследований проведено на образцах мокроты с помощью амплификации и секвенирования библиотек гена 16S рРНК. Реже использована жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и проведено метагеномное секвенирование «методом дробовика» (Shotgun). Таким образом, дизайн проведенных исследований налагает определенные ограничения в интерпретации полученных данных. В некоторых случаях результаты исследований высоко вариабельны и противоречивы.

В работах Z. Cui и соавт. [32], F. Valdez-Palomares и соавт. [33] показано, что активное заболевание ТБ связано с более высоким разнообразием таксонов в микробиоте легких. Хотя в большинстве других работ, напротив, сообщается о его снижении [34–39] или незначительном изменении [40–43]. Во многих исследованиях между больными ТБ и контрольной группой обнаружены различия в относительной численности таксонов, иногда определенных вплоть до видового уровня. Хотя трудно сопоставить общую картину между различными исследованиями, в нескольких работах показано, что у ТБ-пациентов микробиота обогащается представителями типов Actinomycetota (по-видимому, за счет обнаружения МБТ) [37, 43] и Pseudomonadota [35, 40, 43], семейства Bacillaceae [36, 44], родов *Acinetobacter* [39, 44], *Campylobacter* [45, 46], *Moraxella* [33, 44], *Pseudomonas* [34, 39], а также видом *Staphylococcus aureus* [38, 47]. Относительно встречаемости типов Bacteroidota [37, 40] и Bacillota [35, 37], родов *Rothia* [42, 44] и *Streptococcus* [35, 41, 48] получены спорные, прямо противоположные друг другу результаты. Многие другие микроорганизмы, такие как *Cupriavidus*, *Porphyromonas*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Selenomonas*, *Fusobacterium*, рассматривались различными авторами как вероятные важные патогенетические факторы при ТБ-инфекции (таблица).

Наблюдаемое при ТБ обогащение легочной микробиоты анаэробами (*Prevotella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Selenomonas*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*) и накопление в легких различных метаболитов анаэробной ферментации связаны с изменением легочного иммунитета и прогрессированием ТБ-инфекции. Так, увеличение доли *Prevotella* в легких коррелирует с концентрацией короткоце-

почечных жирных кислот (пропионата и бутирата) [52]. Эти соединения подавляют продукцию интерферона (IFN)  $\gamma$  и интерлейкина (IL) 17A в ответ на стимуляцию периферических мононуклеаров крови человека антигенами МБТ. Такой иммунологический эффект повышает восприимчивость ВИЧ-инфицированных пациентов к заболеванию ТБ и, возможно, способствует прогрессированию латентного ТБ до активного заболевания. Повышенный уровень легочных короткоцепочечных жирных кислот также связан с индукцией Трег-клеток [53]. Их популяция значительно увеличивается в крови пациентов, больных активным ТБ, подавляет продукцию IFN- $\gamma$  [54] и пролиферацию МБТ-специфических эффекторных Т-клеток [55].

Противотуберкулезное лечение является длительным (не менее 6 мес) и включает комбинацию противотуберкулезных препаратов узкого и широкого спектра действия. Считается, что длительное лечение антибиотиками оказывает долгосрочное пагубное воздействие на структуру и состав микробных сообществ, сосуществующих в организме хозяина. Только одно из проанализированных исследований не подтвердило влияние противотуберкулезных препаратов на микробиоту легкого [50]. Другие работы действительно показали значительное уменьшение микробного разнообразия в процессе лечения противотуберкулезными препаратами [43, 51]. G. Xiao и соавт. продемонстрировали дифференциальный эффект лечения на состав микробного сообщества легких с уменьшением доли *S. aureus*, *Pasteurella multocida*, *E. coli*, *N. gonorrhoeae* и увеличением числа *Prevotella melaninogenica*, *P. jejuni*, *Ralstonia pickettii*, *Neisseria subflava*, *Prevotella intermedia* [38].

В некоторых работах зафиксирована низкая относительная численность самих микобактерий (доля (%) одиночных прочтений из общего метагенома) [36, 40]. Подобный результат был также получен нами в ходе пилотного исследования микробного разнообразия казеозного некроза нескольких туберкулем [11]. Кроме того, Y. Hu и соавт. показали, что существуют различия бактериальных сообществ легких между бактериовыделителями (МБТ+) и ТБ-пациентами с отрицательным результатом мазка (МБТ–) [37]. Подобные изменения в сателлитной микробиоте легкого, по-видимому, играют значимую роль в патофизиологии ТБ, которую еще предстоит выяснить.

## ОГРАНИЧЕНИЯ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЛЕГОЧНОГО МИКРОБИОМА

Необходимо подчеркнуть, что исследователи микробиома легкого (как в норме, так и при патологии) сталкиваются с методическими сложностями,

Таблица

## Обзор оригинальных исследований, посвященных микробиоте легких при ТБ у людей

| Источник                               | Тип и число образцов (ТБ) / (Контроль)                  | Метод анализа     | Доминантная микробиота при ТБ  | Таксоны, значимо отличающиеся по численности при ТБ  |
|--|---|-------------------|--|--|
| Z. Cui и соавт. [32], 2012             | Мокрота (31) / Образцы ротоглотки (24)                  | 16S рРНК          | Pseudomonadota ( <i>Phenyllobacterium</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Cupriavidus</i> , <i>Pseudomonas</i> ), Actinomycetota, Crenarchaeota   | ↑ <i>Sphingomonas</i> , <i>Brevundimonas</i> , <i>Diaphorobacter</i> , <i>Mobilicoccus</i> , <i>Brevibacillus</i>  |
| M.K. Cheung и соавт. [40], 2013        | Мокрота (22) / (14)                                     | 16S рРНК          | Bacillota ( <i>Streptococcus</i> ), Pseudomonadota ( <i>Neisseria</i> ), Bacteroidota ( <i>Prevotella</i> ), Actinomycetota ( <i>Actinomyces</i> ), Fusobacteriota ( <i>Fusobacterium</i> , <i>Leptotrichia</i> )  | ↑ Pseudomonadota, Bacteroidota, <i>Mogibacterium</i> , <i>Moryella</i> , <i>Oribacterium</i>   |
| J.Wu и соавт. [34], 2013               | Мокрота (75) / Образцы ротоглотки (20)                  | 16S рРНК          | Bacillota ( <i>Streptococcus</i> , <i>Gramulicatella</i> ), Pseudomonadota ( <i>Pseudomonas</i> )  | ↑ <i>Pseudomonas</i>   |
| L.E. Botero и соавт. [41], 2014        | Насальные пробы, образцы ротоглотки и мокроты (6) / (6) | 16S рРНК          | Bacillota, Bacteroidota, Pseudomonadota, Actinomycetota, Fusobacteriota  | ↑ Streptococcaceae   |
| Y. Zhou и соавт. [49], 2015            | БАЛ (32) / Слюна (24)                                   | 16S рРНК          | Pseudomonadota ( <i>Cupriavidus</i> , <i>Acinetobacter</i> ), Actinomycetota ( <i>Mycobacterium</i> ), Bacteroidota ( <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> )   | ↑ <i>Mycobacterium</i> , <i>Porphyromonas</i>  |
| P. Krishna и соавт. [44], 2016         | Мокрота (25) / (16)                                     | 16S рРНК          | Pseudomonadota ( <i>Neisseria</i> ), Bacillota ( <i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i> ), Fusobacteriota, Actinomycetota, Bacteroidota   | ↑ <i>Corynebacterium</i> , <i>Atorobium</i> , <i>Rothia mucilaginosa</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Veillonella dispar</i> , <i>Lautropia</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Moraxella</i> |
| J.A. Vázquez-Pérez и соавт. [35], 2020 | БАЛ (6) / (10)  | 16S рРНК          | Bacillota, Pseudomonadota, Bacteroidota, Actinomycetota, Fusobacteriota, Cyanobacteriota   | ↑ Pseudomonadota, Bacillota<br>↓ <i>Streptococcus</i><br>Только при ТБ встречаются <i>Lactococcus</i> и <i>Leuconostoc</i>   |
| Y. Hu и соавт. [37], 2020              | БАЛ (6 МБТ-ТБ) / (6 МБТ-ТБ)                             | Shotgun, 16S рРНК | Actinomycetota ( <i>Mycobacterium</i> , <i>Rothia</i> , <i>Actinomyces</i> ), Bacillota ( <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> ), Pseudomonadota ( <i>Pseudomonas</i> ), Bacteroidota, Fusobacteriota  | ↑ Actinomycetota, в особенности <i>Mycobacterium</i><br>↓ Bacillota, Bacteroidota  |
| Y. Hu и соавт. [36], 2020              | БАЛ (12) / –  | 16S рРНК          | Bacillota  | ↑ <i>Mycobacterium</i> , Bacillaceae, в особенности <i>Apoxybacillus</i>   |
| C. Sala и соавт. [50], 2020            | Мокрота (30) / (30)                                     | 16S рРНК          | Actinomycetota, Bacteroidota, Bacillota, Fusobacteriota, Pseudomonadota  | Не выявлено  |
| Е.А. Орлова и соавт. [11], 2021        | Биопсия (12) / –  | ПЦР, 16S рРНК     | Bacillota ( <i>Streptococcus</i> ), Actinomycetota ( <i>Mycobacterium</i> ), Pseudomonadota ( <i>Pseudomonas</i> , <i>Brevundimonas</i> , <i>Pelomonas</i> )   | Не проводилось   |
| D.P. Kateete и соавт. [51], 2021       | Мокрота (120) / –                                       | 16S рРНК          | Bacteroidota ( <i>Prevotella</i> , <i>Alloprevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> ), Bacillota ( <i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Gemella</i> ), Pseudomonadota ( <i>Haemophilus</i> , <i>Neisseria</i> ), Fusobacteriota ( <i>Fusobacterium</i> ), Actinomycetota ( <i>Rothia</i> ) | Не проводилось   |

|   |   |                      |  |   |
|---|---|----------------------|--|---|
| M. HaileMariam и соавт. [42], 2021      | Мокрота<br>(72) / (54)                    | 16S pPHK             | Bacillota ( <i>Streptococcus</i> ), Pseudomonadota ( <i>Haemophilus</i> ),<br>Actinomycetota ( <i>Rothia</i> , <i>Atopobium</i> )  | ↑ <i>Haemophilus</i><br>↓ <i>Rothia</i>   |
| F. Valdez-Palomares и соавт. [33], 2021 | Мокрота<br>(39) / (6)                     | 16S pPHK             | Bacillota ( <i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i> ), Bacteroidota ( <i>Prevotella</i> ),<br>Pseudomonadota ( <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> ), Fusobacteriota,<br>Actinomycetota  | ↑ <i>Ralstonia</i> , <i>Moraxella</i>   |
| L. Ding и соавт. [47], 2021             | БАЛ (101) / –                             | Shotgun              | Pseudomonadota, Bacillota, Bacteroidota, Actinomycetota  | ↑ <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| M.R. Ticla и соавт. [46], 2021          | Мокрота (334) / –                         | 16S pPHK,<br>Shotgun | Bacillota ( <i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i> ), Pseudomonadota<br>( <i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Lautropia</i> ), Bacteroidota<br>( <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> ), Fusobacteriota ( <i>Fusobacterium</i> ),<br>Actinomycetota ( <i>Rothia</i> ), Saccharibacteria, Spirochaetes,<br>Gracilibacteria, Absconditabacteria, Tenericutes | ↑ <i>Campylobacter</i>  |
| G. Xiao и соавт. [38], 2022             | БАЛ (38) / БАЛ, образцы<br>ротолотки (15) | Shotgun              | Pseudomonadota ( <i>K. pneumoniae</i> , <i>Pasteurella multocida</i> ,<br><i>Escherichia coli</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ), Bacillota ( <i>S. aureus</i> )   | ↑ <i>S. aureus</i> , <i>N. gonorrhoeae</i>  |
| V. Ueckermann и соавт. [39], 2022       | Мокрота, БАЛ<br>(20) / (51)               | 16S pPHK             | Pseudomonadota (Burkholderiaceae, Enterobacteriaceae,<br>Neisseriaceae), Bacillota (Lachnospiraceae, Veillonellaceae,<br>Peptostreptococcaceae, Staphylococcaceae), Actinomycetota<br>(Micrococccaceae, Microbacteriaceae, Bifidobacteriaceae,<br>Norcardia, Actinomycetaceae), Bacteroidota (Prevotellaceae)  | ↑ <i>Achromobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> ,<br><i>Stenotrophomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> ,<br><i>Mycobacterium</i> |
| M. Zhang и соавт. [43], 2022            | БАЛ<br>(23) / (13)                        | 16S pPHK             | Bacteroidota, Bacillota, Pseudomonadota, Actinomycetota  | ↑ Pseudomonadota,<br>Actinomycetota, Acidobacteria,<br>Chloroflexi, AD3   |
| X. Xia и соавт. [45], 2022              | БАЛ<br>(21) / (57)                        | 16S pPHK             | Bacillota, Bacteroidota, Pseudomonadota, Actinomycetota,<br>Fusobacteriota   | ↑ <i>Mycobacterium</i> , <i>Selenomonas</i> ,<br><i>Lactobacillus</i> , <i>Leptotrichia</i> ,<br><i>Campylobacter</i>     |

Примечание. ↑ – численность таксона увеличена, ↓ – численность таксона уменьшена, ↓↓ – численность таксона значительно уменьшена.

уникальными для этой ниши. Практически все работы по изучению микробиоты легких сосредоточены на изучении образцов мокроты или жидкости БАЛ, и существуют значительные технические сложности отбора образцов из нижних дыхательных путей. Хотя одни исследования выявляют в целом минимальную контаминацию образцов, полученных при бронхоскопии, микробиотой верхних дыхательных путей [56], другие работы демонстрируют, что пробы могут быть значительно контаминированы бактериями носоглотки [57]. Это налагает значительные ограничения в дифференцировании микробиоты легких от микробиоты верхних дыхательных путей. Инвазивные методы, такие как открытая биопсия легкого, позволяют получить более достоверный материал для исследования [11, 58, 59], однако практически всегда труднодоступны. В качестве здоровой ткани таким образом изучали непораженные участки легких от больных разными формами рака, полученные в ходе хирургических операций [58]. Но даже их можно считать условно здоровыми, поскольку пациенты перед операцией получали мощную иммуносупрессивную и антибактериальную терапию, которая может влиять на микробиоту легких пациентов [60].

Стоит также отметить, что чрезвычайно низкая бактериальная нагрузка в здоровом легком приводит к неоптимальному соотношению «сигнал/шум» [61], а способы вычитания шумового компонента до настоящего времени не стандартизованы и отличаются между исследованиями. Под шумом понимается сигнал от бактериальной ДНК, фоновой присутствующей в эндоскопическом, хирургическом стерильном инвентаре, в растворах для экстракции нуклеиновых кислот и т.д. [62]. Образцы с низким абсолютным содержанием бактериальной ДНК в некоторой степени подвержены стохастическим результатам, называемым стохастичностью секвенирования [63].

При изучении метагенома «методом дробовика» секвенируется также ДНК человека, поэтому в образцах дыхательных путей с низкой микробной биомассой подавляющее большинство секвенированных прочтений приходится на геномную ДНК человека [64]. Хотя секвенирование библиотек ампликонов гена 16S рРНК позволяет анализировать таксономический состав в некоторых случаях до уровня вида [65], амплификация ДНК, лежащая в его основе, также ограничивает общую картину микробиома таксонами с изначально высокой численностью. К тому же клеточные стенки некоторых микроорганизмов (например, микобактерий, грибов, капсульных форм бактерий) оказываются в принципе устойчивы к стандартным методикам выделения ДНК [66]. Из этих соображений У. Ну и соавт. полагают, что

секвенирование ампликонов гена 16S рРНК является неоптимальным методом изучения микробиома при ТБ, поскольку связано с техническими ограничениями амплификации и секвенирования 16S рРНК микобактерий [37].

«Биогеография» легких – микроанатомические различия в их микробном разнообразии, – может быть причиной систематической ошибки в исследованиях в зависимости от метода сбора БАЛ (инвазивный или неинвазивный) и места забора. Проведенные исследования содержат спорные результаты [56, 67]. Исходя из этого, при планировании эксперимента требуются тщательнейший подбор условий для всех стадий пробоподготовки биологического материала и особая осторожность при интерпретации результатов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метагеномика становится все более активно используемым подходом для изучения особенностей патогенеза и диагностики респираторных заболеваний. Хотя изучение микробиома легкого первоначально не вошло в проект «Микробиом человека», за последние 10 лет накоплено достаточно данных, указывающих на участие динамичного олигобактериального сообщества легких в патогенезе ТБ. Однако различия в исследуемых группах, типах клинических образцов и методах анализа все еще не позволяют сделать однозначные выводы об изменении состава и структуры микробиоты легкого при заболевании. Каждое исследование находит компромисс между чувствительностью и специфичностью применяемых методов. Более систематические и подробные работы, например, сочетающие метагеномику с культивированием и фенотипированием микроорганизмов *in vitro*, вероятно, будут способны выявить сложные взаимодействия между МБТ и сателлитной микробиотой легкого, а также помогут определить ее специфические изменения, влияющие на прогноз пациентов с ТБ-инфекцией.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Rogan M.P., Geraghty P., Greene C.M., O'Neill S.J., Taggart C.C., McElvaney N.G. Antimicrobial proteins and polypeptides in pulmonary innate defence. *Respir. Res.* 2006;7(1):29. DOI: 10.1186/1465-9921-7-29.
2. Cvejic L., Harding R., Churchward T., Turton A., Finlay P., Massey D. et al. Laryngeal penetration and aspiration in individuals with stable COPD. *Respirology*. 2011;16(2):269–275. DOI: 10.1111/j.1440-1843.2010.01875.x.
3. Field S.K., Underwood M., Brant R., Cowie R.L. Prevalence of gastroesophageal reflux symptoms in asthma. *Chest*. 1996;109(2):316–322. DOI: 10.1378/CHEST.109.2.316.

4. Scott R.B., O'Loughlin E. V., Gall D.G. Gastroesophageal reflux in patients with cystic fibrosis. *J. Pediatr.* 1985;106(2):223–227. DOI: 10.1016/s0022-3476(85)80291-2.
5. Morse C.A., Quan S.F., Mays M.Z., Green C., Stephen G., Fass R. Is there a relationship between obstructive sleep apnea and gastroesophageal reflux disease? *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2004;2(9):761–768. DOI: 10.1016/s1542-3565(04)00347-7.
6. Koh W.J., Lee J.H., Kwon Y.S., Lee K.S., Suh G.Y., Chung M.P. et al. Prevalence of gastroesophageal reflux disease in patients with nontuberculous mycobacterial lung disease. *Chest.* 2007;131(6):1825–1830. DOI: 10.1378/chest.06-2280.
7. Beck J.M., Schloss P.D., Venkataraman A., Twigg H., Jablonski K.A., Bushman F.D. et al. Multicenter comparison of lung and oral microbiomes of HIV-infected and HIV-uninfected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015;192(11):1335–1344. DOI: 10.1164/rccm.201501-0128OC.
8. Kovaleva O.V., Kushlinskii N.E., Podlesnaya P.A., Stilidi I.S., Gratchev A.N. Diagnostic and prognostic potential of the resident non-small cell lung cancer microbiome. *Klin. Lab. Diagn.* 2022;67(8):458–462. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-8-458-462.
9. Огарков О.Б., Бадлеева М.В., Белькова Н.Л., Адельшин Р.В., Цыренова Т.А., Хромова П.А. и др. Феномен образования биопленок штаммами *Brevibacillus* spp. и *Bacillus* spp. в присутствии клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2017;35(3):103. DOI: 10.18821/0208-0613-2017-35-3-98-103.
10. Огарков О., Суздальницкий А., Хромова П., Цыренова Т., Сокольников Н., Жданова С. и др. Продукция биопленок клиническими штаммами возбудителя туберкулеза. *Инфекция и иммунитет.* 2018;8(4):435–440. DOI: 10.15789/2220-7619-2018.
11. Орлова Е.А., Огарков О.Б., Суздальницкий А.Е., Хромова П.А., Синьков В.В., Плотников А.О. и др. Анализ микробного разнообразия казеозного некроза туберкулезных очагов. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2021;39(3):18–24. DOI: 10.17116/molgen20213903118.
12. Пузанов В.А., Комиссарова О.Г., Никоненко Б.В. Бактериальная микробиота нижних отделов кишечника и бронхов у больных туберкулезом. *Туберкулез и болезни легких.* 2020;98(5):37–43. DOI: 10.21292/2075-1230-2020-98-5-37-43.
13. Каюкова С.И., Панова А.Е., Авербах М.М., Никоненко Б.В., Грачева А.Н., Компанцева Н.И. и др. Состояние легочной микробиоты у мышей C57bl/6 в модели экспериментального туберкулеза. *Туберкулез и болезни легких.* 2023;101(2):94–99. DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-2-94-99. 14.
14. Mokrousov I., Chernyaeva E., Vyazovaya A., Sinkov V., Zhuravlev V., Narvskaya O.N. Next-generation sequencing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Emerg. Infect. Dis.* 2016;22(6):1127–1129. DOI: 10.3201/eid2206.152051.
15. Sinkov V.V., Ogarkov O.B., Plotnikov A.O., Gogoleva N.E., Zhdanova S.N., Pervanchuk V.L. et al. Metagenomic analysis of mycobacterial transrenal DNA in patients with HIV and tuberculosis coinfection. *Infect. Genet. Evol.* 2020;77:104057. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104057.
16. Galeeva J., Babenko V., Bakhtyev R., Baklaushev V., Balykova L., Bashkirov P. et al. 16S rRNA gene sequencing data of the upper respiratory tract microbiome in the SARS-CoV-2 infected patients. *Data Br.* 2022;40. DOI: 10.1016/j.dib.2021.107770.
17. Worlitzsch D., Tarran R., Ulrich M., Schwab U., Cekici A., Meyer K.C. et al. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infections of cystic fibrosis patients. *J. Clin. Invest.* 2002;109(3):317–325. DOI: 10.1172/jci13870.
18. Kanangat S., Meduri G.U., Tolley E.A., Patterson D.R., Meduri C.U., Pak C. et al. Effects of cytokines and endotoxin on the intracellular growth of bacteria. *Infect. Immun.* 1999;67(6):2834–2840. DOI: 10.1128/iai.67.6.2834-2840.1999.
19. Segal L.N., Clemente J.C., Tsay J.C.J., Koralov S.B., Keller B.C., Wu B.G. et al. Enrichment of the lung microbiome with oral taxa is associated with lung inflammation of a Th17 phenotype. *Nat. Microbiol.* 2016;1:16031. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.31.
20. Marsland B.J., Gollwitzer E.S. Host-microorganism interactions in lung diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 2014;14(12):827–835. DOI: 10.1038/nri3769.
21. Dickson R.P., Erb-Downward J.R., Martinez F.J., Huffnagle G.B. The microbiome and the respiratory tract. *Annu. Rev. Physiol.* 2016;78:481–504. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021115-105238.
22. Ulrichs T., Kaufmann S.H.E. New insights into the function of granulomas in human tuberculosis. *J. Pathol.* 2006;208(2):261–269. DOI: 10.1002/path.1906.
23. Domingue J.C., Drewes J.L., Merlo C.A., Housseau F., Sears C.L. Host responses to mucosal biofilms in the lung and gut. *Mucosal. Immunol.* 2020;13(3):413–422. DOI: 10.1038/s41385-020-0270-1.
24. Bjarnsholt T., Jensen P.Ø., Fiandaca M.J., Pedersen J., Hansen C.R., Andersen C.B. et al. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr. Pulmonol.* 2009;44(6):547–558. DOI: 10.1002/ppul.21011.
25. Starner T.D., Zhang N., Kim G.H., Apicella M.A., McCray P.B. *Haemophilus influenzae* forms biofilms on airway epithelia: implications in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006;174(2):213–220. DOI: 10.1164/rccm.200509-1459OC.
26. Воронкова О.В., Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Хасанова Р.Р., Наследникова И.О. и др. Особенности иммунного дисбаланса при различных клинкопатогенетических вариантах остро прогрессирующего туберкулеза легких. *Бюллетень сибирской медицины.* 2010;9(3):42–50. DOI: 10.20538/1682-0363-2010-3-42-5027.
27. Urazova O.I., Smolyagina R.R., Churina E.G., Novitskiy V.V. The factors of dendritic cells dysfunction at pulmonary tuberculosis. 2018;25(3):230. DOI: 10.1016/j.pathophys.2018.07.150.
28. Naidoo C.C., Nyawo G.R., Wu B.G., Walzl G., Warren R.M., Segal L.N. et al. The microbiome and tuberculosis: state of the art, potential applications, and defining the clinical research agenda. *Lancet Respir. Med.* 2019;7(10):892–906. DOI: 10.1016/s2213-2600(18)30501-0.
29. Balcells M.E., Yokobori N., Hong B., Corbett J., Cervantes J. The lung microbiome, vitamin D, and the tuberculous granu-

- loma: A balance triangle. *Microb. Pathog.* 2019;131:158–163. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.03.041.
30. Shah T., Shah Z., Baloch Z., Cui X.M. The role of microbiota in respiratory health and diseases, particularly in tuberculosis. *Biomed. Pharmacother.* 2021;143:112108. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112108.
31. Comberiati P., Di Cicco M., Paravati F., Pelosi U., Di Gangi A., Arasi S. et al. The role of gut and lung microbiota in susceptibility to tuberculosis. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(22):12220. DOI: 10.3390/ijerph182212220.
32. Cui Z., Zhou Y., Li H., Zhang Y., Zhang S., Tang S. et al. Complex sputum microbial composition in patients with pulmonary tuberculosis. *BMC Microbiol.* 2012;12:276. DOI: 10.1186/1471-2180-12-276.
33. Valdez-Palomares F., Torrico M.M., Palacios-González B., Soberón X., Silva-Herzog E. Altered microbial composition of drug-sensitive and drug-resistant TB patients compared with healthy volunteers. *Microorganisms.* 2021;9(8):1762. DOI: 10.3390/microorganisms9081762.
34. Wu J., Liu W., He L., Huang F., Chen J., Cui P. et al. Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis. *PLoS One.* 2013;8(12):83445. DOI: 10.1371/journal.pone.0083445.
35. Vázquez-Pérez J.A., Carrillo C.O., Iñiguez-García M.A., Romero-Espinoza I., Márquez-García J.E. et al. Alveolar microbiota profile in patients with human pulmonary tuberculosis and interstitial pneumonia. *Microb. Pathog.* 2020;139:103851. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103851.
36. Hu Y., Kang Y., Liu X., Cheng M., Dong J., Sun L. et al. Distinct lung microbial community states in patients with pulmonary tuberculosis. *Sci. China Life Sci.* 2020;63(10):1522–1533. DOI: 10.1007/s11427-019-1614-0.
37. Hu Y., Cheng M., Liu B., Dong J., Sun L., Yang J. et al. Metagenomic analysis of the lung microbiome in pulmonary tuberculosis – a pilot study. *Emerg. Microbes Infect.* 2020;9(1):1444–1452. DOI: 10.1080/22221751.2020.1783188.
38. Xiao G., Cai Z., Guo Q., Ye T., Tang Y., Guan P. et al. Insights into the unique lung microbiota profile of pulmonary tuberculosis patients using metagenomic next-generation sequencing. *Microbiol. Spectr.* 2022;10(1):e01901-21. DOI: 10.1128/spectrum.01901-21.
39. Ueckermann V., Lebre P., Geldenhuys J., Hoosien E., Cowan D., van Rensburg L.J. et al. The lung microbiome in HIV-positive patients with active pulmonary tuberculosis. *Sci. Rep.* 2022;12(1):8975. DOI: 10.1038/s41598-022-12970-3.
40. Cheung M.K., Lam W.Y., Fung W.Y.W., Law P.T.W., Au C.H., Nong W. et al. Sputum microbiota in tuberculosis as revealed by 16S rRNA pyrosequencing. *PLoS One.* 2013;8(1):e54574. DOI: 10.1371/journal.pone.0054574.
41. Botero L.E., Delgado-Serrano L., Cepeda M.L., Bustos J.R., Anzola J.M., Del Portillo P. et al. Respiratory tract clinical sample selection for microbiota analysis in patients with pulmonary tuberculosis. *Microbiome.* 2014;2:29. DOI: 10.1186/2049-2618-2-29.
42. HaileMariam M., Yu Y., Singh H., Teklu T., Wondale B., Worku A. et al. Protein and microbial biomarkers in sputum discern acute and latent tuberculosis in investigation of pastoral ethiopian cohort. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021;11:595554. DOI: 10.3389/fcimb.2021.595554.
43. Zhang M., Shen L., Zhou X., Chen H. The microbiota of human lung of pulmonary tuberculosis and the alteration caused by anti-tuberculosis drugs. *Curr. Microbiol.* 2022;79(11):321. DOI: 10.1007/s00284-022-03019-9.
44. Krishna P., Jain A., Bisen P.S. Microbiome diversity in the sputum of patients with pulmonary tuberculosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2016;35(7):1205–1210. DOI: 10.1007/s10096-016-2654-4.
45. Xia X., Chen J., Cheng Y., Chen F., Lu H., Liu J. et al. Comparative analysis of the lung microbiota in patients with respiratory infections, tuberculosis, and lung cancer: A preliminary study. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022;12:1024867. DOI: 10.3389/fcimb.2022.1024867.
46. Ticlla M.R., Hella J., Hiza H., Sasamalo M., Mhimbira F., Rutaiwa L.K. et al. The sputum microbiome in pulmonary tuberculosis and its association with disease manifestations: A cross-sectional study. *Front. Microbiol.* 2021;12:633396. DOI: 10.3389/fmicb.2021.633396.
47. Ding L., Liu Y., Wu X., Wu M., Luo X., Ouyang H. et al. Pathogen metagenomics reveals distinct lung microbiota signatures between bacteriologically confirmed and negative tuberculosis patients. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021;11:708827. DOI: 10.3389/fcimb.2021.708827.
48. Nakhaee M., Rezaee A., Basiri R., Soleimanpour S., Ghazvini K. Relation between lower respiratory tract microbiota and type of immune response against tuberculosis. *Microb. Pathog.* 2018;120:161–165. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.04.054.
49. Zhou Y., Lin F., Cui Z., Zhang X., Hu C., Shen T. et al. Correlation between either *Cupriavidus* or *Porphyromonas* and primary pulmonary tuberculosis found by analysing the microbiota in patients' bronchoalveolar lavage fluid. *PLoS One.* 2015;10(5):e0124194. DOI: 10.1371/journal.pone.0124194.
50. Sala C., Benjak A., Goletti D., Banu S., Mazza-Stadler J., Jaton K. et al. Multicenter analysis of sputum microbiota in tuberculosis patients. *PLoS One.* 2020;15(10):e0240250. DOI: 10.1371/journal.pone.0240250.
51. Kateete D.P., Mbabazi M.M., Nakazzi F., Katabazi F.A., Kigozi E., Ssengooba W. et al. Sputum microbiota profiles of treatment-naïve TB patients in Uganda before and during first-line therapy. *Sci. Rep.* 2021;11(1):24486. DOI: 10.1038/s41598-021-04271-y.
52. Segal L.N., Clemente J.C., Li Y., Ruan C., Cao J., Danckers M. et al. Anaerobic bacterial fermentation products increase tuberculosis risk in antiretroviral treated HIV-patients. *Cell. Host. Microbe.* 2017;21(4):530–537. DOI: 10.1016/j.chom.2017.03.003.
53. Trompette A., Gollwitzer E.S., Yadava K., Sichelstiel A.K., Sprenger N., Ngom-Bru C. et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat. Med.* 2014;2(2):159–166. DOI: 10.1038/nm.3444.
54. Ribeiro-Rodrigues R., Resende Co T., Rojas R., Toossi Z., Dietze R., Boom W.H. et al. A role for CD4+CD25+ T cells in regulation of the immune response during human tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.* 2006;144(1):25–34. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2006.03027.x.
55. Sharma P.K., Saha P.K., Singh A., Sharma S.K., Ghosh B., Mitra D.K. FoxP3+ regulatory T cells suppress effector

- T-cell function at pathologic site in miliary tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009;179(11):1061–1070. DOI: 10.1164/rccm.200804-529oc.
56. Dickson R.P., Erb-Downward J.R., Freeman C.M., McCloskey L., Beck J.M., Huffnagle G.B. et al. Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015;12(6):821–830. DOI: 10.1513/annalsats.201501-029oc.
  57. Berger G., Wunderink R.G. Lung microbiota: Genuine or artifact? *Isr. Med. Assoc. J.* 2013;15(12):731–733.
  58. Kovaleva O., Podlesnaya P., Rashidova M., Samoilova D., Petrenko A., Zborovskaya I. et al. Lung microbiome differentially impacts survival of patients with non-small cell lung cancer depending on tumor stroma phenotype. *Biomedicines.* 2020;8(9):349. DOI: 10.3390/biomedicines8090349.
  59. Yu G., Gail M.H., Consonni D., Carugno M., Humphrys M., Pesatori A.C. et al. Characterizing human lung tissue microbiota and its relationship to epidemiological and clinical features. *Genome Biol.* 2016;17(1):163. DOI: 10.1186/s13059-016-1021-1.
  60. Carney S.M., Clemente J.C., Cox M.J., Dickson R.P., Huang Y.J., Kitsios G.D. et al. Methods in lung microbiome research. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2020;62(3):283–299. DOI: 10.1165/rcmb.2019-0273tr.
  61. Twigg H.L., Morris A., Ghedin E., Curtis J.L., Huffnagle G.B., Crothers K. et al. Use of bronchoalveolar lavage to assess the respiratory microbiome: signal in the noise. *Lancet Respir. Med.* 2013;1(5):354–356. DOI: 10.1016/s2213-2600(13)70117-6.
  62. Salter S.J., Cox M.J., Turek E.M., Calus S.T., Cookson W.O., Moffatt M.F. et al. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biol.* 2014;12:87. DOI: 10.1186/s12915-014-0087-z.
  63. Charlson E.S., Bittinger K., Haas A.R., Fitzgerald A.S., Frank I., Yadav A. et al. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012;184(8):957–963. DOI: 10.1164/rccm.201104-0655oc.
  64. Marotz C.A., Sanders J.G., Zuniga C., Zaramela L.S., Knight R., Zengler K. Improving saliva shotgun metagenomics by chemical host DNA depletion. *Microbiome.* 2018;6(1):42. DOI: 10.1186/s40168-018-0426-3.
  65. Клименко Е.С., Погодина А.В., Рычкова Л.В., Белькова Н.Л. Возможность таксономической идентификации бифидобактерий на основании различных вариабельных районов гена 16S рРНК. *Генетика.* 2020;56(8):904–914. DOI: 10.31857/s001667582008007x.
  66. Sulaiman I., Wu B.G., Li Y., Scott A.S., Malecha P., Scaglione B. et al. Evaluation of the airway microbiome in nontuberculous mycobacteria disease. *Eur. Respir. J.* 2018;52(4):1800810. DOI: 10.1183/13993003.00810-2018.
  67. Erb-Downward J.R., Thompson D.L., Han M.K., Freeman C.M., McCloskey L., Schmidt L.A. et al. Analysis of the lung microbiome in the “healthy” smoker and in COPD. *PLoS One.* 2011;6(2):e16384. DOI: 10.1371/journal.pone.0016384.

## Информация об авторах

**Орлова Елизавета Андреевна** – аспирант, мл. науч. сотрудник, лаборатория эпидемиологически и социально значимых инфекций, Институт эпидемиологии и микробиологии, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, elizaveta.a.orlova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

**Огарков Олег Борисович** – д-р мед. наук, директор Института эпидемиологии и микробиологии, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

**Колесникова Любовь Ильинична** – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, науч. руководитель НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

(✉) **Орлова Елизавета Андреевна**, elizaveta.a.orlova@gmail.com

Поступила в редакцию 07.09.2023;  
одобрена после рецензирования 22.09.2023;  
принята к публикации 16.11.2023

# 300 ЛЕТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

**Праздничный вечер, посвященный 300-летию Российской академии наук, состоялся в Государственном Кремлевском дворце 8 февраля 2024 года. Событие собрало ведущих ученых страны. Отечественных исследователей поздравили с юбилеем президент России Владимир Владимирович Путин и президент РАН Геннадий Яковлевич Красников.**

В ходе официальной части праздника состоялось вручение государственных наград выдающимся академикам и премий президента в области науки и инноваций для молодых ученых. Вечер продолжился масштабным праздничным концертом, отразившим историю развития Российской академии наук и отечественной культуры в музыке, танцах, балете и костюмированных постановках.

Президент страны перечислил важнейшие планируемые преобразования в деятельности Российской академии наук. В первую очередь РАН должна активно участвовать в принятии ключевых государственных решений — именно с этой целью ее глава был включен в Совет безопасности Российской Федерации. Планируется, что академия наук будет проводить экспертизу значимых научно-технологических проектов страны, а также школьных и вузовских учебников.

В.В. Путин отметил, что Российской академии наук будет отведена ведущая роль в исследовательских программах по ключевым направлениям, таким как космос, микроэлектроника, квантовые и биотехнологии, генетика. Помимо этого, на РАН возлагается ответственность за деятельность Высшей аттестационной комиссии и диссертационных советов. Президент добавил, что для реализации общих целей академии должны сплоченно работать все региональные отделения и центры РАН. Еще одно важное преобразование — увеличение роли академии наук в проведении фундаментальных исследований. В состав Российской академии наук должны войти Российский центр научной информации и издательство «Наука», основанное в 1727 г. «Отмечу, что общий объем госрасходов на научные исследования и разработки гражданского назначения в ближайшие три года превысит полтора триллиона рублей», — заявил В.В. Путин.



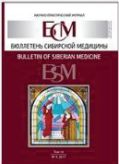
ISSN PRINT: 1682-0363
ISSN ONLINE: 1819-3684
|
Бюллетень сибирской медицины  
Bulletin of Siberian Medicine

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:**

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- Киберленинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на страницах «Бюллетеня 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

