

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 23

№ 2. 2024

Издательский дом Сибирского государственного медицинского университета представляет серию книг «Наследие ТОМСКОЙ МЕДИЦИНЫ»



А.И. Венгеровский, О.Е. Ванзова, Т.М. Плотникова

**АКАДЕМИК
НИКОЛАЙ ВАСИЛЬЕВИЧ
ВЕРШИННИН**



В книге представлены биография и обзор научной, педагогической и общественной деятельности выдающегося фармаколога, академика АМН СССР, заслуженного деятеля науки РСФСР, лауреата Сталинской (Государственной) премии Николая Васильевича Вершинина (1867–1951).

Для врачей, студентов, ученых, всех интересующихся историей медицины.

В книге представлены биография и обзор научной, педагогической и общественной деятельности выдающегося микробиолога, вирусолога и эпидемиолога, академика АМН СССР, заслуженного деятеля науки РСФСР Сергея Петровича Карпова (1903–1976).

Для врачей, студентов, ученых, всех интересующихся историей медицины.



**ВОСПОМИНАНИЯ
О ПРОФЕССОРЕ СУХОДОЛО**



Книга посвящена памяти доктора медицинских наук, профессора Владимира Демьяновича Суходоло (1919–2000), участника обороны Ленинграда, инвалида Великой Отечественной войны, работавшего в Сибирском государственном медицинском университете (СибГМУ, Томском медицинском институте) в 1948–2000 гг. С уважением, восхищением и любовью профессора В.Д. Суходоло вспоминают ученики, коллеги, друзья, члены семьи, родные.

Для тех, кто интересуется историей медицины, Сибирского государственного медицинского университета, Томска.



М.Р. Карпова, С.А. Нскрылов

**АКАДЕМИК
СЕРГЕЙ ПЕТРОВИЧ
КАРПОВ**



БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 23, № 2, 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

Оригинал-макет:

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

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

Подписано в печать 28.06.2024 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 24,75. Усл. печ. л. 24,25.
Тираж 500 экз. Заказ 251.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 28.06.2024.

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. 2, 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

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

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

Signed to print on 28.06.2024
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.s. 24,75. C.p.s. 24,25.
500 copies. Order No. 251.

The price – free.
Date of publication 28.06.2024.

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
Андреевская И.А., Лязгиан К.С., Жуковец И.В., Устинов Е.М. Влияние перенесенной в третьем триместре беременности инфекции COVID-19 на показатели врожденного иммунитета, связь с акушерскими и перинатальными исходами	Andrievskaya I.A., Lyazgiyan K.S., Zhukovets I.V., Ustinov E.M. Effect of COVID-19 infection in the third trimester of pregnancy on innate immunity parameters, association with obstetric and perinatal outcomes
Барило А.А., Смирнова С.В., Синяков А.А. Сенсибилизация к пищевым аллергенам больных псориазом	Barilo A.A., Smirnova S.V., Sinyakov A.A. Food allergen sensitization patterns in psoriasis patients
Белковец А.В., Ожиганова Н.В., Кручинина М.В., Полонская Я.В., Щербаклова Л.В. Анализ серологической диагностики функционального состояния слизистой желудка в клинической практике	Belkovets A.V., Ozhiganova N.V., Kruchinina M.V., Polonskaya Ya.V., Shcherbakova L.V. Analyzing serological screening of the functional state of gastric mucosa in clinical practice
Борщев Ю.Ю., Минасян С.М., Семёнова Н.Ю., Буровенко И.Ю., Борщева О.В., Гриценко Э.Ю., Шептицкий В.А., Суворов А.Н., Галагудза М.М. Влияние про- и метабиотической формы штамма <i>Lactobacillus delbrueckii</i> D5 на устойчивость миокарда к ишемии-реперфузии в условиях системного воспалительного ответа у крыс	Borshchev Yu.Yu., Minasean S.M., Semenova N.Yu., Burovenko I.Yu., Borshcheva O.V., Gritsenko E.Yu., Sheptitsky V.A., Suvorov A.N., Galagudza M.M. Effect of pro- and metabiotic <i>Lactobacillus delbrueckii</i> D5 strain on myocardial resistance to ischemia – reperfusion injury in the rat model of systemic inflammatory response
Дворниченко М.В., Марзоль Е.А., Зиновьев Е.А., Митряйкин Н.С., Хлусов И.А. Состояние и васкуляризация костного мозга при имплантации в диффузионной камере на сосудисто-нервный пучок	Dvornichenko M.V., Marzol E.A., Zinovyev E.A., Mitryaikin N.S., Khlusov I.A. The state and vascularization of the bone marrow transplanted in the diffusion chamber to the rat neurovascular bundle
Жданова Е.В., Рубцова Е.В., Костоломова Е.Г. Клинико-иммунологическая характеристика постковидного синдрома	Zhdanova E.V., Rubtsova E.V., Kostolomova E.G. Clinical and immunological characteristics of post-COVID syndrome
Зыкова М.В., Чжан Ю., Лысенко И.В., Арутюнян Д.А., Азаркина Л.А., Михалев Д.А., Белоусов М.В., Перминова И.В. Восстановление антибиотикочувствительности к линкомицину в составе композиций с наносеребром и гуминовыми веществами	Zykova M.V., Zhang Yun, Lysenko I.V., Arutyunyan D.A., Azarkina L.A., Mikhalev D.A., Belousov M.V., Perminova I.V. Restoring antibiotic sensitivity to lincomycin in compositions with nanosilver and humic substance
Иванова А.А., Апарцева Н.Е., Каширина А.П., Немцова Е.Г., Иванова Ю.В., Кручинина М.В., Курилович С.А., Максимов В.Н. Результаты секвенирования гена <i>UGT1A1</i> у лиц с фенотипом синдрома Жильбера	Ivanova A.A., Apartseva N.E., Kashirina A.P., Nemcova E.G., Ivanova Ju.V., Kurilovich S.A., Kruchinina M.V., Maksimov V.N. Results of <i>UGT1A1</i> gene sequencing in individuals with the Gilbert syndrome phenotype
Лебедева Н.Б., Парфенов П.Г., Егле А.П., Иванов В.И., Галинцев Ю.В., Каишалап В.В., Барбараиш О.Л. Внешняя валидация многофакторной модели прогнозирования риска смерти у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и имплантированным кардиовертером-дефибриллятором	Lebedeva N.B., Parfenov P.G., Egle A.P., Ivanov V.I., Galintsev Yu.V., Kashtalap V.V., Barbarash O.L. External validation of a multivariate model for predicting the risk of death in patients with chronic heart failure and an implantable cardioverter – defibrillator

Парфёнов П.Г., Юркина А.В., Голубовская Д.П., Шустер С.Ю., Дрень Е.В., Гусельникова Ю.И., Лебедева Н.Б., Печерина Т.Б.

Клинико-anamnestические особенности пациентов в зависимости от величины фракции выброса левого желудочка: результаты регистрового исследования COVID-19 на показатели врожденного иммунитета, связь с акушерскими и перинатальными исходами

83

Хоанг Ч.Х., Майсков В.В., Мерай И.А., Кобалава Ж.Д.

Применение индекса коморбидности Чарльсона для оценки прогноза 18-месячной смертности у пациентов с острым инфарктом миокарда

91

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

Боденко В.В., Ларькина М.С., Прач А.А., Плотников Е.В., Белоусов М.В., Чернов В.И.

Молекулярные мишени таргетной терапии злокачественных новообразований

101

Гусева О.В.

Синдром старческой астении и его особенности при болезни Паркинсона

114

Кит О.И., Франциянц Е.М., Шихлярова А.И., Нескубина И.В., Ильченко С.А.

Роль эстрогенов в метаболизме митохондрий

123

Лузанова Е.И., Карпова М.И., Абрамовских О.С., Четвернина Е.А., Куприянов С.В.

Микробиота мочевых путей у пациентов с нейрогенной дисфункцией тазовых органов при рассеянном склерозе

133

Одинцова И.А., Чирский В.С., Слуцкая Д.Р., Андреева Е.А., Березовская Т.И.

Пироптоз и его терапевтический потенциал

142

Орлов С.В., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., Колесник Ю.А., Панченко А.В.

Низшие обезьяны как модельный объект изучения метаболического синдрома

151

Хмелевская Е.С., Перица Е.А., Буйко Е.Е., Уфандеев А.А., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Байков А.Н., Парочкина Е.В., Удот Е.В.

Прецизионная медицина в онкологии: роль и перспективы масс-спектрометрии

162

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Скоблов М.Ю., Савченко Р., Валиахметов Н.Р., Павлюкова Е.Н., Назаренко М.С.

Функциональный анализ новой мутации сплайсинга с.2067+2T>G в гене MYBPC3 при гипертрофической кардиомиопатии

183

Филинчук О.В., Крук Е.А., Тетенева А.В., Логинова Ю.А., Костякова Е.П., Беспалова И.Д., Тетенев К.Ф., Карзилов А.И., Мишустина Е.Л.

Особенности течения муковисцидоза при сочетании *Mycobacterium abscessus* и *Mycobacterium tuberculosis* (клиническое наблюдение)

190

Parfenov P.G., Yurkina A.V., Golubovskaya D.P., Shuster S.Y., Dren E.V., Guselnikova Y.I., Lebedeva N.B., Pecherina T.B.

Clinical and anamnestic characteristics of patients depending on left ventricular ejection fraction: results of a register study

Hoang T.H., Maiskov V.V., Merai I.A., Kobalava Zh.D.

Application of Charlson Comorbidity Index to assess prognosis of 18-month mortality in patients with acute myocardial infarction

REVIEWS AND LECTURES

Bodenko V.V., Larkina M.S., Prach A.A., Plotnikov E.V., Belousov M.V., Chernov V.I.

Molecular targets for metastasis-directed therapy in malignant tumors

Guseva O.V.

Frailty syndrome and its features in Parkinson's disease

Kit O.I., Frantsiyants E.M., Shikhlyarova A.I., Neskubina I.V., Ilchenko S.A.

The role of estrogens in mitochondrial metabolism

Luzanova E.I., Karpova M.I., Abramovskikh O.S., Chetvernina E.A., Kupriyanov S.V.

Urinary tract microbiota in patients with multiple sclerosis and neurogenic pelvic dysfunction

Odintsova I.A., Chirsky V.S., Slutskaya D.R., Andreeva E.A., Berезovskaya T.I.

Monkeys excluding apes as a model for studies on metabolic syndrome

Orlov S.V., Uspensky Yu.P., Fominykh Yu.A., Kolesnik Yu.A., Panchenko A.V.

Prosimians as a model for studies on metabolic syndrome

Khmelevskaya E.S., Perina E.A., Buyko E.E., Ufandeev A.A., Kaidash O.A., Ivanov V.V., Baikov A.N., Parochkina E.V., Udot E.V.

Precision medicine in oncology: role and prospects of mass spectrometry

CLINICAL CASES

Salakhov R.R., Golubenko M.V., Skoblov M.Y., Savchenko R., Valiakhmetov N.R., Pavlyukova E.N., Nazarenko M.S.

Functional analysis of a new splicing mutation in the MYBPC3 gene in hypertrophic cardiomyopathy

Filinyuk O.V., Kruk E.A., Teteneva A.V., Loginova Yu.A., Kostoyakova E.P., Беспалова I.D., Tetenev K.F., Karzilor A.I., Mishustina E.L.

Features of cystic fibrosis development in a patient with coinfection by *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium tuberculosis* (clinical case report)

УДК 618.36:[616.98:578.834.1]-06:612-017.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-5-13>

Влияние перенесенной в третьем триместре беременности инфекции COVID-19 на показатели врожденного иммунитета, связь с акушерскими и перинатальными исходами

Андриевская И.А.¹, Лязгиян К.С.¹, Жуковец И.В.², Устинов Е.М.¹

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

² Амурская государственная медицинская академия (АГМА)
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

РЕЗЮМЕ

Цель. Анализ и сопоставление данных врожденного иммунитета с акушерскими и перинатальными исходами при перенесенной в третьем триместре беременности инфекции COVID-19.

Материалы и методы. В исследование включены две группы: основная – с перенесенной в третьем триместре беременности инфекцией COVID-19 легкого (подгруппа 1, $n = 31$) и среднетяжелого течения (подгруппа 2, $n = 40$), контрольная – женщины, не болевшие COVID-19 в течение всей беременности ($n = 22$). В плазме крови иммуноферментным методом определяли уровень анти-SARS-CoV-2 иммуноглобулинов (Ig) классов M и G, содержание цитокинов фактора некроза опухоли альфа (TNF α), интерлейкина (IL) 6 и интерферона гамма (IFN γ). Клинический анализ крови осуществляли на автоматическом гематологическом анализаторе, экспрессию CD14- и HLA-DR-антигенов в моноцитах – на проточном цитометре, РНК SARS-CoV-2 в образцах плаценты – методом обратной транскрипции полимеразной цепной реакции.

Результаты. Среднетяжелое течение COVID-19 в третьем триместре беременности ассоциировалось с более низким уровнем в крови у матери и в крови пуповины новорожденных анти-SARS-CoV-2 IgG, IFN γ , а также экспрессии моноцитами CD14 и HLA-DR по сравнению с легкой формой заболевания. При легкой форме отмечено повышение количества моноцитов в крови матери. Различий в показателях лейкоцитов и лимфоцитов не выявлено. Также отсутствовали различия по массе тела новорожденных и оценке по шкале Апгар на 1-й мин. На 5-й мин показатели при среднетяжелом течении заболевания были ниже, чем при легкой форме инфекции. Среднетяжелое течение COVID-19 увеличивало риск преждевременных родов, развития церебральной ишемии мозга новорожденных, внутрижелудочковых кровоизлияний и синдрома дыхательных расстройств. Риск внутриутробной SARS-CoV-2 инфекции отсутствовал.

Заключение. Тяжесть течения COVID-19 в третьем триместре беременности связана с дисрегуляцией врожденного иммунитета, что определяет характер акушерских и перинатальных осложнений.

Ключевые слова: COVID-19, врожденный иммунитет, цитокины, акушерские и перинатальные исходы

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 23-25-00049 от 12.01.2023).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ДНЦ ФПД (протокол № 144 от 09.06.2023).

✉ Андриевская Ирина Анатольевна, irina-andrievskaja@rambler.ru

Для цитирования: Андриевская И.А., Лязгиан К.С., Жуковец И.В., Устинов Е.М. Влияние перенесенной в третьем триместре беременности инфекции COVID-19 на показатели врожденного иммунитета, связь с акушерскими и перинатальными исходами. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):5–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-5-13>.

Effect of COVID-19 infection in the third trimester of pregnancy on innate immunity parameters, association with obstetric and perinatal outcomes

Andrievskaya I.A.¹, Lyazgiyan K.S.¹, Zhukovets I.V.², Ustinov E.M.¹

¹ Far Eastern Research Center for Physiology and Pathology of Respiration
22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

² Amur State Medical Academy
95, Gorkogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To analyze and compare parameters of innate immunity with obstetric and perinatal outcomes in patients with COVID-19 in the third trimester of pregnancy.

Materials and methods. The study included 2 groups: the main group encompassed patients with mild (subgroup 1, $n = 31$) and moderate (subgroup 2, $n = 40$) COVID-19 during the third trimester of pregnancy; the control group included women who did not have COVID-19 during pregnancy ($n = 22$). By the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), we determined the level of anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (Ig)M and IgG, tumor necrosis factor alpha (TNF α), interleukin 6 (IL-6), and interferon gamma (IFN γ) in the blood plasma. Complete blood count was performed on the automated hematology analyzer. Expression of CD-14 and HLA-DR antigens in monocytes was analyzed on the flow cytometer. SARS-CoV-2 RNA in placenta samples was detected by the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

Results. A moderate course of COVID-19 in the third trimester of pregnancy was associated with lower levels of anti-SARS-CoV-2 IgG and IFN γ in the maternal blood and umbilical cord blood, as well as by lower expression of CD-14 and HLA-DR by monocytes compared to mild COVID-19. A mild course of the disease was characterized by an increase in the number of monocytes in the maternal blood. No differences in leukocyte and lymphocyte counts were noted. There were also no differences in birth weight and one-minute Apgar score. At 5 minutes, the Apgar scores for moderate COVID-19 were lower than those for mild infection. The moderate course of COVID-19 increased the risk of preterm birth, neonatal cerebral ischemia, intraventricular hemorrhage, and respiratory distress syndrome. No risk of intrauterine SARS-CoV-2 infection was detected.

Conclusion. The severity of COVID-19 in the third trimester of pregnancy is associated with dysregulation of the innate immunity, which determines the nature of obstetric and perinatal complications.

Keywords: COVID-19, innate immunity, cytokines, obstetric and perinatal outcomes

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

Source of financing. The study was funded by the Russian Science Foundation (agreement No. 23-25-00049 of 12.01.2023).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Far Eastern Research Center for Physiology and Pathology of Respiration (Protocol No. 144 of 09.06.2023).

For citation: Andrievskaya I.A., Lyazgiyan K.S., Zhukovets I.V., Ustinov E.M. Effect of COVID-19 infection in the third trimester of pregnancy on innate immunity parameters, association with obstetric and perinatal outcomes. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):5–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-5-13>.

ВВЕДЕНИЕ

С марта 2019 г. мир находился под влиянием пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19), которая вплоть до мая 2023 г. носила глобальный характер [1]. Вирусные мутации и новые варианты коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2) сопряжены с различным клиническим течением заболевания – от легких до тяжелых форм, что связывают с дисфункцией иммунитета [2]. Сообщается, что беременные с COVID-19, особенно с дельта-штаммом, имеют повышенный риск госпитализации и развития тяжелых форм заболевания относительно общей популяции [3].

Согласно другим исследованиям, беременные и небеременные пациенты имеют сходные тенденции к инфицированию и развитию тяжелых проявлений COVID-19 [4]. Также определена роль COVID-19 в развитии хронической плацентарной недостаточности, преждевременных родов и мертворождения [5]. Однако окончательный вывод можно будет сделать только после подведения итогов пандемии.

Считается, что миелоидные клетки (моноциты/макрофаги) принимают непосредственное участие в патогенезе COVID-19. В исследованиях сообщалось о различных вариантах ответа моноцитов на SARS-CoV-2, определяющих развитие системного воспалительного ответа [6], гиперактивацию или отсутствие реакции на интерфероны 1-го типа (IFN-1) в крови и в тканях легких при тяжелом течении заболевания [7]. Авторами отмечены нарушения регуляции врожденного иммунного ответа и снижение экспрессии человеческих лейкоцитарных антигенов класса II (HLA-DR) моноцитами, что считается маркером иммуносупрессии и тяжести COVID-19 [8].

В других исследованиях показаны различия в фенотипах периферических и легочных миелоидных клеток с низкой экспрессией HLA-DR, дисфункциональными моноцитами крови и гиперактивными моноцитами/макрофагами дыхательных путей, продуцирующими провоспалительные цитокины при среднетяжелом и тяжелом течении COVID-19 [9]. Однако то, как беременность может влиять на формирование врожденного иммунитета у матерей и их новорожденных при перенесенной инфекции COVID-19, остается малоизученным, а исследования носят ограниченный характер [10].

Цель работы – анализ и сопоставление данных врожденного иммунитета с акушерскими и перинатальными исходами у матерей с перенесенной в третьем триместре беременности инфекцией COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данное исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и с одобрения Комиссии по биомедицинской этике ДНЦ ФПД (протокол № 144 от 09.06.2023). Все исследуемые подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Клинической базой для исследования было родильное отделение Благовещенской городской клинической больницы. Лабораторные исследования осуществлялись в структурных подразделениях ДНЦ ФПД. С января 2022 по март 2023 г. было обследовано 93 женщины на сроке беременности 35–40 нед: 71 с перенесенной в третьем триместре беременности инфекцией COVID-19 легкого (подгруппа 1, $n = 31$) и среднетяжелого течения (подгруппа 2, $n = 40$) (основная группа) и 22 женщины, не болевшие COVID-19 в течение всей беременности (контрольная группа). Все исследования проведены в период преобладающей циркуляции омикрон-штамма SARS-CoV-2.

Критерии включения для основной группы: одноплодная, спонтанная беременность, COVID-19 в третьем триместре беременности, клиническая симптоматика респираторного заболевания, наличие КТ-1 (компьютерная томография)-признаков вирусной пневмонии на фоне типичной клинической картины и релевантного эпидемиологического анамнеза. Критерии исключения: многоплодная беременность; беременность, наступившая после экстракорпорального оплодотворения; обострение хронических неинфекционных заболеваний; наличие хронических неспецифических заболеваний легких; внелегочные очаги инфекций; наличие специфических заболеваний бронхолегочной системы; аномалии развития половых органов; наличие инфекций, передающихся половым путем; наличие гормональной поддержки гестагенами; иммунодефицитные состояния; курение. Все исследуемые были отобраны по типу «случай – контроль», сопоставимы по возрасту и индексу массы тела (ИМТ).

Возраст в подгруппе 1 составил 27,0 (25,0; 30,0) лет ($p = 0,441$), в подгруппе 2 – 27,0 (25,0; 30,0) лет ($p = 0,465$), что незначимо относительно группы контроля – 28,5 (25,7; 31,0) лет. Значения ИМТ в подгруппе 1 были на уровне 24,7 (23,0; 29,1) ($p = 0,691$), подгруппе 2 – 24,8 (21,7; 29,3) ($p = 0,669$), что также незначимо относительно группы контроля – 24,6 (22,1; 25,0). В основной группе значимых различий по возрасту ($p = 0,968$) и ИМТ ($p = 0,954$) выявлено не было.

Образцы крови для исследований были взяты в момент госпитализации женщин в родильное отделение больницы методом венопункции в вакуумные

пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) (Китай). Забор крови пуповины производился из центральной вены сразу после перерезания пуповины в момент родов в вакуумные пробирки с ЭДТА. Плазма крови была получена методом центрифугирования (15 мин, 1 000 g). Все образцы плазмы хранились при -70°C до проведения анализов. Материал плаценты получали сразу после родов и помещали в стерильные емкости. Пробоподготовка, выделение и амплификация РНК SARS-CoV-2 проводились методом обратной транскрипции полимеразной цепной реакции на ДТ-96 (ДНК-технология, Россия) с использованием коммерческих наборов реагентов (ДНК-технология, Россия) в строгом соответствии с инструкциями производителя. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли антитела (иммуноглобулины, Ig) классов М и G к SARS-CoV-2 в парных образцах плазмы (SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ, SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ, Россия), содержание фактора некроза опухоли альфа (TNF α) (альфа ФНО-ИФА-БЕСТ, Россия), интерлейкина 6 (IL-6) (интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ, Россия), интерферона гамма (IFN γ) (гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ, Россия).

Все исследования были выполнены на приборе Multiskan FC (США) в строгом соответствии с инструкциями производителя к коммерческим наборам реагентов. Клинический анализ крови осуществлялся на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC -5150 (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Китай). Цитометрический анализ мононуклеарных клеток проводился на проточном цитометре BD FACS Canto II (США). Для исследований использовалась лизированная кровь (лизирующий буфер Invitrogen™ eBioscience™ 10X RBC Lysis Buffer, США), содержащая моноклональные антитела к поверхностным антигенам CD14 (M5E2) (BD Biosciences, США) и HLA-DR (L243) (Biolegend, США), конъюгированных с флуорофором FITC. Осадок мононуклеаров, полученный после двукратной отмывки (забуференный физиологический раствор (PBS), компания «Биолот», Россия) и центрифугирования (5 мин, 400 g), ресуспендировали и использовали для определения моноклональных антител.

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics version 23.0 (США). Статистический анализ осуществляли с помощью теста Манна – Уитни при парном сравнении. Для сравнения трех и более групп использовали критерий Краскала – Уоллиса. Количественные показатели представлены в виде медианы (*Me*) и интерквартильного

размаха (Q_{25} ; Q_{75}), категориальные данные – в виде долей, частот и процентов. Анализ различия частот в двух независимых исследуемых группах проводился с использованием критерия Фишера, при значении абсолютных частот в таблицах сопряженности меньше 10 использовался критерий с поправкой χ^2 Йетса. Корреляционный анализ проводился по Спирмену. Анализ относительных рисков (ОР) выполнялся с помощью четырехпольных таблиц сопряженности с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ). Различия считались статистически значимыми при достигнутом уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все женщины основной группы на момент исследования имели подтвержденный диагноз – COVID-19: у 43,7% диагностирована легкая форма острой респираторной вирусной инфекции (подгруппа 1), у 56,3% – среднетяжелое течение заболевания с проявлениями пневмонии (подгруппа 2) (ОР = 1,27; 95% ДИ 0,96–1,69). Срок беременности на момент заболевания в подгруппе 1 составил 35,0 (33,0;37,0) нед, в подгруппе 2 – 34,0 (32,0;36,0) нед ($p = 0,181$). Показатели общего периода после дебюта заболевания до родов в подгруппе 1 и подгруппе 2 составили 27,0 (18,0;36,0) и 32,0 (15,0;48,0) сут соответственно ($p = 0,286$).

У всех женщин основной группы в крови и в крови пуповины отсутствовали антитела IgM к SARS-CoV-2 (табл. 1). При этом количество антител IgG в подгруппе 1 было выше в 1,53 раза, чем в подгруппе 2. Внутригрупповые парные сравнения не выявили значимых различий между значениями антител IgG в крови матери и в крови пуповины в подгруппе 1 ($p = 0,992$) и подгруппе 2 ($p = 0,371$). Дальнейший парный корреляционный анализ в исследуемых подгруппах выявил значимую связь в подгруппе 2 между показателями антител IgG в крови матери и в крови пуповины ($r = 0,61$; $p = 0,001$).

Клинический анализ крови у женщин исследуемых групп выявил повышение средних значений моноцитов в подгруппе 1 в 1,16 раза относительно контрольной группы, тогда как относительно подгруппы 2 значимых различий выявлено не было. Также отсутствовали различия в показателях лейкоцитов и лимфоцитов при сравнении подгрупп основной группы и контрольной группы.

Исследование профиля провоспалительных цитокинов в крови у женщин показало, что в подгруппе 1 значения TNF α были в 1,72 и 1,22 раза ниже, чем в контрольной группе и подгруппе 2 соответственно. Уровень IL-6 в подгруппе 1 был в 1,55 и 1,35 раза ниже, чем в контрольной группе и подгруппе 2 со-

ответственно. Значения IFN γ в подгруппе 1 были в 1,9 раза выше, чем в подгруппе 2. В подгруппе 2 уровень IFN γ значимо не изменялся относительно контрольной группы. В крови пуповины были выявлены значимые различия в показателях IL-6 и IFN γ . В подгруппе 1 значения IL-6 были ниже в 1,45 раза, чем в подгруппе 2, и значимо не различались относительно контрольной группы. Показатели IFN γ в подгруппе 2 были снижены в 1,23 и 1,11 раза относительно

подгруппы 1 и контрольной группы соответственно. Попарное сравнение значений TNF α , IFN γ и IL-6 в крови женщин и крови пуповины выявило различия в исследуемых подгруппах. Значения TNF α в крови у женщин были ниже в 2,02 раза ($p = 0,0001$) и в 1,8 раза ($p = 0,0001$), чем в крови пуповины, IFN γ был выше в 1,1 раза ($p = 0,0001$) и в 1,67 раза ($p = 0,0001$), IL-6 – в 2,15 раза ($p = 0,0001$) и в 1,91 раза ($p = 0,0001$) в подгруппах 1 и 2 соответственно.

Таблица 1

Показатели врожденного иммунитета в крови у матери и крови пуповины новорожденных в исследуемых группах, $Me(Q_{25}; Q_{75})$				
Показатель	Основная группа		Контрольная группа	p
	Подгруппа 1	Подгруппа 2		
Периферическая кровь				
Анти-SARS-CoV-2 IgG, BAU/мл	168,0 (104,0; 216,0)	110,0 (56,0; 197,2)	–	$p_3 = 0,029$
TNF α , пг/мл	30,0 (22,0; 47,9)	42,3 (27,1; 61,8)	51,5 (36,9; 58,5)	$p_1 = 0,001; p_2 = 0,485; p_3 = 0,004$
IL-6, пг/мл	20,9 (17,7; 29,5)	27,0 (17,9; 64,3)	31,9 (18,4; 49,2)	$p_1 = 0,034; p_2 = 0,900; p_3 = 0,042$
IFN γ , пг/мл	4,0 (2,8; 5,0)	2,1 (2,0; 2,6)	2,7 (2,0; 6,1)	$p_1 = 0,780; p_2 = 0,074; p_3 = 0,0001$
Лейкоциты, 10^9 /л	8,75 (7,36; 9,82)	8,1 (7,0; 9,3)	8,2 (7,5; 9,6)	$p_1 = 0,950; p_2 = 0,498; p_3 = 0,582$
Лимфоциты, 10^9 /л	21,5 (15,0; 25,2)	16,4 (3,4; 21,6)	18,5 (15,9; 20,5)	$p_1 = 0,279; p_2 = 0,260; p_3 = 0,164$
Моноциты, 10^9 /л	7,34 (6,1; 8,7)	6,7 (5,1; 8,2)	6,5 (4,6; 7,2)	$p_1 = 0,044; p_2 = 0,480; p_3 = 0,194$
CD14, %	78,9 (73,5; 83,4)	55,1 (49,8; 63,3)	94,5 (92,8 ; 97,8)	$p_{1_3} = 0,0001$
HLA-DR, %	78,3 (74,0; 83,2)	52,9 (48,5; 60,7)	95,2 (92,8; 98,4)	$p_{1_3} = 0,0001$
Кровь пуповины				
Анти-SARS-CoV-2 IgG, BAU/мл	142,0 (102,0; 240,0)	109,0 (25,3; 194,0)	–	$p_3 = 0,037$
TNF α , пг/мл	60,5 (58,6; 81,3)	76,0 (65,2; 89,5)	85,1 (74,8; 90,0)	$p_1 = 0,006; p_2 = 0,236; p_3 = 0,064$
IL-6, пг/мл	9,7 (7,6; 11,0)	14,1 (10,9; 23,6)	7,9 (4,8; 35,0)	$p_1 = 0,657; p_2 = 0,358; p_3 = 0,0001$
IFN γ , пг/мл	4,3 (3,3; 5,7)	3,5 (2,6; 4,0)	3,9 (3,1; 5,7)	$p_1 = 0,619; p_2 = 0,007; p_3 < 0,0001$
CD14, %	77,7 (74,5; 82,7)	55,6 (50,7; 59,7)	96,4 (92,6; 98,2)	$p_{1_3} = 0,0001$
HLA-DR, %	78,6 (73,2; 83,1)	58,6 (50,9; 66,1)	95,4 (93,8; 96,7)	$p_{1_3} = 0,0001$

Примечание. Здесь и далее в табл. 2–4: p_1 – уровень статистической значимости различий показателей между подгруппой 1 и контрольной группой; p_2 – между подгруппой 2 и контрольной группой; p_3 – между подгруппой 1 и подгруппой 2.

Значимые парные корреляции в подгруппе 1 были выявлены между показателями TNF α в крови матери и в крови пуповины ($r = 0,78$; $p = 0,0001$), IL-6 ($r = 0,72$; $p = 0,0001$) и IFN γ ($r = 0,84$; $p = 0,0001$). В подгруппе 2 выявлена корреляция между показателями IFN γ в крови матери и в крови пуповины ($r = 0,60$; $p = 0,0001$).

При исследовании антигенного состава моноцитов в крови матерей выявлено, что в подгруппе 1 экспрессия CD14 была ниже в 1,2 раза, чем в контрольной группе, и в 1,43 раза выше, чем в подгруппе 2. В подгруппе 2 количество моноцитов, экспрессирующих CD14, было в 1,71 раза ниже, чем в контрольной группе. Анализ экспрессии HLA-DR в подгруппе 1 выявил снижение уровня в 1,21 раза относительно контрольной группы и повышение в 1,48 раза относительно подгруппы 2. В подгруппе 2 значения HLA-DR были в 1,8 раза ниже, чем в контрольной группе. В крови пуповины в подгруппе 1 выявлено снижение циркуляции CD14 моноцитов в 1,24 раза отно-

сительно контрольной группы и повышение в 1,4 раза относительно подгруппы 2. В подгруппе 2 моноциты демонстрировали сниженные в 1,73 раза уровни CD14 относительно контрольной группы. Анализ экспрессии HLA-DR в моноцитах крови пуповины в подгруппе 1 показал снижение значений в 1,21 раза относительно контрольной группы и повышение в 1,34 раза относительно подгруппы 2. В подгруппе 2 значения HLA-DR были ниже в 1,63 раза относительно контрольной группы. При парных сравнениях средних показателей CD14 и HLA-DR в моноцитах крови матерей и в крови пуповины отсутствовали значимые различия в подгруппе 1 ($p = 0,576$ и $p = 0,468$ соответственно) и в подгруппе 2 ($p = 0,968$ и $p = 0,05$ соответственно). Значимые парные корреляции в подгруппе 1 были выявлены между показателями в крови матери и в крови пуповины CD14 ($r = 0,63$; $p = 0,0001$) и HLA-DR ($r = 0,48$; $p = 0,007$).

Следует указать и на то, что в исследуемых подгруппах ни в одном из образцов плаценты не было

выявлено наличие SARS-CoV-2, что свидетельствовало об отсутствии риска вертикальной передачи вируса плоду.

В табл. 2 представлены исходы беременности в исследуемых группах. Роды в срок были у всех исследуемых женщин в подгруппе 1 и у 87,5% – в подгруппе 2. Гестационный срок на момент родов в подгруппе 1 составил 39,0 (38,0; 40,0) нед и не имел значимых отличий от контрольной группы – 39,0 (38,0; 40,0) нед ($p = 0,756$), но был значимо выше относительно подгруппы 2 – 38,0 (37,0; 39,0) нед ($p = 0,034$). Различия между подгруппой 2 и контрольной группой также были статистически значимы ($p = 0,027$). Преждевременные роды (ПР) (О60.1) были у 12,5% женщин в подгруппе 2. Родоразрешались через естественные родовые пути (ЕРП) 93,55% женщин в подгруппе 1 и 87,5% женщин в подгруппе 2, путем операции кесарева сечения (КС) – 6,45 и

12,5% женщин соответственно. Показаниями к операции КС были плановые: несоответствие размеров таза размерам головки плода, рубец на матке после операции кесарева сечения и незрелая шейка матки, тазовое предлежание плода с предполагаемой массой более 3 600 г и предлежание плаценты. Преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) (О42) был у 12,9% женщин в подгруппе 1, что значимо ниже, чем в подгруппе 2 – 27,5%. Как показало исследование, среднетяжелое течение COVID-19 увеличивало риск преждевременного разрыва плодных оболочек ОР = 2,13 (95% ДИ 1,17–3,87) относительно подгруппы 1.

Средняя масса новорожденных при рождении значимо не различалась в подгруппах и относительно контрольной группы. Состояние новорожденных оценивалось на 1-й и 5-й мин по шкале Апгар (табл. 3).

Таблица 2

Исходы беременности у женщин исследуемых групп							
Показатель	Основная группа				Контрольная группа		<i>p</i>
	Подгруппа 1		Подгруппа 2				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
ЕРП	29	93,55	35	87,5	21	95,45	$p_1 = 0,552; p_2 = 0,049; p_3 = 0,158$
КС	2	6,45	5	12,5	1	4,54	$p_1 = 0,746; p_2 = 0,069; p_3 = 0,595$
ПР	–	–	5	12,5	–	–	
ПРПО	4	12,9	11	27,5	2	9,1	$p_1 = 0,498; p_2 = 0,002; p_3 = 0,022$

Таблица 3

Масса тела и оценка по шкале Апгар у новорожденных от матерей исследуемых групп, $Me (Q_{25}; Q_{75})$				
Показатель	Основная группа		Контрольная группа	p
	Подгруппа 1	Подгруппа 2		
Масса тела, г	3300,0 (3190,0; 3550,0)	3295,0 (2817,0; 3737,0)	3200,0 (3040,0; 4000,0)	$p_1 = 0,550; p_2 = 0,768; p_3 = 0,503$
Шкала Апгар:				
– 1-я мин;	8,0 (8,0; 9,0)	8,0 (8,0; 9,0)	8,0 (8,0; 9,0)	$p_1 = 0,735; p_2 = 0,628; p_3 = 0,806$
– 5-я мин	9,0 (9,0; 10,0)	9,0 (8,0; 9,0)	9,0 (9,0; 10,0)	$p_1 = 0,798; p_2 = 0,007; p_3 = 0,003$

Значимых различий по шкале Апгар на 1-й мин между подгруппами 1 и 2 выявлено не было, также не выявлено значимых различий между контрольной группой и исследуемыми подгруппами. При этом определено снижение оценки по шкале Апгар на 5-й мин у новорожденных от матерей подгруппы 2 относительно новорожденных от матерей подгруппы 1 и контрольной группы. Церебральная ишемия (ЦИ) мозга (Р91.0) диагностирована у 6,45% новорожденных в подгруппе 1 и у 21,9% – в подгруппе 2 (табл. 4). У новорожденных от матерей в подгруппе 2 риск ЦИ выше, ОР = 3,83 (95% ДИ 1,63–9,01), чем у новорожденных от матерей в подгруппе 1. Синдром дыхательных расстройств (СДР) и внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) диагностированы только у новорожденных от матерей подгруппы 2.

Таблица 4

Заболеваемость новорожденных от матерей исследуемых групп, чел.							
Показатель	Основная группа				Контрольная группа, 22		p
	Подгруппа 1, 31		Подгруппа 2, 40				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
ЦИ	2	6,45	9	22,5	—	—	0,003
ВЖК	—	—	5	12,5	—	—	
СДР	—	—	7	17,5	—	—	

Примечание. Уровень статистической значимости различий показателей между подгруппой 1 и подгруппой 2 – p .

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно исследованиям, инфекция COVID-19 способна изменять врожденный иммунитет у беременных женщин не только в острой фазе заболевания,

но и после выздоровления. Наши результаты показывают, что перенесенная в третьем триместре беременности инфекция COVID-19 индуцирует устойчивый ответ антител и цитокинов в родах и вызывает значительное снижение трансплацентарного переноса анти-IgG с более выраженным негативным провоспалительным действием TNF α и IL-6 и снижением такового у IFN γ в случаях среднетяжелой инфекции, что согласуется с имеющимися данными [11].

Легкое течение инфекции было ассоциировано с более высоким уровнем анти-IgG и сниженными показателями TNF α и IL-6 в крови у матерей и в крови пуповины. При среднетяжелом течении заболевания сниженными были показатели IFN γ , что, по-видимому, явилось следствием повышенной циркуляции IL-6 и недостаточной продукции противовирусных антител [12]. Материнские уровни анти-IgG и провоспалительных цитокинов имели корреляцию с их аналогами в крови пуповины, степень выраженности которой определялась тяжестью инфекции COVID-19, перенесенной в третьем триместре беременности.

Также обращало внимание отсутствие значимых различий в количестве лимфоцитов и лейкоцитов в крови матерей независимо от тяжести COVID-19 при изменчивости профиля провоспалительных цитокинов, что указывало на их дисфункциональность. Тем не менее результаты о преобладании воспалительного профиля цитокинов в крови матерей с перенесенной инфекцией COVID-19 следует рассматривать в аспекте их значительных колебаний во время родов в срок и преждевременных родов [13]. Исследование реакции моноцитов на перенесенную в третьем триместре беременности инфекцию COVID-19 показало повышение их количества в крови у матери при легкой форме заболевания относительно среднетяжелого течения. При этом процент классических CD14 моноцитов и моноцитов, экспрессирующих HLA-DR, в крови матерей и в крови пуповины был снижен соответственно тяжести течения COVID-19, что определяло сложность иммунной дисрегуляции и формирование «временного» иммунодепрессивного состояния [14]. Вероятно, что снижение экспрессии HLA-DR на клеточных мембранах CD14 моноцитов было связано с ингибирующим действием IL-6 [15]. Материнские уровни CD14 и HLA-DR моноцитов коррелировали с их аналогами в крови пуповины. Что касается акушерских и перинатальных исходов, то среднетяжелое течение COVID-19 в третьем триместре беременности увеличивало риск преждевременных родов, что согласуется с данными систематических обзоров и метаанализами [16].

Однако, по некоторым сведениям, инфицирование беременных омикрон-штаммом не увеличивало риск преждевременных родов по сравнению с инфицированными дельта-штаммом [17]. Однако эти исследования требуют подтверждения. Преждевременный разрыв плодных оболочек при среднетяжелом течении выявлялся в 2,13 раза чаще, чем при легком течении заболевания, что могло повышать риск неонатальной инфекции и связанных с ней осложнений. Вместе с тем ни в одном из образцов плаценты от женщин с перенесенной в третьем триместре беременности инфекцией COVID-19 нуклеиновой кислоты SARS-CoV-2 выявлено не было, что согласуется с имеющимися данными [18].

При оценке состояния новорожденных различий в массе тела и оценки по шкале Апгар на 1-й мин выявлено не было, хотя показатели на 5-й мин при среднетяжелом течении инфекции были ниже, чем при легкой форме заболевания, что также согласуется с исследованиями и может свидетельствовать о более низких адаптационных возможностях новорожденного [19]. Риск ишемии головного мозга новорожденных от матерей со среднетяжелым течением инфекции по сравнению с ее легкой формой увеличивался в 3,83 раза. У 12,5% новорожденных диагностировалось внутрижелудочковое кровоизлияние и в 17,5% случаев – синдром дыхательных расстройств.

Таким образом, установленная в ходе исследования дисрегуляция врожденного иммунитета в крови у матери и крови пуповины, степень выраженности которой сочеталась с тяжестью, перенесенной в третьем триместре беременности инфекцией COVID-19, вносит значимый вклад в развитие акушерских осложнений и ассоциированных с ними нарушений состояния новорожденных, изменяющих их индивидуальную адаптируемость к инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами показано, что тяжесть перенесенной в третьем триместре беременности инфекции COVID-19 связана со сложностью иммунной дисрегуляции, характеризующейся снижением уровня в крови матери и крови пуповины анти-SARS-CoV-2 IgG и провоспалительного IFN γ , а также экспрессии моноцитами CD14 и HLA-DR, что, возможно, указывает на развитие «временного» иммунодепрессивного состояния. Материнские показатели врожденного иммунитета и цитокинового ответа коррелировали с их аналогами в крови пуповины. Среднетяжелое течение COVID-19 повышает риск преждевременных родов, церебральной ишемии новорожденных, внутрижелудочкового

кровоизлияния и развития синдрома дыхательных расстройств. Риск вертикальной передачи вируса плоду отсутствовал.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Moving past the COVID-19 emergency in the USA. *The Lancet*. 2023;401(10386):1399. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)00848-6.
2. Kuri-Cervantes L., Pampena M.B., Meng W., Rosenfeld A.M., Ittner C.A.G., Weisman A.R. et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci. Immunol.* 2020;5(49):7114. DOI: 10.1126/sciimmunol.abd7114.
3. Ellington S., Strid P., Tong V.T., Woodworth K., Galang R.R., Zambrano L.D. et al. Characteristics of women of reproductive age with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection by pregnancy status – United States, January 22–June 7, 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2020;69(25):769–775. DOI: 10.15585/mmwr.mm6925a1.
4. Yan J., Guo J., Fan C., Juan J., Yu X., Li J. et al. Coronavirus disease 2019 in pregnant women: a report based on 116 cases. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;223(1):111.e1–111.e14. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.04.014.
5. Артымук Н.В., Белокриницкая Т.Е., Филиппов О.С., Шифман Е.М. Новая коронавирусная инфекция COVID-19 у беременных Сибири и Дальнего Востока. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2020;2:41–48. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-2-41-48.
6. Zhao Y., Huang B., Ma H., Shang H., Nie X., Zou L. Follow up study on the outcomes of recovered pregnant women with a history of COVID-19 in the first and second trimesters: A case series from China. *Maternal-Fetal Medicine*. 2021;3(1):24–32. DOI: 10.1097/FM9.0000000000000080.
7. Jafarzadeh A., Chauhan P., Saha B., Jafarzadeh S., Nemati M. Contribution of monocytes and macrophages to the local tissue inflammation and cytokine storm in COVID-19: Lessons from SARS and MERS, and potential therapeutic interventions. *Life Sci.* 2020;257:118102. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118102.
8. Zhang J., Zhao C., Zhao W. Virus Caused Imbalance of Type I IFN Responses and Inflammation in COVID-19. *Front. Immunol.* 2021;12:633769. DOI: 10.3389/fimmu.2021.633769.
9. Liao M., Liu Y., Yuan J., Wen Y., Xu G., Zhao J. et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat. Med.* 2020;26(6):842–844. DOI: 10.1038/s41591-020-0901-9
10. Szabo P.A., Dogra P., Gray J.I., Wells S.B., Connors T.J., Weisberg S.P. et al. Longitudinal profiling of respiratory and systemic immune responses reveals myeloid cell-driven lung inflammation in severe COVID-19. *Immunity*. 2021;54(4):797–814.e6. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.03.005.
11. Rubio R., Aguilar R., Bustamante M., Muñoz E., Vázquez-Santiago M., Santano R. et al. Maternal and neonatal immune response to SARS-CoV-2, IgG transplacental transfer and cytokine profile. *Front. Immunol.* 2022;13:999136. DOI: 10.3389/fimmu.2022.999136.
12. Cennamo M., La Civita E., Sarno L., Carbone G., Di Somma S., Cabaro S. et al. Low interferon- γ levels in cord and peripheral blood of pregnant women infected with SARS-CoV-2. *Microorganisms*. 2023;11(1):223. DOI: 10.3390/microorganisms11010223.
13. Denney J.M., Nelson E., Wadhwa P., Waters T., Mathew L., Goldenberg R.L. et al. Cytokine profiling: variation in immune modulation with preterm birth vs. uncomplicated term birth identifies pivotal signals in pathogenesis of preterm birth. *J. Perinat. Med.* 2020;49(3):299–309. DOI: 10.1515/jpm-2020-0025.
14. Зурочка А.В., Котляров А.Н., Кувайцев М.В., Квятковская С.В., Зурочка В.А., Рябова Л.В. и др. Изменения экспрессии HLA-DR-антигенов на моноцитах у детей и ее клиническая значимость при сепсисе. *Медицинская иммунология*. 2008;10(4–5):379–388. DOI: 10.15789/1563-0625-2008-4-5-379-388.
15. Ohno Y., Kitamura H., Takahashi N., Ohtake J., Kaneumi S., Sumida K. et al. IL-6 down-regulates HLA class II expression and IL-12 production of human dendritic cells to impair activation of antigen-specific CD4(+) T cells. *Cancer Immunol. Immunother.* 2016;65(2):193–204. DOI: 10.1007/s00262-015-1791-4.
16. Chmielewska B., Barratt I., Townsend R., Kalafat E., van der Meulen J., Gurol-Urganci I. et al. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*. 2021;9(6):e759–e772. DOI: 10.1016/S2214-109X(21)00079-6.
17. Stock S.J., Moore E., Calvert C., Carruthers J., Denny C., Donaghy J. et al. Pregnancy outcomes after SARS-CoV-2 infection in periods dominated by delta and omicron variants in Scotland: a population-based cohort study. *Lancet Respir. Med.* 2022;10(12):1129–1136. DOI: 10.1016/S2213-2600(22)00360-5.
18. Jamieson D.J., Rasmussen S.A. An update on COVID-19 and pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2022;226(2):177–186. DOI: 10.1016/j.ajog.2021.08.054.
19. Mullins E., Perry A., Banerjee J., Townson J., Grozeva D., Milton R. et al. PAN-COVID Investigators. Pregnancy and neonatal outcomes of COVID-19: The PAN-COVID study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2022;276:161–167. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2022.07.010.

Вклад авторов

Андреевская И.А. – разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи, утверждение окончательного варианта рукописи. Лязгян К.С. – анализ и интерпретация данных, статистическая обработка результатов исследования. Жуковец И.В. – подготовка текста статьи, редактирование. Устинов Е.М. – сбор и обработка материала, выполнение исследований.

Информация об авторах

Андриевская Ирина Анатольевна – д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, irina-andrievskaja@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Лязгиян Карен Саргисович – аспирант, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, lyazgiyankaren@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8329-3237>

Жуковец Ирина Валентиновна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой акушерства и гинекологии, АГМА, г. Благовещенск, zhukovet040875@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0555-848X>

Устинов Егор Михайлович – лаборант-исследователь, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, eustinov.asma@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6235-8732>

(✉) **Андриевская Ирина Анатольевна**, irina-andrievskaja@rambler.ru

Поступила в редакцию 15.06.2023;
одобрена после рецензирования 27.11.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.517-056.25-056.43

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-14-20>

Сенсибилизация к пищевым аллергенам больных псориазом

Барило А.А., Смирнова С.В., Синяков А.А.

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера (НИИ МПС) – Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук (ФИЦ КНЦ СО РАН)
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г

РЕЗЮМЕ

Псориаз – хроническое рецидивирующее системное заболевание, характеризующееся воспалительным процессом в эпидермисе. Вопрос об этиологии псориаза остается открытым, так как существует множество триггеров для запуска патологического процесса в коже. Данные о частоте возникновения аллергии у больных псориазом крайне немногочисленны и содержат противоречивые результаты в литературе, что определяет актуальность исследования. Известно о сочетании atopического дерматита и псориаза, что не исключает общности причин и механизмов, приводящих к поражению кожи.

Цель. Изучить и провести сравнительный анализ спектра сенсибилизации к пищевым аллергенам больных псориазом и atopическим дерматитом.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование больных псориазом (ПС, 1-я группа, $n = 51$) и atopическим дерматитом (АД, 2-я группа, группа сравнения, $n = 20$) в возрасте 18–57 лет. Контрольная группа (3-я группа, $n = 19$) включала практически здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту с больными. Специфическое аллергологическое обследование включало сбор аллергологического анамнеза, установление спектра сенсибилизации путем определения концентрации общего иммуноглобулина Е (IgE) и аллерген-специфических IgE к пищевым аллергенам с использованием тест-систем (компания «Алкор-Био», Россия) методом иммуноферментного анализа на полуавтоматическом анализаторе Thermo Scientific Multiskan FC. Расчет и анализ полученных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение. Концентрация общего иммуноглобулина Е в сыворотке крови больных ПС составила 57,9 [31,6; 135,1] МЕ/мл, больных АД – 210,4 [56,2; 1000,0] МЕ/мл, в контрольной группе – 45,1 [23,4; 144,0] МЕ/мл соответственно, $p_{1,2} = 0,005$; $p_{2,3} = 0,001$; $p_{1,3} = 0,4$. Сенсибилизация к пищевым аллергенам статистически значимо чаще определялась в группе больных АД в сравнении с группой больных ПС: 95,0% ($n = 19$) против 37,2% ($n = 19$) соответственно, $p_{1,2} = 0,005$. В группе больных АД сенсибилизация к куриному яйцу, томатам и арахису выявлена статистически значимо чаще в сравнении с группой больных ПС и группой контроля. В группе больных ПС сенсибилизация к говядине, гречке и картофелю выявлена статистически значимо чаще в сравнении с контрольной группой.

Заключение. Таким образом, выявлена сенсибилизация на основе изучения концентрации аллерген-специфических IgE (sIgE) к пищевым аллергенам в сыворотке крови не только больных АД, но и больных ПС, причем спектр сенсибилизации к изучаемым аллергенам имеет свои особенности в зависимости от нозологии.

Ключевые слова: псориаз, atopический дерматит, пищевая аллергия, сенсибилизация, аллерген-специфические IgE

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 подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ МПС (протокол № 12 от 10.12.2013).

Для цитирования: Барило А.А., Смирнова С.В., Сinyaков А.А. Сенсibilизация к пищевым аллергенам больных псориазом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):14–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-14-20>.

Food allergen sensitization patterns in psoriasis patients

Barilo A.A., Smirnova S.V., Sinyakov A.A.

*Research Institute of Medical Problems of the North – Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (KSC SB RAS)
3g, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation*

ABSTRACT

Background. Psoriasis is a chronic relapsing systemic disease characterized by inflammation in the skin. Etiology of psoriasis remains elusive, since there are many factors triggering a pathological process in the skin. Data on the frequency of allergies in patients with psoriasis are extremely few and contain conflicting results in the literature, which determines the relevance of the study. Researchers described coexisting atopic dermatitis (AD) and psoriasis (PS), which does not exclude common causes and mechanisms leading to skin damage.

Aim. To study and conduct a comparative analysis of food allergen sensitization patterns in patients with psoriasis and atopic dermatitis.

Materials and methods. A prospective study included patients with psoriasis (group 1, $n = 51$) and atopic dermatitis (group 2, comparison group, $n = 20$) aged 18–57 years. A control group (group 3, $n = 19$) encompassed apparently healthy sex- and age-matched individuals. Specific allergy testing included allergy history and determination of sensitization patterns by analyzing serum concentrations of total immunoglobulin E (IgE) and allergen-specific IgE (sIgE) to food allergens using ELISA test systems (Alkor-Bio, Russia) on the Thermo Scientific Multiskan FC microplate photometer. The calculation and analysis of the obtained data were carried out using the Statistica 8.0 software package.

Results. The concentration of total immunoglobulin E in the blood serum for PS patients was 57.9 [31.6; 135.1] IU / ml, for AD patients – 210.4 [56.2; 1,000.0] IU / ml, and for the control group – 45.1 [23.4; 144.0] IU / ml, respectively, $p_{1,2} = 0.005$; $p_{2,3} = 0.001$; $p_{1,3} = 0.4$. Food allergen sensitization was determined significantly more often in the group of AD patients compared to the group of PS patients: 95.0 ($n = 19$) vs. 37.2% ($n = 19$), respectively, $p_{1,2} = 0.005$. In the group of AD patients, sensitization to chicken eggs, tomatoes, and peanuts was found significantly more frequently than in the group of PS patients and in the control group. Sensitization to beef, buckwheat, and potatoes was significantly more common in the group of PS patients than in the controls.

Conclusion. Following the study of the serum concentration of allergen-specific IgE (sIgE) to food allergens, we revealed food allergen sensitization not only for AD patients, but also for PS patients. However, in our study, sensitization patterns to the studied allergens have their own characteristics depending on the specific disease.

Keywords: psoriasis, atopic dermatitis, food allergy, sensitization, allergen-specific IgE

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Research Institute of Medical Problems of the North (Protocol No. 12 of 10.12.2013).

For citation: Barilo A.A., Smirnova S.V., Sinyakov A.A. Food allergen sensitization patterns in psoriasis patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):14–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-14-20>.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на наличие многочисленных теорий возникновения псориаза (ПС), до сих пор нет единого консенсуса в отношении его этиопатогенеза [1, 2]. Актуальность изучения псориазической болезни обусловлена недостаточной эффективностью современных этиотропных и патогенетических методов лечения, что доказывает необходимость поиска новых подходов к изучению псориаза, в том числе с позиций этиопатогенеза [3–5].

Псориаз и атопический дерматит (АД) относятся к заболеваниям кожи, сочетающим наличие в организме системного воспалительного процесса и поражения кожи. Для псориаза характерна активация цитокинов Th1/Th17-профиля, тогда как при атопическом дерматите отмечена девиация иммунного ответа в сторону Th2-цитокинов [1, 6]. Ранее в литературе встречались данные о невозможности сочетания у одного больного атопического дерматита и псориаза в результате разной направленности иммунного ответа, что указывало на протективную роль атопии в развитии псориазической патологии. За последние годы в литературе все чаще описываются примеры сочетания псориаза и атопического дерматита [7–11]. Следовательно, актуальной является проблема коморбидности псориаза и атопического дерматита, изучение которой будет способствовать развитию индивидуального подхода к лечению больных [8–10].

Атопический дерматит является дебютом «аллергического марша», особенность которого – неуклонное прогрессирование системного аллергического процесса от высыпаний на коже до респираторной патологии с формированием аллергического ринита и бронхиальной астмы [11]. В последние годы все чаще в литературе сообщается о термине «псориазический марш», который подразумевает не только наличие кожных проявлений при псориазе, но и прогрессирование системного воспалительного процесса с поражением различных органов и систем [12].

По данным современных исследователей, псориаз и атопический дерматит характеризуются аналогичными изменениями в очагах поражения кожи, что находит подтверждение на гистологическом уровне. Определено, что в очаги поражения кожи у больных псориазом и атопическим дерматитом происходит миграция нейтрофильных гранулоцитов [13, 14]. Особого внимания заслуживает гипотеза, согласно

которой длительный стаж заболевания при псориазе способствует увеличению в участках повреждения кожи количества В-лимфоцитов, продуцирующих иммуноглобулины (Ig) класса Е в сыворотке крови, и, как следствие, преобладание Th2-типа иммунного ответа у данной категории больных [15]. Известно, что в развитии псориаза и атопического дерматита принимают участие Т-хелперы типов 17 и 22 [14–18]. Исследования, посвященные изучению концентрации специфических IgE к пищевым аллергенам при псориазе, крайне немногочисленны, что обуславливает актуальность проводимой работы [19, 20].

По данным некоторых авторов, у больных псориазом отмечено повышение специфических IgE к аллергенам пыльцы березы, тимopheевки, ржи, картофеля и моркови [19]. Согласно гипотезе двойного воздействия аллергена, развитие сенсибилизации к пищевым аллергенам помимо перорального пути может происходить в результате проникновения аллергенов через поврежденный кожный барьер [19, 21]. Данный факт определяет актуальность изучения сенсибилизации к пищевым аллергенам у больных псориазом и атопическим дерматитом, а сравнительный анализ паттернов сенсибилизации к пищевым аллергенам позволит выявить новые факторы и механизмы, способные приводить к поражению кожи.

Цель – изучить и провести сравнительный анализ спектра сенсибилизации к пищевым аллергенам больных псориазом и атопическим дерматитом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены больные псориазом (ПС, группа 1, $n = 51$), больные атопическим дерматитом (АД, группа 2, группа сравнения, $n = 20$) в возрасте 18–57 лет. Средний возраст больных группы 1 составил $40,0 \pm 1,8$ лет, группы 2 – $25,0 \pm 2,0$ лет. В обеих группах больных чаще встречались женщины: 52,9% ($n = 27$) в группе 1, 55% ($n = 11$) – в группе 2. Контрольная группа (группа 3, $n = 19$) включала практически здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту с больными. Тяжесть поражения кожи у больных ПС оценивали с помощью индекса PASI (индекс распространенности и тяжести псориаза). Среднее значение индекса PASI в группе больных псориазом составило 10,0 [6,0; 14,4].

Всем больным проводилось специфическое аллергологическое обследование, включающее сбор аллергологического анамнеза, определение уровня

общего IgE в сыворотке крови и характера сенсibilизации на основании анализа концентрации аллерген-специфических IgE (sIgE) к пищевым аллергенам в сыворотке крови с использованием тест-систем (компания «АлкорБио», Россия) методом иммуноферментного анализа на полуавтоматическом анализаторе Thermo Scientific Multiskan FC. Использовали реагенты для определения sIgE к следующим аллергенам: молоко коровье, мясо говядины, яйцо куриное цельное, мясо куриное, глютен, пшеница, овес, рис, гречка, картофель, морковь, помидоры, яблоко, арахис.

Согласно инструкции производителя (компания «АлкорБио», Россия), концентрация sIgE $\geq 0,35$ кЕд/л свидетельствовала о положительном ответе. Сенсibilизации к изучаемым аллергенам в контрольной группе не выявлено. Для статистического анализа применяли пакет программ Statistica 8.0. Статистическую обработку результатов проводили с расчетом обобщающих коэффициентов: средней величины и ошибки средней ($M \pm m$). Результаты представлены как медиана и интерквартильный размах $Me [Q_{25\%}; Q_{75\%}]$; в виде абсолютного и относительного количества сенсibilизированных больных n (%). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе больных псориазом отягощенный аллергологический анамнез (наличие аллергических заболеваний в анамнезе) установлен в 41,2% ($n = 21$), сезонная аллергия – в 7,8% ($n = 4$), отягощенный семейный аллергологический анамнез (наличие аллергических заболеваний у близких родственников) – в 27,5% ($n = 14$), отягощенный наследственный анамнез по псориазу – в 39,2% ($n = 20$) случаев.

Средний возраст дебюта псориаза составил $24,0 \pm 2,1$ года, общая длительность заболевания – $11,0 \pm 1,6$ лет. В 76,5% ($n = 39$) случаев кожные высыпания сопровождались интенсивным зудом. Основные клинические проявления псориаза были представлены монотипной сыпью с плоскими папулами различной величины, переходящими в крупные розово-красные бляшки с гиперпролиферацией эпидермиса и аберрантной дифференцировкой эпидермиса. У больных ПС непрерывно-рецидивирующее течение кожного процесса отмечалось в 56,7% ($n = 29$), обострение в осенне-зимние месяцы – в 33,3% ($n = 17$), обострение в весенне-летний период – в 9,8% ($n = 5$) случаев, в основном у больных с сопутствующей патологией (поллинозом – сезонным аллергическим риноконъюнктивитом).

По данным аллергологического анамнеза, у больных АД крапивница, аллергический ринит, аллергия

на насекомых и лекарственные препараты отмечались в 95% ($n = 19$) случаев. Отягощенный семейный аллергологический анамнез у больных АД выявлен у 55% ($n = 11$), сезонные аллергические проявления – у 60% ($n = 12$) больных. Выявлены следующие клинические проявления атопического дерматита: эритема, сухость кожи, экскориации, шелушение. Кожный зуд наблюдался у 95% ($n = 19$) больных АД. Ограниченное поражение кожи у больных АД определено у 60% ($n = 12$) больных, распространенное – 30% ($n = 6$), диффузное – 10% ($n = 2$). Среднетяжелое течение кожного процесса выявлено в 90% ($n = 18$) случаев, тяжелое течение атопического дерматита – в 10%.

Концентрация общего IgE в сыворотке крови больных ПС составила 57,9 [31,6; 135,1] МЕ/мл, больных АД – 210,4 [56,2; 1000,0] МЕ/мл, в контрольной группе – 45,1 [23,4; 144,0] МЕ/мл соответственно, $p_{1,2} = 0,005$; $p_{2,3} = 0,001$; $p_{1,3} = 0,4$. Единого мнения о концентрации общего IgE в сыворотке крови при псориазе в литературе не существует. Одни исследователи отмечают повышенный уровень общего IgE в сыворотке крови при псориазе [15], другие научные коллективы показали, что концентрация общего IgE при ПС была в пределах референсных значений [22]. Интересным является факт прямой зависимости степени тяжести поражения кожи при псориазе и уровня общего IgE [19].

Сенсibilизация к пищевым аллергенам статистически значимо чаще определялась в группе больных АД по сравнению с группой больных ПС: 95,0% ($n = 19$) относительно 37,2% ($n = 19$), $p_{1,2} = 0,005$ (таблица).

Таблица

Сравнительная характеристика спектра сенсibilизации к пищевым аллергенам больных псориазом и атопическим дерматитом, n (%)			
Показатель	Группа ПС, $n = 51$	Группа АД, $n = 20$	p
Коровье молоко	2 (10,5)	5 (26,3)	$p_{1,2} = 0,2$ $p_{1,3} = 0,1$ $p_{2,3} = 0,02$
Мясо говядины	5 (26,3)	2 (10,5)	$p_{1,2} = 0,2$ $p_{1,3} = 0,02$ $p_{2,3} = 0,1$
Куриное яйцо (цельное)	0	4 (21,1)	$p_{1,2} = 0,04$ $p_{2,3} = 0,04$
Мясо курицы	0	1 (5,3)	$p_{1,2} = 0,3$ $p_{2,3} = 0,3$
Глютен	0	1 (5,3)	$p_{1,2} = 0,3$ $p_{2,3} = 0,3$
Пшеница	1 (5,3)	4 (21,1)	$p_{1,2} = 0,1$ $p_{1,3} = 0,3$ $p_{2,3} = 0,04$

Окончание табл.

Показатель	Группа ПС, n = 51	Группа АД, n = 20	p
Овес	3 (15,8)	7 (36,8)	$p_{1,2} = 0,1$ $p_{1,3} = 0,08$ $p_{2,3} = 0,004$
Рис	1 (5,3)	2 (10,5)	$p_{1,2} = 0,5$ $p_{1,3} = 0,3$ $p_{2,3} = 0,15$
Гречка	6 (31,6)	2 (10,5)	$p_{1,2} = 0,1$ $p_{1,3} = 0,01$ $p_{2,3} = 0,15$
Картофель	4 (21,1)	0	$p_{1,2} = 0,04$ $p_{1,3} = 0,04$
Морковь	3 (15,8)	2 (10,5)	$p_{1,2} = 0,6$ $p_{1,3} = 0,07$ $p_{2,3} = 0,1$
Томаты	1 (5,3)	8 (42,1)	$p_{1,2} = 0,008$ $p_{1,3} = 0,3$ $p_{2,3} = 0,002$
Яблоко	3 (15,8)	6 (31,6)	$p_{1,2} = 0,3$ $p_{1,3} = 0,07$ $p_{2,3} = 0,008$
Арахис	2 (10,5)	12 (63,1)	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} = 0,1$ $p_{2,3} < 0,001$

Примечание. В контрольной группе сенсибилизации к изучаемым аллергенам не выявлено.

В группе больных АД сенсибилизация к куриному яйцу, томатам и арахису отмечена статистически значимо чаще в сравнении с группой больных ПС и группой контроля. Известно, что пищевая аллергия на куриные яйца является одной из наиболее распространенных в мире [23]. По данным литературы, пищевая аллергия на яйцо отмечена у трети взрослого населения американской популяции [23]. Следовательно, определенная в настоящем исследовании высокая частота встречаемости сенсибилизации к куриному яйцу у больных АД не противоречит данным литературы [24]. Сенсибилизация к томатам и арахису при АД, вероятно, связана с наличием перекрестной реактивности с пыльцевыми аллергенами [25]. В группе больных АД частота встречаемости сенсибилизации к белку коровьего молока, куриному яйцу, пшенице, овсу, томатам, яблоку арахису была статистически значимо выше в сравнении с контрольной группой (см. таблицу).

Интересным в проведенном исследовании является наличие сенсибилизации к пищевым аллергенам у больных ПС. В работе отмечено, что сенсибилизация к говядине, гречке и картофелю определена в группе больных ПС статистически значимо чаще в сравнении

с контролем. По данным литературы, сенсибилизация к мясу говядины может быть связана с перекрестной реакцией к белкам коровьего молока [26]. Данные литературы указывают на наличие общих антигенных детерминант для некоторых пищевых продуктов с пыльцевыми аллергенами [27, 28]. Повышение частоты встречаемости специфических IgE к аллергенам картофеля и гречки у больных ПС наиболее вероятно связано с перекрестной реакцией на пыльцевые аллергены, поскольку у этой группы больных в исследованиях выявлено повышение чувствительности к пыльце березы, полыни, тимopheевки и ржи [19].

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, данные литературы о влиянии пищевых аллергенов на развитие и течение псориаза немногочисленны, что ставит задачу дальнейшего изучения роли сенсибилизации к пищевым аллергенам в этиопатогенезе псориаза. В настоящем исследовании определена сенсибилизация на основе изучения концентрации аллерген-специфических IgE (sIgE) к пищевым аллергенам в сыворотке крови не только больных АД, но и больных ПС. В проведенном исследовании выявлены особенности спектра сенсибилизации к пищевым аллергенам в зависимости от типа поражения кожи. Так, атопический дерматит характеризовался более широким спектром сенсибилизации к пищевым аллергенам: куриное яйцо, томаты, арахис в сравнении с ПС. Поскольку атопический дерматит является классическим примером IgE-опосредованного заболевания, следовало ожидать высокой частоты сенсибилизации к пищевым аллергенам у данной категории больных.

В проведенном исследовании установлена высокая частота сенсибилизации к пищевым аллергенам у больных ПС. Чаще выявлялась сенсибилизация к говядине, картофелю, гречке, что может свидетельствовать о влиянии данных аллергенов на развитие кожных поражений при псориазе.

В мире отмечается неуклонный рост заболеваемости аллергией среди всех нозологических форм. Особый интерес представляет оценка роли пищевой аллергии в развитии ПС. В современной литературе все чаще сообщается об увеличении частоты коморбидности атопии и псориаза [8, 19]. Пищевая аллергия приводит к нарушению барьерной функции желудочно-кишечного тракта с последующим увеличением проницаемости для различных пищевых аллергенов [28]. Поражение органов пищеварения в результате системного аллергического процесса при пищевой аллергии является характерным признаком развития дермато-гастроэнтерологического симптомокомплекса [29].

Известно, что при сенсibilизации к пищевым аллергенам больные отмечают обострение аллергии после употребления в пищу продуктов, являющихся причинно-значимыми аллергенами [28]. Данный факт в клинической практике обуславливает необходимость индивидуального подхода при назначении элиминационной диеты не только больным АД, но и больным ПС с учетом особенностей сенсibilизации к пищевым аллергенам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличие очагов поражения кожи, длительный хронический воспалительный процесс при псориазе и атопическом дерматите приводят к повреждению эпидермального барьера и, следовательно, способствуют более высокому трансдермальному проникновению различных аллергенов через поврежденный эпидермальный барьер с последующим усилением паттернов сенсibilизации и может быть фактором, способствующим прогрессированию патологии [30, 31]. Наличие пищевой аллергии у больных псориазом может являться не только одним из триггеров псориазического процесса, но и фактором риска прогрессирования заболевания.

Предварительные результаты исследования свидетельствуют о необходимости назначения персонализированной элиминационной диетотерапии и проведения других методов специфической диагностики аллергии, таких как кожное прик-тестирование, элиминационная и провокационная пробы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Chiricozzi A., Romanelli P., Volpe E., Borsellino G., Romanelli M. Scanning the immunopathogenesis of psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(1):179. DOI: 10.3390/ijms19010179.
- Rendon A., Schäkel K. Psoriasis pathogenesis and treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(6):1475. DOI: 10.3390/ijms20061475.
- Boehncke W.H., Schön M.P. Psoriasis. *Lancet.* 2015;386(9997):983–994. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61909-7.
- Tokuyama M., Mabuchi T. New treatment addressing the pathogenesis of psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(20):7488. DOI: 10.3390/ijms21207488.
- Kamiya K., Kishimoto M., Sugai J., Komine M., Ohtsuki M. Risk factors for the development of psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(18):4347. DOI: 10.3390/ijms20184347.
- Blauvelt A., Chiricozzi A. The immunologic role of IL-17 in psoriasis and psoriatic arthritis pathogenesis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2018;55(3):379–390. DOI: 10.1007/s12016-018-8702-3.
- Griffiths C.E.M., van de Kerkhof P., Czarnecka-Operacz M. Psoriasis and atopic dermatitis. *Dermatol. Ther. (Heidelb.)* 2017;7(Suppl.1):31–41. DOI: 10.1007/s13555-016-0167-9.
- Guttman-Yassky E., Krueger J.G. Atopic dermatitis and psoriasis: two different immune diseases or one spectrum? *Current Opinion in Immunology.* 2017;48:68–73. DOI: 10.1016/j.coi.2017.08.008.
- Klonowska J., Gleń J., Nowicki R.J., Trzeciak M. New Cytokines in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis-New Therapeutic Targets. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(10):3086. DOI: 10.3390/ijms19103086.
- Barry K., Zancanaro P., Casseres R., Abdat R., Dumont N., Rosmarin D. Concomitant atopic dermatitis and psoriasis - a retrospective review. *J. Dermatolog. Treat.* 2021;32(7):716–720. DOI: 10.1080/09546634.2019.1702147.
- Choy D.F., Hsu D.K., Seshasayee D., Fung M.A., Modrusan Z., Martin F., Liu Fu-Tong, Arron J.R. Comparative transcriptomic analyses of atopic dermatitis and psoriasis reveal shared neutrophilic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012;130(6):1335–1343.e5. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.06.044.
- Furie M., Kadono T. "Inflammatory skin march" in atopic dermatitis and psoriasis. *Inflamm. Res.* 2017;66(10):833–842. DOI: 10.1007/s00011-017-1065-z.
- Sidler D., Wu P., Herro R., Claus M., Wolf D., Kawakami Y., Kawakami T et al. TWEAK mediates inflammation in experimental atopic dermatitis and psoriasis. *Nat. Commun.* 2017;8:15395. DOI: 10.1038/ncomms15395.
- Brunner P.M., Israel A., Zhang N., Leonard A., Wen H.C., Huynh T. et al. Early-onset pediatric atopic dermatitis is characterized by TH2/TH17/TH22-centered inflammation and lipid alterations. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018;141(6):2094–2106. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.02.040.
- Ünal E.S., Gül Ü., Dursun A.B., Öner Erkekol F. Prediction of atopy via total immunoglobulin E levels and skin prick tests in patients with psoriasis. *Turk. J. Med. Sci.* 2017;47(2):577–582. DOI: 10.3906/sag-1601-133.
- Sanyal R.D., Pavel A.B., Glickman J., Chan T.C., Zheng X., Zhang N. et al. Atopic dermatitis in African American patients is TH2/TH22-skewed with TH1/TH17 attenuation. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2019;122(1):99–110.e6. DOI: 10.1016/j.anai.2018.08.024.
- Барило А.А., Смирнова С.В. Сравнительный анализ спектра сенсibilизации к пищевым, пыльцевым и грибковым аллергенам пациентов с псориазом и атопическим дерматитом. *Вопросы питания.* 2020;89(5):28–34. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10063.
- Барило А.А., Смирнова С.В. Грибковая аллергия у больных атопическим дерматитом и псориазом. *Инфекция и иммунитет.* 2022;12(1):149–157. DOI: 10.15789/2220-7619-FAI-1707.
- Weryńska-Kalemba M., Filipowska-Grońska A., Kalembe M., Krajewska A., Grzanka A., Bożek A. et al. Analysis of selected allergic reactions among psoriatic patients. *Postępy Dermatol. Alergol.* 2016;33(1):18–22. DOI: 10.5114/pdia.2014.44015.
- Барило А.А., Смирнова С.В. Псориаз и пищевая аллергия: клинический случай. *Клиническая дерматология и венерология.* 2022;21(6):773–776. DOI:10.17116/klinderma20221061773.
- Malik K., Ungar B., Garcet S., Dutt R., Dickstein D., Zheng X. et al. Dust mite induces multiple polar T cell axes in human skin. *Clin. Exp. Allergy.* 2017;47(12):1648–1660. DOI: 10.1111/cea.13040.

22. Ovcina-Kurtovic N., Kasumagic-Halilovic E. Serum levels of total immunoglobulin E in patients with psoriasis: relationship with clinical type of disease. *Med. Arh.* 2010;64(1):28–29.
23. Gupta R.S., Warren C.M., Smith B.M., Jiang J., Blumenstock J.A., Davis M.M. et al. prevalence and severity of food allergies among US adults. *JAMA Netw. Open.* 2019;2(1):e185630. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2018.5630.
24. Benhamou A.H., Caubet J.C., Eigenmann P.A., Nowak-Wegrzyn A., Marcos C.P., Reche M. et al. State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy. *Allergy.* 2010;65(3):283–289. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02251.x.
25. Cianferoni A. Wheat allergy: diagnosis and management. *J. Asthma Allergy.* 2016;9:13–25. DOI: 10.2147/JAA.S81550.
26. Wilson J.M., Platts-Mills T.A.E. Meat allergy and allergens. *Mol. Immunol.* 2018;100:107–112. DOI: 10.1016/j.molimm.2018.03.018.
27. Sicherer S.H., Warren C.M., Dant C., Gupta R.S., Nadeau K.C. Food allergy from infancy through adulthood. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2020;8(6):1854–1864. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.02.010.
28. Valenta R., Karaulov A., Niederberger V., Gatterer P., van Hage M., Flicker S. et al. Molecular aspects of allergens and allergy. *Adv. Immunol.* 2018;138:195–256. DOI: 10.1016/bs.ai.2018.03.002.
29. Bonciolini V., Bianchi B., Del Bianco E., Verdelli A., Caproni M. Cutaneous manifestations of non-celiac gluten sensitivity: clinical histological and immunopathological features. *Nutrients.* 2015;7(9):7798–7805. DOI: 10.3390/nu7095368.
30. Goleva E., Berdyshev E., Leung D.Y. Epithelial barrier repair and prevention of allergy. *J. Clin. Invest.* 2019;129(4):1463–1474. DOI: 10.1172/JCI124608.
31. Yang G., Seok J.K., Kang H.C., Cho Y.Y., Lee H.S., Lee J.Y. Skin barrier abnormalities and immune dysfunction in atopic dermatitis. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(8):2867. DOI: 10.3390/ijms21082867.

Информация об авторах

Барило Анна Александровна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической патофизиологии, НИИ МПС – ФИЦ КНЦ СО РАН, anntomsk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5349-9122>

Смирнова Светлана Витальевна – д-р мед. наук, профессор, руководитель научного направления, НИИ МПС – ФИЦ КНЦ СО РАН, svetvita@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1197-1481>

Синяков Александр Александрович – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория клинической патофизиологии, НИИ МПС – ФИЦ КНЦ СО РАН, sinyakov.alekzandr@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4474-1893>

(✉) **Барило Анна Александровна**, anntomsk@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.06.2023;
одобрена после рецензирования 29.09.2023;
принята к публикации 02.11.2023



УДК 616.33-018.73-078

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-21-27>

Анализ серологической диагностики функционального состояния слизистой желудка в клинической практике

Белковец А.В.^{1,2}, Ожиганова Н.В.¹, Кручинина М.В.^{1,2}, Полонская Я.В.¹,
Щербакова Л.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Института цитологии и генетики СО РАН (ИЦИГ СО РАН)

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

² Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Проанализировать результаты тест-систем «ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3» за 15 лет наблюдения и определить частоту аутоиммунного гастрита (АИГ) в клинической практике и в случайной выборке жителей г. Новосибирска.

Материалы и методы. Показатели биомаркеров были проанализированы в двух группах: 1 742 человека, средний возраст $50,0 \pm 13,53$ лет (тест-система «ГастроПанель», компания «Биохит», Финляндия), и 170 человек, средний возраст $53,8 \pm 12,89$ лет (тест-система «ГастроСкрин-3», АО «Вектор-Бест», Россия), с 2007 по 2022 г. Расчет частоты АИГ проводился в текущей клинической практике и в случайной выборке жителей г. Новосибирска 45–69 лет. Верхней границей нормы считали показатель пепсиноген I (ПГ I) – 160 мкг/л, умеренной атрофии соответствовал диапазон ПГ I 31–50 мкг/л, а ПГ I ≤ 30 мкг/л и соотношения ПГ I/ПГ II ≤ 3 – выраженной фундальной атрофии. Аутоиммунный гастрит рассматривали при показателях ПГ I $\leq 10,1$ мкг/л, ПГ I/ПГ II $\leq 1,3$; гастрин-17 $\geq 42,4$ пмоль/л («ГастроПанель») и ПГ I $\leq 16,8$ мкг/л, ПГ I/ПГ II $\leq 1,5$ тест-система («ГастроСкрин-3», АО «Вектор-Бест», Россия). Положительным считали уровень иммуноглобулина класса (Ig) G *H. pylori* более 42 ЕIU. Антитела к CagA-белку определяли с помощью тест-системы «Хелико-Бест антитела» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Результаты. Серологические признаки выраженной и умеренной фундальной атрофии выявлены: 10 и 9,4% («ГастроПанель»), 13,3 и 7% («ГастроСкрин-3») соответственно. Признаки мультифокальной атрофии обнаружены в 0,7%. Иммуноглобулины класса G *H. pylori* определялись в 57,7%, CagA+ штамм – в 56,1% случаев. Язвенный фенотип гастрита был обнаружен у 15,3% («ГастроПанель») и у 10% («ГастроСкрин-3»). Частота АИГ по данным тест-систем «ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3» в случайной выборке составила 1,6%, в текущей клинической практике – 2,6 и 3,5% соответственно.

Заключение. В группу риска развития рака желудка попали 20% обследованных, у 10–15% обнаружен язвенный фенотип, что требует дообследования. Частота АИГ в исследуемых группах на основании серологического скрининга составила 1,6–3,5%.

Ключевые слова: пепсиногены, «ГастроПанель», «ГастроСкрин-3», *Helicobacter pylori*, фундальная атрофия, аутоиммунный гастрит

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

Источник финансирования. Работа выполнена по государственному заданию в рамках бюджетных тем «Изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их ранней диагностике и

✉ Ожиганова Наталья Владимировна, natalya.safyanova@mail.ru

профилактике», 2024–2028 гг. (FWNR-2024-0004); «Совершенствование методов диагностики, профилактики и лечения больных распространенными заболеваниями гепатобилиарной системы и желудочно-кишечного тракта в Сибири», 2023–2025, FWNR-2023-0003.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено комитетом биомедицинской этики НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол № 11 от 2.03.2021).

Для цитирования: Белковец А.В., Ожиганова Н.В., Кручинина М.В., Полонская Я.В., Щербак Л.В. Анализ серологической диагностики функционального состояния слизистой желудка в клинической практике. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):21–27. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-21-27>.

Analyzing serological screening of the functional state of gastric mucosa in clinical practice

Belkovets A.V.^{1,2}, Ozhiganova N.V.¹, Kruchinina M.V.^{1,2}, Polonskaya Ya.V.¹, Shcherbakova L.V.¹

¹ *Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation*

² *Novosibirsk State Medical University
52, Krasny Prospekt, Novosibirsk, 630091, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To analyze the results of the GastroPanel and GastroScreen-3 tests over a 15-year follow-up and determine the incidence of autoimmune gastritis (AIG) in clinical practice and in a random sample of Novosibirsk residents.

Materials and methods. Biomarkers were analyzed in two groups: 1,742 people, average age of 50.0 ± 13.53 years (GastroPanel test, Biohit Oy, Finland), and 170 people, average age of 53.8 ± 12.89 years (GastroScreen-3 test, Vector-Best, Russia), from 2007 to 2022. The AIG incidence was calculated in current clinical practice and in a random sample of Novosibirsk residents aged 45–69 years. The PGI level of $160 \mu\text{g} / \text{l}$ was taken as the upper limit of normal, PGI of $31\text{--}50 \mu\text{g} / \text{l}$ indicated moderate atrophy, $\text{PGI} < 30 \mu\text{g} / \text{l}$ and the PGI / PGII ratio ≤ 3 indicated severe gastric fundus atrophy. AIG was considered at $\text{PGI} \leq 10.1 \mu\text{g} / \text{l}$, the PGI / PGII ratio ≤ 1.3 , and gastrin-17 $\geq 42.4 \text{ pmol} / \text{l}$ (GastroPanel) and at $\text{PGI} \leq 16.8 \mu\text{g} / \text{l}$ and the PGI / PGII ratio ≤ 1.5 (GastroScreen-3). The *H. pylori* IgG level $> 42 \text{ EIU}$ was considered to be positive. Antibodies to CagA protein were determined using the Helico-Best Antibody test (Vector-Best, Novosibirsk).

Results. Serological signs of severe and moderate gastric fundus atrophy were detected in 10 and 9.4% (GastroPanel test) and in 13.3 and 7% (GastroScreen-3 test) of those examined, respectively. Signs of multifocal atrophy were found in 0.7% of cases. Antibodies to *H. pylori* were detected in 57.7%, CagA+ strain – in 56.1% of cases. Peptic ulcer disease ($\text{PGI} \geq 160 \mu\text{g} / \text{l}$) was found in 15.3% (GastroPanel test) and 10% (GastroScreen-3 test) of the examined. According to the GastroPanel and GastroScreen-3 tests, the incidence of AIG was 1.6% in a random sample and 2.6 and 3.5% in current clinical practice, respectively.

Conclusion. Twenty percent of the examined persons were at risk of developing gastric cancer and 10–15% had peptic ulcer disease, which requires further examination. The incidence of AIG in different study groups based on serological screening was 1.6–3.5%.

Keywords: pepsinogens, GastroPanel, GastroScreen-3, *Helicobacter pylori*, fundus atrophy, autoimmune gastritis

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

Source of financing. The study was performed within the state assignment as part of “Study of Molecular Genetic and Molecular Biological Mechanisms of Common Internal Disease Development in Siberia to Improve

Approaches to Early Diagnosis and Prevention”, 2024–2028 (FWNR-2024-0004); “Improvement of Methods for Diagnosis, Prevention, and Treatment of Patients with Common Hepatobiliary and Gastrointestinal Diseases in Siberia”, 2023–2025 (FWNR-2023-0003).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Bioethics Committee at Research Institute of Internal and Preventive Medicine, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS (Protocol No. 11 of 02.03.2021).

For citation: Belkovets A.V., Ozhiganova N.V., Kruchinina M.V., Polonskaya Ya.V., Shcherbakova L.V. Analyzing serological screening of the functional state of gastric mucosa in clinical practice. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):21–27. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-21-27>.

ВВЕДЕНИЕ

Функция желудка и структура слизистой оболочки «идут рука об руку», и, по определению, нормальные показатели таких биомаркеров, как пепсиноген I, пепсиноген II и их соотношение (ПГ I, ПГ II, ПГ I/ПГ II), гастрин-17, а также отсутствие антител иммуноглобулина (Ig) класса G к *H. pylori* инфекции и к CagA цитотоксическому белку являются суррогатными маркерами здоровой слизистой желудка, за исключением неспецифического воспаления или микроэрозий, не влияющих на их профиль [1, 2]. Биомаркеры, объединенные в тест-панели, отражают морфологические изменения и функцию слизистой оболочки желудка. Так, при неатрофическом гастрите, ассоциированном с инфекцией *H. pylori*, как правило, значения пепсиногенов, особенно ПГ II, повышаются [1, 2].

Изменение уровня маркеров дает представление и о локализации процесса. Пепсиноген I является индикатором повреждения желез тела желудка, ПГ II синтезируется во всех отделах, а соотношение ПГ I/ПГ II коррелирует с прогрессированием фундальных атрофических изменений в слизистой [1, 3]. Гастрин-17 – основной гормон, регулирующий секрецию соляной кислоты париетальными клетками желудка, базальный уровень его снижается у лиц с гиперацидным (гиперсекреторным) состоянием, а развитие атрофии в антральном отделе также приводит к снижению, включая постпрандиальную (стимулированную) фракцию [4, 5].

Согласно положению последнего Маастрихтского консенсуса, атрофия является основной детерминантой риска наследственного рака желудка, которая может быть обнаружена как при гистологической оценке биоптатов желудка, так и с использованием неинвазивных методик [6]. Снижение ПГ I и (или) соотношения ПГ I/ПГ II при повышении уровня гастрин-17 свидетельствует о фундальной (корпусной) атрофии и характерно для аутоиммунного фенотипа гастрита, наряду с повышением титра антител к париетальным клеткам и (или) к внутреннему

фактору Касла [2, 4, 7]. Таким образом, все вышеперечисленные параметры совокупно дают важную информацию о функциональном состоянии слизистой оболочки желудка [6].

Тест-системы, включающие в себя панель биомаркеров атрофии, продемонстрировали свою диагностическую эффективность в качестве инструментов неинвазивной диагностики как у отдельных пациентов, так и в популяционных скринингах [1, 2, 4, 8]. Одним из широко используемых наборов является финская «ГастроПанель» (включающая ПГ I, ПГ II, соотношение ПГ I/ПГ II, гастрин-17 и антитела IgG к *H. pylori*) с чувствительностью до 83% и специфичностью 95–98% [9]. Отечественная тест-система «ГастроСкрин-3» используется в клинической практике относительно недавно и включает в себя определение таких показателей, как уровни ПГ I, ПГ II, соотношение ПГ I/ПГ II и антител к CagA белку.

Цель настоящего исследования – проанализировать результаты серологической диагностики функционального состояния слизистой оболочки желудка с использованием двух тест-систем («ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3») и определить частоту аутоиммунного гастрита (АИГ) в клинической практике и в случайной выборке жителей г. Новосибирска.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данные биомаркеров тест-системы «ГастроПанель» были проанализированы у 1 742 человек, средний возраст $50,0 \pm 13,53$ лет, за 15-летний период наблюдения с 2007 по 2022 г. Женщины составили большую часть группы (1 210 человек – 69,5%), чем мужчины (532 человека – 30,5%, $p < 0,001$). С помощью панели биомаркеров «ГастроСкрин-3» анализ проведен у 170 человек, средний возраст $53,8 \pm 12,89$ лет, за 4-летний период наблюдения с 2018 по 2022 г. Женщин также было больше, чем мужчин (79,4% против 20,6%, $p < 0,001$). Все обследуемые обращались в поликлинику НИИТМ – филиал ИЦиГ СО РАН самостоятельно или по направлению врача.

Для изучения частоты аутоиммунного фенотипа атрофического гастрита была обследована («ГастроПанель») случайная выборка жителей Новосибирска. Группу составили 246 человек (117 мужчин и 129 женщин), средний возраст $59,4 \pm 7,0$ лет, которые были отобраны методом случайных чисел (простая случайная выборка) из 9 360 человек в возрасте 45–69 лет на материале кросс-секционного одноmomentного исследования международного проекта НАРИЕЕ, проводимого в НИИТПМ в 2003–2005 гг.

Образцы сыворотки тестировали с помощью тест-систем «ГастроПанель» (компания «Биохит», Финляндия) и «ГастроСкрин-3» (АО «Вектор-Бест», Россия) для иммуноферментного анализа согласно инструкции производителя [10]. Значение ППГ 160 мкг/л считали верхней границей нормы, а уровень ППГ ≤ 30 мкг/л и (или) соотношения ППГ/ППП ≤ 3 свидетельствовали о выраженной фундальной атрофии. Диапазон ППГ 31–50 мкг/л оценивали как умеренную атрофию тела желудка. Мультифокальный (пангастрит) атрофический гастрит определяли при снижении ППГ ≤ 30 и гастрин-17 менее 1 пмоль/л [10]. Уровень IgG антител к *H. pylori* считали диагностически значимым при показателе более 42 ЕІU. Антитела к CagA-белку *H. pylori* оценивали с применением тест-системы «Хелико-Бест антитела» (АО «Вектор-Бест», Россия).

В ранее проведенном нами исследовании у пациентов с верифицированным АИГ были рассчитаны пороговые значения биомаркеров для аутоиммунного фенотипа атрофического гастрита. Для серологической панели «ГастроПанель» отрезные точки оказались следующими: ППГ $\leq 10,1$ мкг/л, соотношения ППГ/ППП $\leq 1,3$ и гастрин-17 $\geq 42,4$ пмоль/л, а для «ГастроСкрин-3» – ППГ $\leq 16,8$ мкг/л и соотношения ППГ/ППП $\leq 1,5$ [11].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программного пакета SPSS (версия 16.0). Характер распределения количественных данных оценивали при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении рассчитывали средние значения ($M \pm \sigma$), при ненормальном – медиану (Me) и интерквартильный размах [Q_{25} ; Q_{75}]. Для определения статистической значимости различий использовали t -тест Стьюдента и U -критерий Манна – Уитни. Для сравнения долей использовался χ^2 Пирсона. Критический уровень значимости нулевой гипотезы считали при $p \leq 0,05$.

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено Комитетом биомедицинской этики НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол № 11 от 2.03.2021). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Таблица 1

Показатели тест-системы «ГастроПанель» за 15-летний период наблюдения у мужчин и женщин, $Me [Q_{25\%}; Q_{75\%}]$				
Показатель	Мужчины, $n = 532$	Женщины, $n = 1\ 210$	Всего, $n = 1\ 742$	$p_{м-ж}$
ППГ, мкг/л	97,4 [65,2; 139,7]	83,9 [54,4; 125,0]	87,7 [57,9; 128,7]	<0,0001
ППП, мкг/л	10,6 [6,5; 19,7]	10,1 [6,1; 19,0]	10,2 [6,2; 19,4]	0,168
Соотношение ППГ/ППП	8,5 [5,6; 11,8]	7,9 [4,9; 11,7]	8,2 [5,1; 11,7]	0,036
Гастрин-17, пмоль/л	4,3 [1,4; 11,6]	4,9 [1,9; 15,2]	4,7 [1,7; 14,0]	<0,0001
Антитела к <i>H. pylori</i> , ЕІU	62,0 [17,7; 105,1]	56,3 [16,9; 108,2]	57,8 [17,3; 107,4]	0,996

Таблица 2

Показатели тест-системы «ГастроСкрин-3» за 4-летний период наблюдения у мужчин и женщин, $Me [Q_{25\%}; Q_{75\%}]$				
Показатель	Мужчины, $n = 35$	Женщины, $n = 135$	Всего, $n = 170$	$p_{м-ж}$
ППГ, мкг/л	98,6 [53,5; 139,5]	89,8 [59,4; 122,7]	91,5 [58,8; 129,9]	0,458
ППП, мкг/л	10,6 [6,5; 19,7]	10,1 [6,1; 18,9]	9,1 [5,7; 16,7]	0,906
Соотношение ППГ/ППП	8,6 [6,3; 12,0]	8,7 [5,6; 13,2]	8,6 [5,7; 13,0]	0,882

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения и медианы показателей биомаркеров, измеренных с помощью двух тест-систем среди всех обследованных за вышеуказанные периоды наблюдения, представлены в табл. 1, 2. У мужчин уровни ППГ и соотношения ППГ/ППП («ГастроПанель») оказались выше, а гастрин-17, соответственно, ниже, чем у женщин (см. табл. 1).

Инфекция *H. pylori* во всем мире признана основной причиной атрофического гастрита и канцерогеном I типа [4, 12]. В настоящей работе IgG к *H. pylori* были выявлены в 57,7% случаев (из 1 742 человек) с высоким представителем цитотоксического CagA+ штамма (56,1%). В группе «ГастроСкрин-3» CagA+ штамм *H. pylori*, обладающий большим канцерогенным потенциалом, по данным исследований [6, 13], был обнаружен в 42% случаев (из 170 обсле-

двух). Не исключено, что процент инфицированных был бы выше, потому как антитела к *H. pylori* могут быть отрицательными из-за элиминации бактерии на фоне выраженной атрофии или после успешного лечения. В литературе описаны случаи спонтанного «исчезновения» *H. pylori* при тяжелом атрофическом гастрите, при этом вероятность возникновения рака желудка (РЖ) в данном случае может увеличиваться [14, 15].

Из 1 742 человек, обследованных с помощью тест-системы «ГастроПанель», серологические признаки выраженной и умеренной атрофии слизистой тела желудка были выявлены в 10 и 9,4% случаях соответственно. В группе «ГастроСкрин-3» (170 человек) выраженная корпальная атрофия определялась в 10,6% и умеренная – в 7,1% случаев (табл. 3). Таким образом, суммарно за наблюдаемые периоды времени серологические признаки атрофии тела желудка разной степени выраженности выявлены в 19,4% («ГастроПанель») и 17,6% случаев («ГастроСкрин-3»). Соотношение ПГ/ПГII по данным нескольких исследований может являться более надежным маркером фундального атрофического гастрита, чем один ПГ

[7, 16]. В настоящем исследовании в группе «ГастроПанель» низкий показатель соотношения ПГ/ПГII был выявлен у 11%, а сочетание низких уровней ПГ и соотношения ПГ/ПГII – в 7,3% случаев. В группе «ГастроСкрин-3» соотношение ПГ/ПГII ≤ 3 встречалось у 8,2%, а сочетание ПГ ≤ 30 мкг/л и соотношение ПГ/ПГII ≤ 3 выявлено у 7,1% обследованных. Серологические признаки мультифокального АГ с высоким риском развития РЖ обнаружены у 13 из 1 742 человек (0,7%) (табл. 2).

Выявление низких показателей биомаркеров, соответствующих серологическим критериям атрофии, требует дальнейшего обследования с проведением эндоскопии с мультифокальной биопсией и уточнением стадии атрофии согласно интегральной системе OLGA [17]. Таким образом, по данным последних консенсусов, как международных, так и отечественных, серологические тесты являются полезными для оценки индивидуального риска рака желудка [6, 18, 19].

Язвенный фенотип гастрита с повышенным уровнем соляной кислоты и ПГ более 160 мкг/л отмечен в 15,3% («ГастроПанель») и в 10% случаев соответственно («ГастроСкрин-3») (см. табл. 3).

Таблица 3

Частота показателей «ГастроПанель» и «ГастроСкрин-3» с интерпретацией возможных рисков, %, Me [$Q_{25\%}$; $Q_{75\%}$]			
Показатель биомаркеров	«ГастроПанель», <i>n</i> = 1742	«ГастроСкрин-3», <i>n</i> = 170	Интерпретация
ПГ 51–160 мкг/л	64,5 [62,3; 66,7]	71,8 [65; 78,5]	Нет признаков атрофии тела желудка
ПГ ≤ 30 мкг/л	10 [8,6; 11,4]	10,6 [6,0; 15,2]	Признаки выраженной фундальной атрофии. Риск развития РЖ
ПГ/ПГII ≤ 3	11 [9,5; 12,5]	8,2 [4,1; 12,3]	
ПГ ≤ 30 мкг/л + ПГ/ПГII ≤ 3	7,3 [6,1; 8,5]	7,1 [3,2; 11,0]	
ПГ 31–50 мкг/л	9,4 [8,0; 10,8]	7,1 [3,2; 11,0]	Признаки умеренной фундальной атрофии. Риск развития РЖ
ПГ $\leq 10,1$ мкг/л + гастрин-17 $\geq 42,4$ пмоль/л	2,6 [1,9; 3,3]	–	Аутоиммунный фенотип фундального гастрита. Риски развития дефицита железа, витамина B12 и анемии, РЖ
ПГ $\leq 16,8$ мкг/л + ПГ/ПГII $< 1,5$	–	3,5 [0,7; 6,3]	
ПГ ≥ 160 мкг/л	15,3 [13,6; 17,0]	10 [5,5; 14,5]	Гиперсекреторное состояние. Высокие риски развития эрозивно-язвенного повреждения слизистой
ПГ ≤ 30 мкг/л + гастрин-17 < 1 пмоль/л	0,7 [0,3; 1,1]	–	Пангастрит. Мультифокальная атрофия (тело + анtrum). Высокий риск развития РЖ

Таким образом, за 15-летний («ГастроПанель») и 4-летний («ГастроСкрин-3») периоды наблюдения около 20% обследованных попали в группу риска по раку желудка и 10–15% в группу риска эрозивно-язвенного повреждения слизистой оболочки желудка, что требует дальнейшего детального обследования.

По литературным данным, уровни пепсиногенов, особенно ПГII, повышаются на фоне *H. pylori* ассоциированного гастрита [3, 20]. В настоящем исследовании средние показатели ПГ и ПГII были также значимо выше у *H. pylori* позитивных лиц в срав-

нении с *H. pylori* негативными ($111,6 \pm 63,4$ против $83,6 \pm 56,7$ мкг/л и $18,4 \pm 13,9$ против $9,9 \pm 9,2$ мкг/л, $p < 0,0001$ соответственно), а также ПГII в группе CagA позитивных лиц ($14,9 \pm 10,5$ против $10,6 \pm 7,8$ мкг/л, $p = 0,004$).

Помимо *H. pylori* инфекции, причиной атрофических изменений в слизистой является аутоиммунный гастрит [21]. На основании полученных ранее отрезных точек биомаркеров атрофии частота АИГ в текущей клинической практике составила 2,6% («ГастроПанель», 1 742 человека) и 3,5% по данным «ГастроСкрин-3» (170 человек) (см. табл. 2), а в слу-

чайной выборке лиц 45–69 лет (246 человек) – 1,6% («ГастроПанель»), что не противоречит литературным данным [22, 23]. Помимо риска развития гематологических нарушений, аутоиммунный гастрит несет в себе риски развития нейроэндокринной опухоли и аденокарциномы. Однако следует отметить, что атрофический гастрит III–IV стадии по OLGA, ассоциированный *H. pylori* инфекцией, определяет больший риск развития рака желудка [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов серологической диагностики в клинической практике у лиц широкого возрастного диапазона за длительный период наблюдения показал высокую частоту фундальной атрофии разной степени выраженности на фоне инфекции *H. pylori* с высоким представительством цитотоксического CagA+ штамма или аутоиммунного гастрита, требующей более детального обследования у этой категории пациентов. Частота аутоиммунного фенотипа атрофического гастрита в разных исследуемых группах на основании серологического скрининга находится в диапазоне 1,6–3,5%.

Таким образом, серологическая оценка фенотипов гастрита с применением диагностических тест-систем, таких как «ГастроПанель» или «Гастро-Скрин-3», является эффективным инструментом для определения функционального состояния слизистой оболочки желудка.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tu H., Sun L., Dong X., Gong Y., Xu Q., Jing J. et al. Serological Biopsy Using Five Stomach-Specific Circulating Biomarkers for Gastric Cancer Risk Assessment: A Multi-Phase Study. *Am. J. Gastroenterol.* 2017;112(5):704–715. DOI: 10.1038/ajg.2017.55.
2. Syrjänen K. Accuracy of Serum Biomarker Panel (GastroPanel®) in the Diagnosis of Atrophic Gastritis of the Corpus. Systematic Review and Meta-analysis. *Anticancer Res.* 2022;42(4):1679–1696. DOI: 10.21873/anticancer.15645.
3. Di Mario F., Cavallaro L.G., Moussa A.M., Caruana P., Merli R., Maini A. et al. Usefulness of serum pepsinogens in *Helicobacter pylori* chronic gastritis: relationship with inflammation, activity, and density of the bacterium. *Dig. Dis. Sci.* 2006;51(10):1791–1795. DOI: 10.1007/s10620-006-9206-1.
4. Agréus L., Kuipers E.J., Kupcinskis L., Malfertheiner P., Di Mario F., Leja M. et al. Rationale in diagnosis and screening of atrophic gastritis with stomach-specific plasma biomarkers. *Scand. J. Gastroenterol.* 2012;47(2):136–147. DOI: 10.3109/00365521.2011.645501.
5. Di Mario F., Franzoni L., Franceschi M., Rodriguez-Castro K.I., Russo M., Crafa P. Low levels of G17 and Barrett esophagus: a clinical relationship. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2022;28:60(7):e165–e167. DOI: 10.1515/ccbm-2022-0362.
6. Malfertheiner P., Megraud F., Rokkas T., Gisbert J.P., Liou J.M., Schulz C. et al. European Helicobacter and Microbiota Study group. Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maas-tricht VI/Florence consensus report. *Gut.* 2022;2022:327745. DOI: 10.1136/gutjnl-2022-327745.
7. Kurilovich S., Belkovets A., Reshetnikov O., Openko T., Malyutina S., Ragino Y. et al. Stomach-specific Biomarkers (GastroPanel) Can Predict the Development of Gastric Cancer in a Caucasian Population: A Longitudinal Nested Case-Control Study in Siberia. *Anticancer Res.* 2016;36(1):247–253.
8. Пюрвеева К.В., Лапина Т.Л., Ивашкин В.Т., Коньков М.Ю., Склянская О.А., Серова А.Г., Васильева Н.Ю. Значение сывороточных показателей пепсиногена I, пепсиногена II и гастрин-17 в диагностике атрофического гастрита. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, коло-проктологии.* 2005;15(3):48–51.
9. Storskrubb T., Aro P., Ronkainen J., Sipponen P., Nyhlin H., Talley N.J. et al. Serum biomarkers provide an accurate method for diagnosis of atrophic gastritis in a general population: The Kalixanda study. *Scand. J. Gastroenterol.* 2008;43(12):1448–1455. DOI: 10.1080/00365520802273025. PMID: 18663663.
10. Biohit HealthCare. GastroPanel. URL: <https://www.gastropanel.com/healthcare-professionals-and-laboratories/forms-and-instructions>
11. Белковец А.В., Кручинина М.В., Ожиганова Н.В., Щербакова Л.В. Клинико-лабораторные особенности аутоиммунного гастрита в Сибири. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки.* 2022;(12):116–121. DOI: 10.37882/2223-2966.2022.12.03.
12. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Schistosomiasis, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to human. *Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 1994;61:218–220.
13. El Hafa F., Wang T., Ndifor V.M., Jin G. Association between *Helicobacter pylori* antibodies determined by multiplex serology and gastric cancer risk: A meta-analysis. *Helicobacter.* 2022;27(3):e12881. DOI: 10.1111/hel.12881.
14. Kishikawa H., Ojio K., Nakamura K., Katayama T., Arahata K., Takarabe S. et al. Previous *Helicobacter pylori* infection-induced atrophic gastritis: A distinct disease entity in an understudied population without a history of eradication. *Helicobacter.* 2020;25(1):e12669. DOI: 10.1111/hel.12669.
15. Kokkola A., Kosunen T.U., Puolakkainen P., Sipponen P., Harkonen M., Laxen F. et al. Spontaneous disappearance of *Helicobacter pylori* antibodies in patients with advanced atrophic corpus gastritis. *APMIS.* 2003;111(6):619–624. DOI: 10.1034/j.1600-0463.2003.1110604.x.
16. Magris R., De Re V., Maiero S., Fornasari G., Guarnieri G., Caggiari L. et al. Low pepsinogen I/II ratio and high gastrin-17 levels typify chronic atrophic autoimmune gastritis patients with gastric neuroendocrine tumors. *Clin. Transl. Gastroenterol.* 2020;11(9):e00238. DOI: 10.14309/ctg.0000000000000238.
17. Ogutmen Koc D., Bektas S. Serum pepsinogen levels and OLGA/OLGIM staging in the assessment of atrophic gastritis types. *Postgrad. Med. J.* 2022;98(1160):441–445. DOI: 10.1136/postgradmedj-2020-139183.

18. Sugano K., Tack J., Kuipers E.J., Graham D.Y., El-Omar E.M., Miura S. et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut*. 2015;64(9):1353–1367. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309252
19. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Федоров Е.Д., Шептулин А.А., Трухманов А.С. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и ассоциации «Эндоскопическое общество РЭНДО» по диагностике и лечению гастрита, дуоденита. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2021;31(4):70–99. DOI: 10.22416/1382-4376-2021-31-4-70-99.
20. Fernandez-Botran R., Wellmann I.A., Une C., Méndez-Chacón E., Hernández de Rodas E., Bhandari B. et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori*/CagA antibodies in guatemalan gastric cancer patients: association of seropositivity with increased plasma levels of pepsinogens but not soluble urokinase plasminogen activator receptor. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020;103(1):260–265. DOI: 10.4269/ajtmh.19-0934.
21. Rugge M., Savarino E., Sbaraglia M., Bricca L., Malfertheiner P. Gastritis: The clinico-pathological spectrum. *Dig. Liver Dis.* 2021;53(10):1237–1246. DOI: 10.1016/j.dld.2021.03.007.
22. Bakulina N., Tikhonov S., Malkov V., Vorobyev S., Belyakov I., Peshkova N. et al. Non-invasive screening of autoimmune atrophic gastritis in asymptomatic subjects by serological biomarker test (GastroPanel®). *Anticancer Res.* 2022;42(3):1517–1526. DOI: 10.21873/anticancer.15624.
23. Notsu T., Adachi K., Mishiro T., Fujihara H., Toda T., Takaki S. et al. Prevalence of autoimmune gastritis in individuals undergoing medical checkups in Japan. *Intern. Med.* 2019;58(13):1817–1823. DOI: 10.2169/internalmedicine.2292-18.

Вклад авторов

Белковец А.В., Ожиганова Н.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи. Кручинина М.В. – проверка интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Полонская Я.В. – анализ и интерпретация данных. Щербакова Л.В. – статистическая обработка данных.

Информация об авторах

Белковец Анна Владимировна – д-р мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория гастроэнтерологии, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН; профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, НГМУ, г. Новосибирск, belkovets@gmx.de, <http://orcid.org/0000-0002-2610-1323>

Ожиганова Наталья Владимировна – аспирант, врач гастроэнтеролог, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, natalya.safyanova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4516-6859>

Кручинина Маргарита Витальевна – д-р мед. наук, доцент, зав. лабораторией гастроэнтерологии, вед. науч. сотрудник, лаборатория гастроэнтерологии, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН; профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, НГМУ, г. Новосибирск, kruchmargo@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0077-3823>

Полонская Яна Владимировна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, yana-polonskaya@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3538-0280>

Щербакова Лилия Валерьевна – ст. науч. сотрудник, лаборатория клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, 9584792@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9270-9188>

(✉) **Ожиганова Наталья Владимировна**, natalya.safyanova@mail.ru

Поступила в редакцию 30.01.2024;
одобрена после рецензирования 01.03.2024;
принята к публикации 06.03.2024

УДК 616.127-005.4:616-002-092:579.864]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-28-36>

Влияние про- и метабитической формы штамма *Lactobacillus delbrueckii* D5 на устойчивость миокарда к ишемии-реперфузии в условиях системного воспалительного ответа у крыс

Борщев Ю.Ю.^{1,3}, Минасян С.М.^{1,2}, Семёнова Н.Ю.¹, Буровенко И.Ю.¹, Борщева О.В.¹, Гриценко Э.Ю.⁴, Шептицкий В.А.⁴, Суворов А.Н.^{5,6}, Галагудза М.М.^{1,2}

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

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет (СПбГМУ)
им. акад. И.П. Павлова
Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8

³ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии им. Н.Н. Петрова
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68

⁴ Приднестровский государственный университет им. Т.Г. Шевченко
Молдова, 3300, г. Тирасполь, ул. 25 Октября, 128

⁵ Институт экспериментальной медицины (ИЭМ)
Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

⁶ Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ)
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 136

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение эффекта лиофилизированного штамма *L. delbrueckii* D5, а также его инактивированной формы при внутрижелудочном введении на устойчивость миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению (ИРП), маркеры воспаления и проницаемость эпителиального барьера кишки.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на самцах крыс стока Вистар с улучшенным конвенциональным статусом на модели синдрома системного воспалительного ответа (ССВО). Ишемически-реперфузионное повреждение миокарда воспроизводили на изолированном сердце, перфузируемом по Лангендорфу.

Результаты. Отмечено значимое повышение уровня фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина (ИЛ) 1β, ИЛ-6 и лактоферрина при ССВО. Введение как инактивированного, так и лиофилизированного штамма *L. delbrueckii* D5 приводило к нормализации указанных изменений. Также отмечена нормализация повышенного при ССВО уровня липополисахарида в крови при введении как инактивированного, так и лиофилизированного штамма *L. delbrueckii* D5. Однако инактивированный штамм не оказывал влияния на размер инфаркта миокарда, который был увеличен при ССВО по сравнению с контролем, тогда как при введении лиофилизированной формы имелось значимое снижение размера инфаркта.

Заключение. Инактивированная культура *Lactobacillus delbrueckii* D5 обладает выраженным противовоспалительным свойством, но не влияет на устойчивость миокарда к ИРП, в отличие от лиофилизированного штамма, что требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: миокард, ишемическое-реперфузионное повреждение, размер инфаркта, *Lactobacillus delbrueckii* D5, синдром системного воспалительного ответа, лейкоциты, цитокины, пробиотики

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, проект № 23-15-00139, <https://rscf.ru/project/23-15-00139>.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НМИЦ им. В.А. Алмазова (протокол ПЗ_23_9_ГалагудзаММ_V1 от 05.06.2023).

Для цитирования: Борщев Ю.Ю., Минасян С.М., Семёнова Н.Ю., Буровенко И.Ю., Борщева О.В., Гриценко Э.Ю., Шептицкий В.А., Суворов А.Н., Галагудза М.М. Влияние про- и метабиотической формы штамма *Lactobacillus delbrueckii* D5 на устойчивость миокарда к ишемии-реперфузии в условиях системного воспалительного ответа у крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):28–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-28-36>.

Effect of pro- and metabiotic *Lactobacillus delbrueckii* D5 strain on myocardial resistance to ischemia – reperfusion injury in the rat model of systemic inflammatory response

Borshchev Yu.Yu.^{1,3}, Minasean S.M.^{1,2}, Semenova N.Yu.¹, Burovenko I.Yu.¹, Borshcheva O.V.¹, Gritsenko E.Yu.⁴, Sheptitsky V.A.⁴, Suvorov A.N.^{5,6}, Galagudza M.M.^{1,2}

¹ Almazov National Medical Research Center
2, Akkuratova Str., St. Petersburg, 197341, Russian Federation

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
6/8, Lva Tolstogo Str., St. Petersburg, 197022, Russian Federation

³ N.N. Petrov National Medical Research Center (NMRC) of Oncology
68, Leningradskaya Str., Pesochny Village, St. Petersburg, 197758, Russian Federation

⁴ Shevchenko Transnistria State University
128, October 25 Str., Tiraspol, 3300, Moldova

⁵ Institute of Experimental Medicine
12, Akademika Pavlova Str., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

⁶ St. Petersburg University
13b, Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the effect of lyophilized *L. delbrueckii* D5, as well as its inactivated culture, during intragastric administration on myocardial resistance to ischemia – reperfusion injury (IRI), markers of inflammation, and intestinal epithelial permeability.

Materials and methods. The experiments were performed on male Wistar rats with a model of systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Myocardial IRI was reproduced on an isolated Langendorff heart.

Results. A significant increase in the levels of tumor necrosis factor (TNF) α , interleukin (IL)-1 β , IL-6, and lactoferrin in SIRS was revealed. The introduction of both inactivated and lyophilized culture of *L. delbrueckii* D5 resulted in normalization of these changes. Normalization of the increased blood level of lipopolysaccharide in SIRS was also noted with the introduction of both inactivated and lyophilized *L. delbrueckii* D5. However, the inactivated culture had no effect on the myocardial infarct size, which was increased in the SIRS group compared to the controls, whereas the introduction of the lyophilized strain led to a significant decrease in this parameter.

Conclusion. The inactivated culture of *Lactobacillus delbrueckii* D5 has a pronounced anti-inflammatory effect, but does not impact myocardial resistance to IRI, unlike the lyophilized strain, which requires further research.

Keywords: myocardium, ischemia – reperfusion injury, infarct size, *Lactobacillus delbrueckii* D5, systemic inflammatory response syndrome, leukocytes, cytokines, probiotics

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation grant, project No. 23-15-00139, <https://rscf.ru/project/23-15-00139>.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Almazov National Medical Research Center (Protocol PZ_23_9_GalagudzaMM_V1 of 05.06.2023).

For citation: Borshchev Yu.Yu., Minasean S.M., Semenova N.Yu., Burovenko I.Yu., Borshcheva O.V., Gritsenko E.Yu., Sheptitsky V.A., Suvorov A.N., Galagudza M.M. Effect of pro- and metabiotic *Lactobacillus delbrueckii* D5 strain on myocardial resistance to ischemia – reperfusion injury in the rat model of systemic inflammatory response. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):28–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-28-36>.

ВВЕДЕНИЕ

Поиск сигнальных молекул, обеспечивающих повышение устойчивости миокарда к ишемическому и реперфузионному повреждению (ИРП), представляет несомненный интерес для экспериментальной и клинической медицины в связи с синдромом системного воспалительного ответа (ССВО). В последнее время в литературе появляются данные об уменьшении ИРП миокарда при индуцированных различными воздействиями изменениях состава кишечной микробиоты (КМБ). Попытки идентифицировать единственный молекулярный посредник, связывающий КМБ, иммунную и сердечно-сосудистую системы «суперорганизма», вероятнее всего, обречены на неудачу [1]. Учитывая бесконечное разнообразие состава кишечной микробиоты и ее участие во всех физиологических и патологических процессах макроорганизма, также маловероятной выглядит гипотеза об исключительных свойствах бактерии, определяющей здоровье организма-хозяина и его микробиоты. Наиболее вероятным условием формирования и поддержания здоровья представляется гармоничное сочетание ключевых сигнальных факторов иммунитета и параметров метаболизма в связи с обеспечением адекватных и сбалансированных отношений между организмом, потребляемым пищевым рационом и составом КМБ.

В соответствии с предыдущими результатами, полученными на разработанной нами модели ССВО на грызунах в рамках концепции пробиотик-индуцированной кардиопротекции, могут быть сделаны следующие промежуточные выводы. При ССВО, возникающем при сочетании первичного висцерального ожирения, антибиотик-индуцированного дисбиоза

и химически индуцированного колита, происходит снижение устойчивости миокарда к ишемическому реперфузионному повреждению [2], а введение некоторых пробиотических штаммов сопровождается уменьшением ИРП миокарда [3].

Помимо общепризнанных и установленных нами кардиотропных маркеров системного воспаления (фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), трансформирующий фактор роста бета (ТФР- β), интерлейкин (ИЛ) 1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, моноцитарный хемотаксический фактор 1 и др.), продуктов метаболизма (короткоцепочечные жирные кислоты, желчные кислоты), популяций лейкоцитов, в связи с изменениями состава КМБ [4], представляют интерес процессы изменения эндотелиальной и эпителиальной проницаемости и маркеры острой фазы воспаления, в частности гаптоглобин (Hr) и лактоферрин. Особый интерес представляет выяснение физиологических и молекулярных механизмов влияния КМБ и ее метаболитов на воспаление и устойчивость миокарда к ИРП. С целью определения перспективных мишеней и механизмов необходимо экспериментальное обоснование общих и специфических особенностей действия на макроорганизм живых и инактивированных штаммов, получивших название метабиотических [5].

В настоящей работе на ранее разработанной модели ССВО в условиях барьерного вивария на крысах стока Вистар с улучшенным конвенциональным статусом нами изучено влияние штамма *Lactobacillus delbrueckii* D5 (ЛБД) и этой же инактивированной культуры (ИНК) на динамику массы тела животных, потребление корма и воды, гематологические, иммунологические параметры, гемодинамические характеристики и устойчивость миокарда к ИРП с

применением модели изолированного сердца. Рабочей гипотезой стало предположение об отличиях эффективности инактивированных микроорганизмов по сравнению с живой культурой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самцах крыс стока Вистар с улучшенным конвенциональным статусом массой 320–370 г в соответствии с Директивой Европейского совета (86/609/ЕЕС) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными, по протоколу, утвержденному Комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных НМИЦ им. В.А. Алмазова. Моделирование ССВО подробно описано ранее [2].

Животные случайным образом распределялись в одну из пяти групп ($n = 10$ в каждой группе): 1) контроль (КТР): крысы получали стандартный корм и питьевую воду *ad libitum*; 2) ССВО: в дополнение к стандартной диете крысы получали ежедневно *per os* в течение 28 сут по 2 г полиненасыщенных жиров и 1 г сахарозы, с последующим моделированием химически индуцированного колита. Для этого животным однократно ректально вводили 1 мл смеси 3%-го раствора уксусной кислоты и этанола. Начиная с этого дня, животным внутривенно вводили смесь антимикробных препаратов (АМП: амоксициллин, метронидазол и кларитромицин): 1 мл раствора АМП в суточной дозе по 15 мг каждого АМП на крысу в течение 3 сут и 1 мл физиологического раствора (ФР) в течение 8 сут; 3) ССВО + ЛБД – все манипуляции соответствовали описанным выше для группы ССВО, но вместо 1 мл ФР вводили 1 мл суспензии *L. delbrueckii* D5, в концентрации 10×8 КОЕ на одно животное; 4) ССВО + ИНК – крысам данной группы вводили 1 мл пробиотической суспензии *L. delbrueckii* D5 после ее пастеризации при температуре 85–90 °С в течение 1 мин.

После завершения введения препаратов у крыс в условиях комбинированного наркоза (золетил 20 мг/кг, в/м, изофлуран 1,5–2%) после торакотомии извлекали сердце из грудной полости и подключали к модернизированному аппарату Лангендорфа. Перфузию осуществляли ретроградно через аорту оксигенированным буфером Кребса – Гензелейта при постоянном давлении 80 мм рт. ст. В течение всего эксперимента температура сердца и растворов поддерживалась на уровне 37 °С. В полость левого желудочка вводили полиэтиленовый баллон для регистрации давления в изоволюметрическом режиме. Величины диастолического и пульсового давления в левом желудочке регистрировали на персональном компьютере с помощью программы PhysExp 3.0. По

кривой давления в левом желудочке программным методом оценивали частоту сердечных сокращений (уд/мин). Также измеряли коронарный поток (КП) в мл/мин по скорости оттока перфузата из легочной артерии.

Протокол исследования включал следующие этапы: 1) контроль исходного состояния функциональных показателей после 10 мин стабилизационного периода; 2) индукция глобальной ишемии в течение 30 мин; 3) реперфузия через аорту оксигенированным буфером Кребса – Гензелейта в течение 60 мин со снятием показателей через каждые 15 мин. После завершения 60-минутной реперфузии осуществляли планиметрическую оценку размера инфаркта путем окраски срезов сердца трифенилтетразолием хлоридом [6].

Клинический анализ крови выполняли на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе (URIT-3000 Vet Plus, URIT Medical Electronic, Китай). Анализ состава лейкоцитов в крови в данной работе проведен на трех популяциях лейкоцитов: ЛУМ (лимфоциты), MID (общее число моноцитов, эозинофилов, базофилов и незрелых клеток), GRAN (гранулоциты). Уровень липополисахарида (ЛПС), ТФР- β 1, ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, гаптоглобина и лактоферрина оценивали иммуноферментным методом (MR-96A, Mindray, Китай). На протяжении всего эксперимента ежедневно с 9.00 до 10.00 проводили оценку клинического статуса животных, потребления корма и воды, а также массы тела животных.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программного пакета Statistica 12.0. Статистический анализ дискретных значений проводился с использованием непараметрического *H*-критерия Краскела – Уоллиса для обнаружения статистически значимых различий, с последующим апостериорным сравнением с использованием *U*-критерия Манна – Уитни. В таблицах приведены значения медианы (*Me*) и нижнего и верхнего квартилей ($Q_{25\%}$; $Q_{75\%}$). Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Масса тела, потребление воды и корма

Масса тела крыс в группе КТР в течение всего периода наблюдения в среднем увеличивалась на $1,25 \pm 0,33$ г/сут, тогда как в группах ССВО, ССВО + ЛБД и ССВО + ИНК наблюдали уменьшение массы тела животных на $3,63 \pm 1,21$; $3,18 \pm 0,95$ и $3,25 \pm 0,97$ г/сут соответственно ($p < 0,05$ в сравнении с группой КТР). Потребление воды за этот же период из расчета на 100 г массы тела в группе КТР составило $8,8 \pm 1,1$ мл/сут и $7,3 \pm 0,1$; $10,1 \pm 1,5$ и

9,3 ± 0,3 мл/сут для групп ССВО, ССВО + ЛБД и ССВО + ИНК соответственно. Потребление корма составило в этих группах 1,2 ± 0,2; 1,4 ± 0,3 и 1,5 ± 0,1 г/сут соответственно и было меньше в 2,8; 2,4 и 2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой КТР (3,3 ± 0,4 г/сут).

Клинический анализ крови

Количество лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$ для всех популяций) в группе КТР составило 5,3 (5,2; 5,4), а в группах ССВО, ССВО + ЛБД и ССВО + ИНК – 7,9 (6,6; 10,1) ($p < 0,05$); 7,5 (5,3; 10,4) ($p < 0,05$) и 6,2 (5,8; 7,3) соответственно. Популяция гранулоцитов (GRAN) внесла основной вклад в увеличение количества лейкоцитов по отношению к КТР 2,6 (2,3; 2,8) в подопытных группах, соответственно, 5,9 (4,2; 6,8) ($p < 0,05$); 5,5 (4,8; 6,2) ($p < 0,05$) и 4,6 (4,3; 5,5) ($p < 0,05$). Значения в популяции MID составили для групп КТР, ССВО, ССВО + ЛБД и ССВО + ИНК, соответственно, 0,2 (0,2; 0,28); 0,4 (0,2; 0,5); 0,30 (0,2;

0,49) и 0,20 (0,2; 0,4), а в популяции LYM – 1,2 (1,1; 1,3); 1,6 (1,4; 2,0); 1,3 (0,9; 1,9) и 1,2 (1,1; 1,6) соответственно.

Иммунологические показатели

В данном исследовании отмечено значимое увеличение концентрации ЛПС в крови в группе ССВО по отношению к КТР более чем в 3 раза ($p < 0,05$), без увеличения в других группах. Уровни маркеров воспаления и гормонов представлены в табл. 1. В группе ССВО концентрация ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ТФР- β , Нр и ЛПС по отношению к КТР стала больше на 83, 108, 47, 94, 146 и 214% соответственно ($p < 0,05$). В группе ССВО + ИНК по отношению к группе ССВО отмечено уменьшение ТФР- β , лактоферрина и Нр на 63, 94 и а 117% соответственно ($p < 0,05$). В группе ССВО + ЛБД показатели всех аналитов были близки контрольным значениям, за исключением значимого увеличения для лактоферрина на 133% ($p < 0,05$).

Таблица 1

Результаты оценки уровня цитокинов, гаптоглобина, лактоферрина и липополисахарида в плазме крови, пг/мл, Me ($Q_{25\%}$; $Q_{75\%}$)				
Показатель	КТР	ССВО	ССВО + ЛБД	ССВО + ИНК
ФНО- α	10,4 (8,7; 11,4)	19,0 (15,0; 21,5)*	11,2 (10,0; 13,3)#	14,8 (12,8; 14,6)
ИЛ-1 β	4,6 (2,2; 4,9)	9,6 (7,4; 10,2)*	4,9 (4,3; 5,2) #	6,6 (6,0; 7,6)
ИЛ-6	1,5 (1,4; 1,8)	2,2 (2,0; 2,5)*	1,3 (1,2; 2,5)	1,4 (1,0; 2,1)
ТФР- β	3,2 (2,5; 4,4)	6,2 (5,1; 11,1)*	4,5 (3,1; 7,3)	3,8 (3,2; 4,9)#
Лактоферрин	86 (58; 121)	107 (90; 109)	133 (119; 145)*	55 (37; 63)#
Гаптоглобин	31 (24; 37)	76 (64; 102)*	24 (22; 30)#	35 (26; 40)#
ЛПС	52 (42; 65)	163 (91; 168)*	60 (54; 71)#	63 (50; 69)#

* $p < 0,05$ по отношению к группе КТР, # $p < 0,05$ по отношению к группе ССВО.

Гистологическое исследование толстого кишечника

При гистологическом исследовании соответствующего участка толстой кишки у крыс группы КТР обнаружена нормальная гистоархитектоника ткани. В группе ССВО на слизистой толстой кишки в очаге воспаления (5–7 см от ануса) определяются обширные участки с язвами и эрозиями с гнойным экссудатом. Отмечается замещение слизистой оболочки и подслизистой основы грануляционной тканью, отек и сильно выраженная воспалительная инфильтрация, в составе которой преобладали лимфоциты, однако в довольно большом количестве присутствовали макрофаги и полиморфноядерные лейкоциты и эозинофилы. Отмечено полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и лимфатических сосудов. Мышечная оболочка расширена, определяется воспалительная инфильтрация разной степени выраженности. В дне язвенного дефекта определяются характерные изменения в виде чередования слоев

фибриноидного некроза, грануляционной и фиброзной ткани. Слизистая вокруг обширных язвенных дефектов изъязвлена, отмечается нарушение гистоархитектоники, выраженная воспалительная инфильтрация, некроз крипт более чем на 2/3.

В группах ССВО + ЛБД и ССВО + ИНК также отмечаются обширные язвенные дефекты, однако более выражено присутствуют признаки регенерации ткани, реэпителизация с краев язвенных дефектов до 40%, преобладание фибриноидного компонента, восстановление гистоархитектоники мышечного и подслизистого слоев, отсутствие слизисто-гнойного экссудата. В группе ССВО + ИНК отмечается организация поверхностных слоев язвенных дефектов с формированием незрелой соединительной ткани на месте грануляционной, уменьшается воспалительная инфильтрация. При замещении слизистой и подслизистого слоев грануляционной тканью встречаются признаки регенерации. В группе ССВО + ЛБД при аналогичных изменениях из предыдущего описания в некоторых

образцах, в краях язвенных дефектов обнаружена рез-питализация однослойным кишечным эпителием, указывающая на ускоренные темпы регенерации.

Морфофункциональные характеристики изолированного сердца

Размер инфаркта в группе КТР составил 41% (38; 45), а в группе ССВО 54% (52; 57), что значи-мо больше ($p < 0,05$) по отношению к контролю. В группе ССВО + ЛБД размер инфаркта составил

42% (36;48), что значительно меньше, чем в группе ССВО. В группе ССВО + ИНК отмечена лишь тен-денция уменьшения размера инфаркта относительно группы ССВО (47% (44; 58), $p = 0,6061$).

В табл. 2 приведены сведения о корреляционной связи между показателями изучаемых параметров и размером инфаркта миокарда.

На рисунке показаны значимые различия между данными размера инфаркта миокарда, ФНО- α , ИЛ-1 β , ТФР- β и Нр по группам.

Таблица 2

Корреляционная связь по Спирмену между показателями (размер инфаркта, ФНО- α , ИЛ-1 β , ТФР- β , Нр и лактоферрин) в плазме крови у всех крыс в эксперименте, $p < 0,05$						
Показатель	ФНО- α	ИЛ-1 β	ТФР- β	Лактоферрин	Гаптоглобин	Размер инфаркта
ФНО- α , пг/мл	1,0000	0,4570*	0,2209	-0,0269	0,3077	0,4654*
ИЛ-1 β , пг/мл	0,4570*	1,0000	0,3944*	-0,3455*	0,4159*	0,5063*
ТФР- β , пг/мл	0,2209	0,3944*	1,0000	-0,0477	0,2638	0,3657*
Лактоферрин, пг/мл	-0,0269	-0,3455*	-0,0477	1,0000	-0,2164	-0,2102
Гаптоглобин, пг/мл	0,3077	0,4159*	0,2638	-0,2164	1,0000	0,4244
Размер инфаркта, %	0,4654*	0,5063*	0,3657*	-0,2102	0,4244*	1,0000

* $p < 0,05$ по отношению к группе КТР.

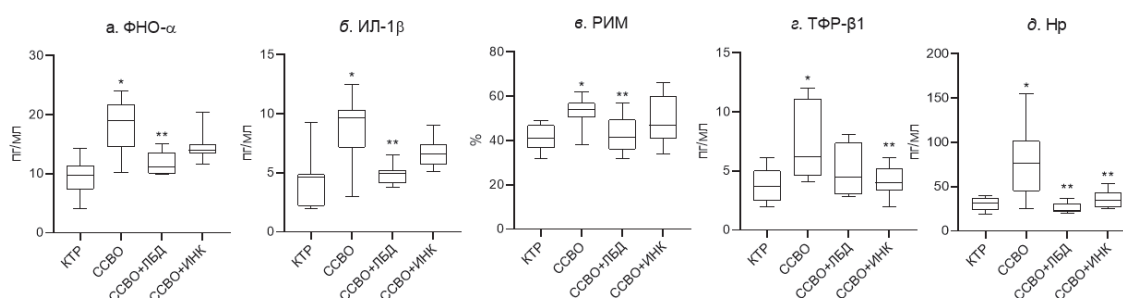


Рисунок. Показатели уровня ФНО- α (а), ИЛ-1 β (б), размера инфаркта (в), ТФР- β (г), Нр (д) в плазме крови:

* $p < 0,05$ по отношению к группе КТР, ** $p < 0,05$ по отношению к группе ССВО

Ввиду ограниченности возможностей тонкой дифференциации лейкоцитов на субпопуляции и по зрелости можно косвенно утверждать, что при моделировании ССВО в увеличении представительства популяции GRAN основную роль в данном опыте играли нейтрофилы. В группе ССВО произошло уменьшение числа лимфоцитов и фракции средних лейкоцитов MID, включающей в себя моноциты, эозинофилы, базофилы и их предшественников. В группе ССВО + ИНК отмечены минимальные показатели MID и LYM. Введение активной и инактивированной культуры крысам с ССВО сопровождалось нормализацией общего количества лейкоцитов и уменьшением представительства LYM, GRAN и MID по сравнению с ССВО.

В группе ССВО при увеличении показателей ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, Нр в крови и при росте по-

пуляции GRAN наблюдается снижение субпопуляций LYM и MID, что указывает на причинную роль ССВО в отношении продукции и миграции лейкоцитов. Регуляция пролиферации и дифференцировки лимфоцитов находится под влиянием цитокинов, интенсивно образующихся на фоне воздействия различных антигенов инфекционной и неинфекционной природы лимфоцитами и моноцитами, в частности ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-7. В группе ССВО отмечены дегенеративно-деструктивные изменения кишечной стенки с потерей барьерной функции при существенном увеличении уровня ЛПС в крови, что обеспечивает его триггерную роль в процессе запуска системного воспаления. Основной, но вероятно, не единственной причиной снижения уровня ЛПС в группах с пробиотической и метабиотической терапией по отношению к ССВО может являться

конкурентное снижение манифестации условно-патогенной микробиоты и (или) уменьшение проницаемости кишечной стенки для ЛПС. Каждый механизм, как по отдельности, так и в сочетании, может вносить решающий вклад в показатели эндотоксинеми, так как подавление фагоцитирующих и иммунокомпетентных клеток организма хозяина обнаруживается только у отдельных штаммов.

Накапливающиеся в последние годы данные свидетельствуют о важной роли кишечной микробиоты в поддержании избирательной проницаемости кишечного эпителия и предупреждении дисфункции клеточного барьера, приводящей к синдрому повышенной проницаемости кишечника, обеспечивающему неспецифический перенос провоспалительных антигенов, микробов и метаболитов из просвета кишечника в слизистую оболочку и кровоток, что может являться причиной различных заболеваний, включая воспалительные заболевания кишечника и опухоли, ожирение, неалкогольную жировую болезнь печени, депрессию, нейродегенерацию, сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет 1-го типа [7]. Представители нормальной микробиоты кишечника, очевидно, играют специализированную роль в поддержании целостности физического кишечного барьера, причем основным способом достижения этой цели является генерация ими микробных метаболитов и бактериальных компонентов [8].

Например, бутират, полученный в результате бактериальной ферментации пищевых волокон, усиливает экспрессию белков плотных контактов (ПК) – важнейших мультипротеиновых комплексов, регулирующих проницаемость кишечного барьера [9]. Такие микробные компоненты, как липопептиды, усиливают функцию ПК, стабилизируя уровни белков плотных контактов окклюдина-1 (ZO-1) и клаудина за счет активации протеинкиназы C при взаимодействии с Toll-подобными рецепторами (TLR) на эпителиальных клетках кишечника [10].

В связи с этим проведен ряд исследований *in vitro* [11–15] и *in vivo*, включая клинические испытания [16, 17] влияния штаммов пробиотических бактерий родов *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Limosilactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Streptococcus* на барьерную функцию кишечника, которые дали многообещающие результаты. Обнаружено, что применение пробиотиков заметно улучшает барьерную функцию кишечника, измеряемую величиной трансэпителиального электрического сопротивления (TEER), уровнями сывороточного зонулина, ЛПС, и способствует нормализации повышенной проницаемости кишечника, снижению воспалительных факторов, включая С-реактивный белок, ФНО-α и

ИЛ-6 в неблагоприятных условиях (бактериальные инфекции, окислительный стресс, диета с высоким содержанием жиров, алкоголь, хронические аллергии, дисбиоз), в частности, путем усиления функции ПК эпителиальных клеток кишечника, связанной с повышением синтеза окклюдина [18, 19].

Следует отметить, что более высокую эффективность в отношении поддержания барьерной функции кишечника и предотвращения синдрома повышенной кишечной проницаемости демонстрируют комплексные пробиотики по сравнению с одиночными штаммами. Таким образом, пробиотики могут иметь важное значение при лечении аутоиммунных и метаболических заболеваний за счет улучшения барьерной функции кишечника. Однако исчерпывающая оценка пробиотиков, регулирующих барьерную функцию кишечника при различных заболеваниях, до сих пор отсутствует.

Отмечена значимая обратная связь лактоферрина и прямая связь гаптоглобина со значением ИЛ-1β в группе ССВО + ЛБД при высокой концентрации лактоферрина. Наблюдались нормальные значения ИЛ-1β и Нр при нормальном размере инфаркта, что может указывать на наличие специфических свойств у активного штамма по сравнению с инактивированной формой.

В данной работе введение активной и инактивированной культуры равнозначно отразилось на изменении большинства исследованных показателей в крови, что указывает на молекулярную достаточность про- и метабиотика в данном случае. Однако при этом совершенно очевидно, что в случае, когда животные получали живые бактерии, у них достоверно возросла продукция лактоферрина при снижении продукции гаптоглобина, а также провоспалительных цитокинов до контрольных показателей. Эти тенденции подтвердили и достоверные отличия с размерами инфаркта у группы животных, получавших живые бактерии. Вероятно, что живые лиофилизированные лактобациллы, переходя в метаболически активное состояние, успевали модулировать иммунные реакции, приводя их к контрольным значениям. Полученные данные указывают на целесообразность применения пробиотикотерапии с использованием живых микроорганизмов при острых кардиологических патологических процессах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лактоферрин и гаптоглобин, как белки острой фазы воспаления, показали различный ответ в рамках про- и метабиотической модуляции на модели ССВО. Значения концентрации гаптоглобина в крови прямо ассоциированы со значениями липополиса-

харида, а лактоферрина обратно коррелируют с изученными цитокинами и размером некроза миокарда.

В данной работе обращает на себя внимание синергичное изменение показателей ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и лактоферрина по группам, с их максимальным увеличением в группе ССВО, промежуточным в группе ССВО + ИНК и близкими значениями к контролю в группе ССВО + ЛБД. Учитывая ассоциативную связь размеров площади некроза миокарда с увеличением показателей для обозначенных маркеров в группах ССВО и ССВО + ИНК, при соответствующем уменьшении в КТР и ССВО + ЛБД, можно предположить наличие специфических свойств у живой пробиотической культуры и соответствующего механизма.

Остается открытым вопрос об информативности комбинации повышенных значений ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и лактоферрина в отношении снижения устойчивости миокарда к ИРП. В случае установления зависимости между данными маркерами и морфофункциональными показателями миокарда возможно таргетное исключение одного из факторов наиболее безопасным способом. Инактивированная культура *Lactobacillus delbrueckii* D5 обладает выраженным противовоспалительным свойством без увеличения устойчивости к ИРП, в отличие от лиофилизированного штамма, что требует дальнейших исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Zhang Y., Wang Y., Ke B., Du J. TMAO: how gut microbiota contributes to heart failure. *Transl. Res.* 2021;228:109–125. DOI: 10.1016/j.trsl.2020.08.007.
- Борщев Ю.Ю., Буровенко И.Ю., Карасева А.Б., Минасян С.М., Борщев В.Ю., Семенова Н.Ю. и др. Моделирование синдрома системной воспалительной реакции химической индукцией травмы толстого кишечника у крыс. *Медицинская иммунология.* 2020;22(1):87–98. DOI: 10.15789/1563-0625-MOS-1839.
- Borshchev Y.Y., Burovenko I.Y., Karaseva A.B., Minasian S.M., Protsak E.S., Borshchev V.Y. et al. Probiotic therapy with *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* results in infarct size limitation in rats with obesity and chemically induced colitis. *Microorganisms.* 2022;10(11):2293. DOI: 10.3390/microorganisms10112293.
- Карасёва А.Б., Буровенко И.Ю., Цапиева А.Н., Борщев Ю.Ю., Суворов А.Н., Галагудза М.М. Изменения состава кишечной микробиоты при моделировании системного воспалительного ответа у крыс разного возраста. *Университетский терапевтический вестник.* 2022;4(2):42–51. DOI: 10.56871/4633.2022.37.29.005.
- Олескин А.В., Шендеров Б.А. Пробиотики, психобиотики и метабиотики: проблемы и перспективы. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация.* 2020;2(3):233–243. DOI: 10.36425/rehab25811.
- Минасян С.М., Бадриханова Л.Р., Галагудза М.М., Курапеев Д.И. Сравнительное исследование защитного эффекта гипотермии, ишемического preconditionирования и модифицированных кардиоплегических растворов при ишемии-реперфузии изолированного сердца крысы. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2008;2(26):72–78.
- Di Vincenzo F., Del Gaudio A., Petito V., Lopetuso L.R., Scaldaferri F. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern. Emerg. Med.* 2024;19(2):275–293. DOI: 10.1007/s11739-023-03374-w.
- Ghosh S., Ahmad R., Zeyaulah M., Khare S.K. Microbial nano-factories: synthesis and biomedical applications. *Front. Chem.* 2021;9:626834. DOI: 10.3389/fchem.2021.626834.
- Peng L., Li Z.R., Green R.S., Holzman I.R., Lin J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J. Nutr.* 2009;139(9):161901625. DOI: 10.3945/jn.109.104638.
- Cario E., Gerken G., Podolsky D.K. Toll-like receptor 2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase C. *Gastroenterology.* 2004;127(1):224–238. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.04.015.
- Yi H., Wang L., Xiong Y., Wang Z., Qiu Y., Wen X. et al. *Lactobacillus reuteri* LR1 improved expression of genes of tight junction proteins via the MLCK pathway in IPEC-1 cells during infection with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Mediators Inflamm.* 2018;2018:6434910. DOI: 10.1155/2018/6434910.
- Zhao L., Xie Q., Etereri Evvie S., Liu D., Dong J., Ping L. et al. *Bifidobacterium dentium* N8 with potential probiotic characteristics prevents LPS-induced intestinal barrier injury by alleviating the inflammatory response and regulating the tight junction in Caco-2 cell monolayers. *Food Funct.* 2021;12(16):7171–7184. DOI: 10.1039/D1FO01164B
- Hsieh C.Y., Osaka T., Moriyama E., Date Y., Kikuchi J., Tsuneda S. Strengthening of the intestinal epithelial tight junction by *Bifidobacterium bifidum*. *Physiol. Rep.* 2015;3(3):e12327. DOI: 10.14814/phy2.12327.
- Zhao X., Zhou J., Liang W., Sheng Q., Lu L., Chen T. et al. Probiotics mixture reinforces barrier function to ameliorate necrotizing enterocolitis by regulating PXR-JNK pathway. *Cell Biosci.* 2021;11(1):20. DOI: 10.1186/s13578-021-00530-7.
- Blackwood B.P., Yuan C.Y., Wood D.R., Nicolas J.D., Grothaus J.S., Hunter C.J. Probiotic *Lactobacillus* species strengthen intestinal barrier function and tight junction integrity in experimental necrotizing enterocolitis. *J. Probiotics Health.* 2017;5(1):159. DOI: 10.4172/2329-8901.1000159.
- Francavilla R., Miniello V., Magistà A.M., De Canio A., Bucci N., Gagliardi F. et al. A randomized controlled trial of *Lactobacillus GG* in children with functional abdominal pain. *Pediatrics.* 2010;126(6):e1445–1452. DOI: 10.1542/peds.2010-0467.
- Mujagic Z., de Vos P., Boekschoten M.V., Govers C., Pieters H.H., de Wit N.J. et al. The effects of *Lactobacillus plantarum* on small intestinal barrier function and mucosal gene transcription; a randomized double-blind placebo controlled trial. *Sci. Rep.* 2017;7:40128. DOI: 10.1038/srep40128.

18. Zheng Y., Zhang Z., Tang P., Wu Y., Zhang A., Li D. et al. Probiotics fortify intestinal barrier function: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Front. Immunol.* 2023;14:1143548. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1143548.
19. Cheng F.S., Pan D., Chang B., Jiang M., Sang L.X. Probiotic mixture VSL#3: An overview of basic and clinical studies in chronic diseases. *World J. Clin. Cases.* 2020;8(8):1361–1384. DOI: 10.12998/wjcc.v8.i8.1361.

Вклад авторов

Борщев Ю.Ю., Галагудза М.М., Суворов А.Н. – концепция и дизайн исследования. Борщев Ю.Ю., Буровенко И.Ю., Минасян С.М., Борщева О.В., Семёнова Н.Ю., Гриценко Э.Ю., Шептицкий В.А. – сбор и обработка материала, статистическая обработка. Борщев Ю.Ю., Шептицкий В.А. – написание текста. Борщев Ю.Ю., Буровенко И.Ю., Галагудза М.М. – редактирование рукописи.

Информация об авторах

Борщев Юрий Юрьевич – канд. биол. наук, зав. научно-исследовательским отделом токсикологии, ИЭМ, НМИЦ им. В.А. Алмазова; науч. сотрудник, лаборатория химиопрофилактики рака и онкофармакологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, г. Санкт-Петербург, niscon@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3096-9747>

Минасян Саркис Минасович – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда, ИЭМ, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, sarkis@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6382-5286>

Семёнова Наталья Юрьевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, НИО патоморфологии ИЭМ, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, natyciel87@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-4069-0678>

Буровенко Инесса Юрьевна – мл. науч. сотрудник, НИО токсикологии, ИЭМ, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, burovenko.inessa@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6637-3633>

Борщева Ольга Викторовна – науч. сотрудник, НИО токсикологии, ИЭМ, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, violga27@mail.ru

Гриценко Элла Юрьевна – соискатель, кафедра физиологии, Приднестровский государственный университет им. Т.Г. Шевченко, г. Тирасполь, gritenco.ella@gmail.com

Шептицкий Владимир Александрович – д-р биол. наук, профессор зав. кафедрой, Приднестровский государственный университет им. Т.Г. Шевченко, г. Тирасполь, septitchi@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6306-7021>

Суворов Александр Николаевич – д-р мед. наук, член-корр. РАН, зав. отделом молекулярной микробиологии, ИЭМ; зав. кафедрой фундаментальной медицины и медицинских технологий, СПбГУ, г. Санкт-Петербург, alexander_suvorov1@hotmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2312-5589>

Галагудза Михаил Михайлович – д-р мед. наук, член-корр. РАН, директор ИЭМ, НМИЦ им. В.А. Алмазова; профессор кафедры патофизиологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, galagudza@almazovcentre.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5129-9944>

(✉) **Буровенко Инесса Юрьевна**, burovenko.inessa@gmail.com

Поступила в редакцию 02.10.2023;
одобрена после рецензирования 20.11.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.419-089.843:539.1.073.24
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-37-45>

Состояние и васкуляризация костного мозга при имплантации в диффузионной камере на сосудисто-нервный пучок

Дворниченко М.В., Марзоль Е.А., Зиновьев Е.А., Митряйкин Н.С., Хлусов И.А.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Метод диффузионных камер способствует решению задачи по доставке биологического трансплантата с минимальными потерями, создавая при этом условия изоляции в организме реципиента. Актуальным остается вопрос васкуляризации диффузионных камер для сохранения функциональности биоматериала. Модель биоинженерной конструкции диффузионной камеры в совокупности с адвентицией сосуда способствует васкуляризации биоматериала, помещенного в камеру.

Целью исследования явилась оценка состояния сингенного костного мозга, имплантированного в диффузионной камере на бедренный сосудисто-нервный пучок крысы.

Материалы и методы. Дизайн исследования включал в себя экспериментальную часть, проводимую на половозрелых самцах крыс линии Вистар. Животные были разделены на две группы: 1-я – экспериментальная ($n = 4$), имплантация диффузионной камеры из поликапролактона на бедренный сосудисто-нервный пучок с костным мозгом; 2-я – контрольная ($n = 3$), на аналогичный пучок имплантировалась камера без содержимого.

Результаты. При гистологическом исследовании в структуре компактной капсулы биоинженерной конструкции в экспериментальной группе выявлены участки грубоволокнистой костной ткани у 25% крыс. Повышение коэффициента васкуляризации на 96% и индекса Керногана на 7% в экспериментальной группе по сравнению с контрольной свидетельствует о формировании достаточных условий для развития микроциркуляторного русла при сохранении направления дифференцировки костного мозга.

Заключение. Достоверность приведенных результатов подтверждается иммуногистохимическими маркерами васкуляризации VEGF и CD34.

Ключевые слова: диффузионные камеры, биodeградируемый полимер, клеточные технологии, имплантация костного мозга, микрофлюидные технологии, лабораторные крысы

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 23-25-00346.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (ЦДИ-005/5/02.2022).

Для цитирования: Дворниченко М.В., Марзоль Е.А., Зиновьев Е.А., Митряйкин Н.С., Хлусов И.А. Состояние и васкуляризация костного мозга при имплантации в диффузионной камере на сосудисто-нервный пучок. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):37–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-37-45>.

✉ Марзоль Екатерина Александровна, Katya4803@mail.ru

The state and vascularization of the bone marrow transplanted in the diffusion chamber to the rat neurovascular bundle

Dvornichenko M.V., Marzol E.A., Zinovyev E.A., Mitryaikin N.S., Khlusov I.A.

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

ABSTRACT

Background. The diffusion chamber method helps solve the problem of delivering a biomaterial with minimal losses, while creating an isolated environment in the recipient's body. The issue of vascularization of diffusion chambers to preserve the functional capacity of the biomaterial remains relevant. A bioengineered diffusion chamber model, together with the vascular adventitia, promotes vascularization of the biomaterial placed in the chamber.

The **aim** of the study was to assess the state of the bone marrow placed in the diffusion chamber and transplanted to the femoral neurovascular bundle of a rat.

Materials and methods. The experimental part of the study was carried out on mature male Wistar rats. The animals were divided into two groups. Group 1 was experimental ($n = 4$), in which a polycaprolactone diffusion chamber filled with bone marrow was implanted in the femoral neurovascular bundle. Group 2 was control ($n = 3$), in which the diffusion chamber without bone marrow was implanted in a similar bundle.

Results. The histologic examination of the structure of the compact capsule in the bioengineered model in the experimental group revealed areas of woven bone tissue in 25% of the rats. An increase in the vascularization coefficient by 96% and a rise in the Kernohan index by 7% in the experimental group compared to the control group indicated that sufficient conditions were formed to develop the microvasculature while maintaining the bone marrow differentiation path.

Conclusion. The reliability of these results is confirmed by immunohistochemical markers of vascularization VEGF and CD34.

Keywords: diffusion chambers, biodegradable polymer, cell technologies, bone marrow transplant, microfluidic technologies, laboratory rats

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation, Project No. 23-25-00346.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (CDI-005/5/02.2022).

For citation: Dvornichenko M.V., Marzol E.A., Zinovyev E.A., Mitryaikin N.S., Khlusov I.A. The state and vascularization of the bone marrow transplanted in the diffusion chamber to the rat neurovascular bundle. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):37–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-37-45>.

ВВЕДЕНИЕ

Применение диффузионной камеры (ДК) продиктовано проблемой утраты объемов и биологических свойств клеточного материала, а также возможностью расширения спектра возможной имплантации. Актуальность поиска методов изоляции клеточного материала при имплантации определяется высоким процентом потерь клеточного материала, несмотря на высокое содержание мезенхимных стволовых клеток (МСК) в костном мозге. Понимание сложно-

сти имплантации костного мозга, заключающейся в необходимости имитации гемопоэтической ниши (сосудистой, эндостальной) как физиологической микросреды [1], стало основой прогресса в разработке трехмерных (3D) конструкций с возможностью иммобилизации факторов пролиферации и дифференцировки [2], а также программировании градиента гипоксии [3].

Васкуляризация костного мозга, связанная с расширением плацдарма сосудистой ниши, определена как одна из ключевых проблем его функциональ-

ности. Так, в литературе отмечены ассоциации изменений микроциркуляции костного мозга и прогрессирования гематологических опухолей, а также солидного рака [4]. Особенность васкуляризации костного мозга представляет возможность микро-флюидным технологиям *in vitro* генерировать отдельные компартменты клеточных и молекулярных сигналов в одном биоматериале [5]. Кроме этого, поддержание стволовых клеток костного мозга регулируется разными типами кровеносных сосудов с различными свойствами проницаемости [6].

Попытки учитывать перечисленные параметры в системе *in vitro* имеют определенный успех в создании первых моделей костного мозга на чипе со спонтанной васкуляризацией [7]. Известно, что новые капилляры могут возникать не только в процессе неопластического ангиогенеза, но и по механизму васкулогенеза. Адвентиция крупных сосудов, в свою очередь, является депо для клеток-предшественников, которые участвуют в регенерации микроциркуляторного русла в ответ на широкий спектр патологических стимулов. Кроме этого, непосредственно *vasa vasorum* обладают рядом молекулярно-клеточных факторов, инициирующих васкулогенез [8]. Перечисленное выше позволяет рассматривать комплекс биоинженерной конструкции ДК и адвентицию крупного сосуда как

элементы экспериментальной модели *in situ* васкуляризации трансплантата сингенного костного мозга.

Целью настоящего исследования явилась экспериментальная оценка состояния сингенного костного мозга, имплантированного в трехмерной (3D) диффузионной камере на бедренный сосудисто-нервный пучок (СНП) крысы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данном исследовании с помощью 3D-проектирования была сконструирована биоинженерная ДК в виде полимерной замкнутой капсулы со съемной крышкой, защелками и возможностью заполнения полости клеточным материалом (рис. 1). Проектирование 3D-модели камеры (рис. 1, б) осуществлялось в программной среде с открытым исходным кодом Blender. Экспериментальные образцы (рис. 1, а) получали методом послойного наплавления нитей (FFF) при помощи 3D-принтера CreatBot Duo (CreatBot 3D Printer, КНР). Торцевые стенки камеры имеют выемки для фиксации конструкции на сосуд. Камера изготовлена из поликапролактона (Natural works Ingeo 40–43d NatureWorks LLC), который представляет собой биоразлагаемый полиэфир, разрешенный к медицинскому применению, с низкой температурой плавления (59–64°) [9].

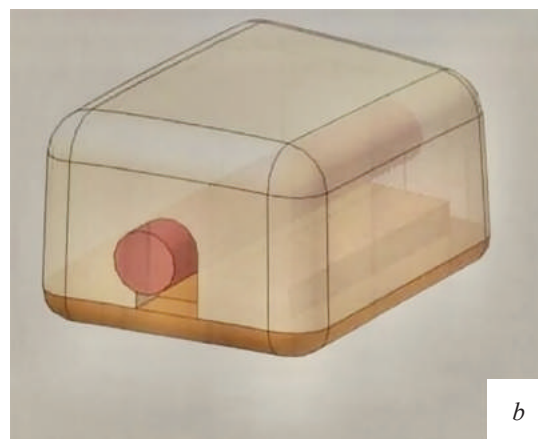
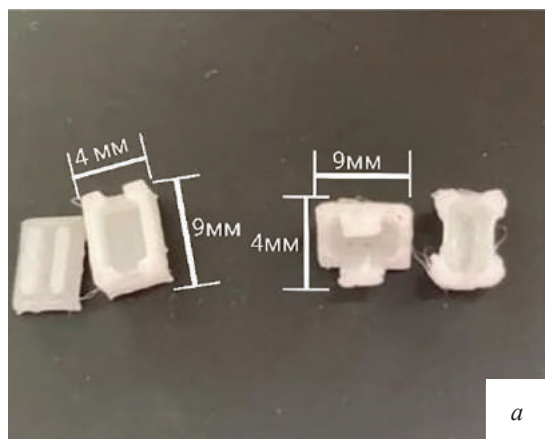


Рис. 1. 3D-конструкция (а), полученная на основе 3D-модели ДК (б)

Стерилизацию ДК проводили в парах 100%-го этиленоксида при 37 °С в течение 9 ч в газовом стерилизаторе 3M Steri-Vac Sterilizer/Aerator (3M, США) согласно ГОСТ ISO 11135-2017 [10]. Исследование осуществляли на половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 280–300 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на базе лаборатории биологических моделей Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). Животные были разделены на две группы: 1-я – эксперимен-

тальная ($n = 4$), имплантация ДК с костным мозгом на бедренный СНП; 2-я – контрольная ($n = 3$), на аналогичный СНП имплантировалась камера без содержимого.

Донорами костного мозга стали два животных, сопоставимых по массе и возрасту группам исследования. Костный мозг, полученный в асептических условиях ламинарного бокса промыванием диафизов бедренных костей культуральной стерильной средой, был помещен *ex vivo* в имплантационную каме-

ру. Имплантация ДК экспериментальным животным производилась под изофлураном. Объем имплантируемого костного мозга в ДК составил 100 мкл. За 15 мин до операции внутримышечно вводился атропин в дозировке 0,2 мг/кг для предотвращения гиперсекреции слизи в бронхах. Оперативный доступ выполнялся из разреза в 2–3 см, в глубине паховой складки, кнутри от пульсации бедренной артерии [11]. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с директивой Европейского парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей».

Спустя 6 ч после вмешательства состояние крыс стало стабильным. На 40-е сут окончания срока имплантации животные были подвергнуты эвтаназии методом ингаляции CO_2 с соблюдением правил и норм Европейского общества (86/609/EEC), Хельсинкской декларации и приказов Министерства здравоохранения СССР (№ 742 от 13.11.1984 и № 48 от 23.01.1985).

Макроскопическая (визуальная) оценка места имплантации проводилась через 40 сут эксперимента при некропии и оценивалась по степени кровенаполнения сосудов, инкапсуляции и визуальных признаков воспалительной реакции (наличие гиперемии, отека, инфильтрата) в балловой системе, где 0 баллов – отсутствие признака, 1 – слабая степень, 2 балла – умеренная степень.

Приготовление гистологических препаратов после некропии осуществляли по стандартной методике [12]. Микроскопия проводилась на световом микроскопе Karl Zeiss Observer D1 (Германия). Для иммуногистохимического окрашивания использовались кроличьи поликлональные антитела VEGF (Anti-VEGFA antibody, ab46154 антитела фирмы Dako (Mouse monoclonal [EIC] to VEGF Receptor 2), CD-34 (Anti-CD34 antibody, ab185732 антитела фирмы Dako к CD34 (Clone QBEnd 10)), CD-45 (CD45-APC-Cy7, Biolegend, США)). Окрашка выполнена согласно инструкции фирмы-производителя. Для анализа результатов иммуногистохимических реакций использовали метод оценки экспрессии красителя по балльной шкале, где 3 балла (+++) – сильное, 2 (++) – умеренное и 1 балл (+) – слабое окрашивание [13]. Микроскопия проводилась на световом микроскопе Karl Zeiss Observer D1 (Германия). Морфометрия с оценкой коэффициента васкуляризации была проведена по изображениям, полученным цифровой камерой для световой микроскопии Zeiss AxioCam ICc5 (Германия).

Для количественной оценки степени васкуляризации костного мозга в ДК, фиксируемой на бедренный СНП крысы, применялись следующие коэффициен-

ты: коэффициент васкуляризации (КВ) оценивался по формуле $\text{КВ} = S_c/S_\phi \times 100\%$, где S – площадь всех сосудов микроциркуляторного русла, S_ϕ – площадь фототомографии [14], исключая бедренную артерию и вену, индекс Керногана (ИК) рассчитывался как $\text{ИК} = (2 \times L_{\text{стенки артерии}}) / D_{\text{артерии}}$, где L – толщина средней оболочки артерии, D – диаметр просвета артерии [15].

Для расчета параметров оценивали 10 полей зрения в каждой группе. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0, IBM (США). Проверку статистических гипотез на характер распределения признака осуществляли при помощи критерия Шапиро – Уилка для малых ($n < 30$) выборок. При обработке полученных результатов использовали методы описательной и непараметрической статистики. Исследуемые параметры описывали как медиану (Me) интерквартильного размаха (Q_1 ; Q_3). При сравнении независимых выборок использовали критерий Краскела – Уоллиса с медианным тестом, для парных сравнений – критерий Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Интраоперационно фиксация камеры не нарушала общее кровообращение и иннервацию (рис. 2). Постоперационно видимых воспалительных реакций в период наблюдения (40 сут) в зонах имплантации не наблюдалось (рис. 3).



Рис. 2. Имплантационное ложе ДК

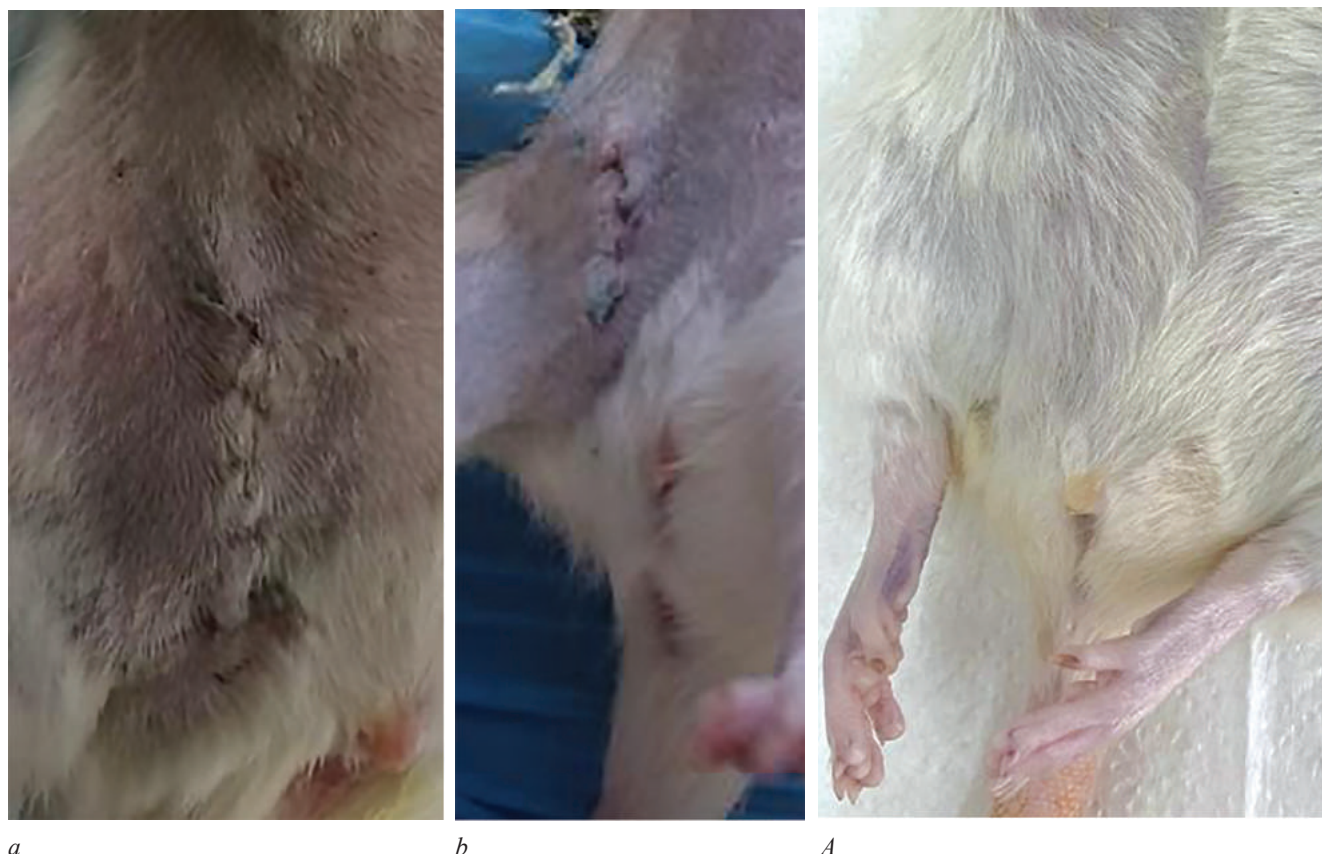


Рис. 3. Место имплантации ДК после операции: *a* – экспериментальная группа, *b* – контрольная группа

Результаты макроскопической (визуальной) оценки места имплантации по степени кровенаполнения сосудов, инкапсуляции и визуальных признаков воспалительной реакции (наличие гиперемии, отека, инфильтрата) показали (табл. 1), что в экспериментальной группе имплантация сопровождалась слабовыраженными (согласно ГОСТ ISO 10993-6-2021) изменениями в виде гиперемии и формирования соединительнотканной капсулы.

Таблица 1

Макроскопические изменения в имплантационном ложе ДК с костным мозгом на бедренном СНП крыс на 40-е сут эксперимента, баллы, <i>Me (Q₁; Q₃)</i>			
Группа	Воспаление	Гиперемия места имплантации	Инкапсуляция камеры
Экспериментальная, <i>n</i> = 4	0 (0; 0)	1 (1; 1,5)	1,5 (1; 1,5)
Контрольная, <i>n</i> = 3	0 (0; 0)	0 (0; 1)	–

Примечание. *n* – число животных в каждой группе.

По данным гистологического исследования выявлено, что имплантируемые биоинженерные конструкции были покрыты компактной капсульной структурой толщиной более 50 мкм, выполненной

из зрелой соединительной ткани (рис. 4). Эта ткань была классифицирована как рыхлая волокнистая неоформленная соединительная с развитой микроциркуляцией. В контрольной группе эти компактные капсульные структуры обнаружить не удалось.

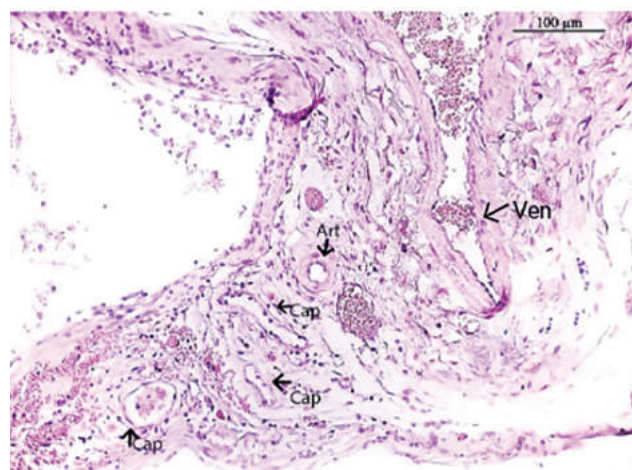


Рис. 4. Микроскопическая картина распределения кровеносных сосудов микроциркуляторного русла в соединительнотканной капсуле вокруг ДК на 40-е сут имплантации. Здесь и на рис. 5: Cap – капилляры, Art – артериолы, Ven – венулы. Окраска гематоксилином и эозином. Световая микроскопия. $\times 40$

Соединительная ткань выявлена также в полости камеры с прилеганием к полимерной стенке (рис. 5, а), аналогичной по архитектуре и составным элементам соединительнотканной капсулы ДК (рис. 5).

Микроскопия содержимого камеры показала наличие у всех животных в экспериментальной и контрольной группах участки рыхлой волокнистой соединительной ткани с большим количеством сосудов микроциркуляторного русла (см. рис. 5). Микроско-

пия поперечного среза бедренного СНП, как места фиксации ДК с костным мозгом, не выявила сужение просвета сосуда по сравнению с аналогичным параметром животных контрольной группы. Стенка сосуда характеризовалась однородностью клеток эндотелия, увеличением мышечного слоя. Отмечен рост количества мелких сосудов в мышечной слое и адвентиции (*vasa vasorum*) с увеличением просвета последних (рис. 6).

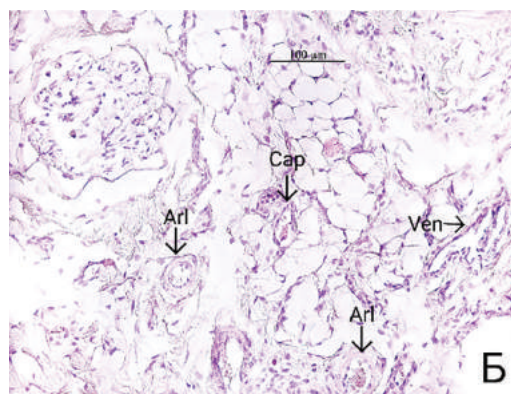
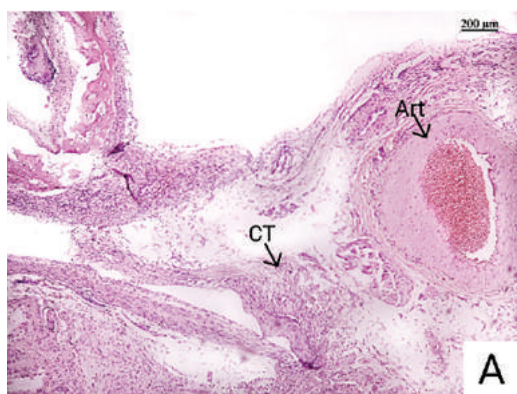


Рис. 5. Микроскопическая картина соединительнотканного содержимого ДК (а) и микроциркуляторного русла содержимого ДК (б) на 40-е сут имплантации: СТ – соединительная ткань, Art – артерия; окраска гематоксилином и эозином; световая микроскопия; $\times 10$ (а); $\times 40$ (б)

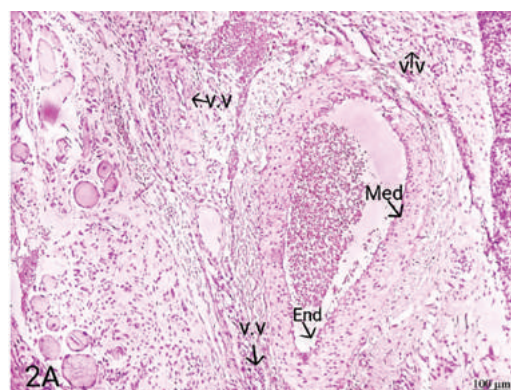
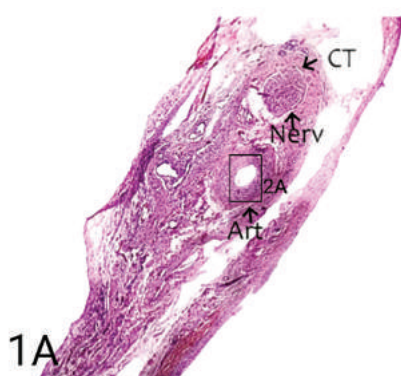


Рис. 6. Микроскопическая картина СНП с ДК крысы: Art – артерия, Nerv – нерв, СТ – соединительнотканное содержимое ДК. Окраска гематоксилином и эозином. Световая микроскопия. $\times 10$. 2A – микроскопическая картина артерии СНП. Med – средняя оболочка артерии, v.v. – *vasa vasorum*, End – эндотелий. $\times 40$

Результаты количественной оценки ангиогенеза ДК с костным мозгом фиксируемой на бедренный СНП крысы, по данным коэффициента васкуляризации, индекса Керногана, представлены в табл. 2.

Согласно табл. 2, за период имплантации в ДК на нервно-сосудистом пучке формируются достаточные условия, способствующие росту сосудов микроциркуляторного русла в зоне регенерационной метаплазии КМ в соединительную ткань и ее производные (жировую, костную) по ходу бедренной артерии с фиксированной на ней биоинженерной конструкции с костным мозгом.

Таблица 2

Показатели васкуляризации ДК с костным мозгом, фиксируемой на бедренный СНП, Me (Q_1 ; Q_3)		
Показатель	Группа	
	Экспериментальная, n = 4	Контрольная, n = 3
Коэффициент васкуляризации, %	1,28* (0,93; 1,60)	0,65 (0,37; 0,71)
Индекс Керногана, пкс	0,72* (0,69; 0,73)	0,67 (0,66; 0,68)

* статистически значимые различия показателей экспериментальной группы по сравнению с соответствующим контрольным значением при $p < 0,05$.

По данным иммуногистохимического анализа, в срезах наблюдалась экспрессия VEGF, CD34 и CD45 у всех животных экспериментальной и контрольной групп, но в экспериментальной группе при мета-

плазии КМ она была более выраженной для CD34 (рис. 7, *c, d*) и VEGF (рис. 7, *a, b*). В обеих группах показано присутствие гематолимфоидной линии с CD45 маркером до 40-х сут исследования (рис. 7, *e, f*).

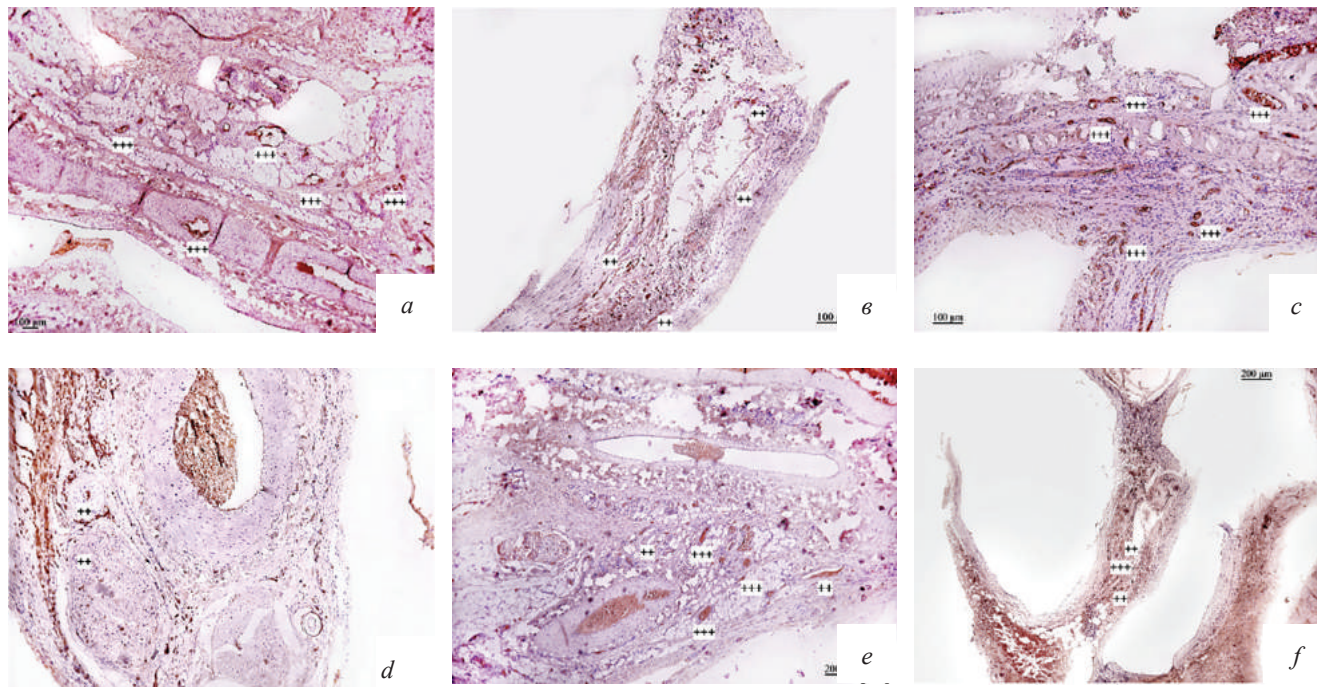


Рис. 7. Экспрессия VEGF, CD34, CD45 в экспериментальной и контрольной группах. $\times 10$. +++ – сильное окрашивание, ++ – умеренное окрашивание. Экспрессия VEGF в содержимом ДК в экспериментальной группе. Степень экспрессии оценена в 3 балла (+++) (*a*); экспрессия VEGF в содержимом ДК в контрольной группе. Степень экспрессии оценена в 2 балла (++) (*b*); экспрессия CD34 в содержимом ДК в экспериментальной группе. Степень экспрессии оценена в 3 балла (++) (*c*); экспрессия CD34 в содержимом ДК в контрольной группе. Степень экспрессии оценена в 2 балла (++) (*d*); экспрессия CD45 в содержимом ДК в экспериментальной группе. Степень экспрессии оценена в 3 балла (++) (*e*); экспрессия CD45 содержимого ДК в контрольной группе. Степень экспрессии оценена в 2 балла (++) (*f*)

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе настоящего исследования были продемонстрированы основные морфологические особенности васкуляризации при имплантации костного мозга в ДК на бедренный СНП. Материал ДК – поликапролактон является биосовместимым и биоразлагаемым полимером. Продуктами деградации поликапролактона являются вода, углекислый газ, капроновая кислота, являющиеся безопасными для организма животного [16].

Приведенные литературные данные подтверждены настоящим исследованием, в котором продемонстрировано отсутствие повреждающего действия продуктов деградации поликапролактона в виде воспалительных реакций в месте имплантации. При оценке послеоперационного состояния тканей животного в месте имплантации не было выявлено воспалительных реакций. Выявленное увеличение

количества сосудов микроциркуляторного русла и повышение значения коэффициента васкуляризации в ДК, несущей КМ, свидетельствуют об его стимулирующем влиянии на формирование васкуляризированной стромы вокруг магистральных сосудов. Иммуногистохимические маркеры васкуляризации VEGF и CD34 подтвердили гистологические результаты. VEGF – сигнальный белок, вырабатываемый для индукции васкулогенеза и ангиогенеза, отвечает за восстановление притока кислорода к тканям [17]. Экспрессия CD34 в настоящем исследовании, согласно инструкции фирмы-производителя, интерпретировалась как маркер эндотелиальных клеток кровеносных и лимфатических сосудов [18], также характеризовалась увеличением при имплантации камеры с КМ. CD45 – белок семейства тирозинových протеинфосфатаз. Ген этого белка специфически экспрессируется в гемопоэтических клетках. Белок играет роль в передаче сигнала от клеточных

рецепторов антигена [19]. Экспрессия маркера гемопоэтических клеток CD45 в гистологических срезах на месте имплантированного КМ и без него (контроль) предполагает миграцию клеток крови в зону повреждения с последующим активным участием в регенеративных процессах [20].

Поликапролактон имеет адсорбционные свойства к мезенхимным стволовым клеткам и низкой клеточной токсичностью [21]. Как местные (сосудистые и КМ), так и циркулирующие МСК и перициты могут быть источником неоангиогенеза [22]. Тем не менее присутствие КМ в ДК значительно усиливает васкуляризацию имплантата. При этом в литературе также указан противовоспалительный/регенераторный эффект МСК КМ в зоне имплантации.

Цитокиновый спектр МСК может является фактором, влияющим на отсутствие в зоне имплантации воспалительной реакции [23]. Так, индукторы васкулогенеза (например, VEGF, интерлейкин-10), секретируемые МСК, являются также цитокинами, регулирующими регенерацию тканей [24]. Физиологическим направлением дифференцировки МСК КМ является образование хорошо васкуляризованной рыхлой неоформленной соединительной ткани при подкожной имплантации [24], что сохранялось в условиях имплантации костного мозга в условиях ДК на бедренный СНП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диффузионная камера из поликапролактона, фиксированная на магистральном СНП, не вызывает механических повреждений, воспаления и постимплантационных осложнений. Костный мозг, имплантированный в ДК, претерпевает процессы регенеративной метаплазии с дифференцировкой МСК в фибробласты и, возможно, эндотелиальные клетки. Усиление васкуляризации в зоне эктопически регенерирующего костного мозга создает условия для *in situ* инженерии паренхиматозных органов, нуждающихся в сохранном кровоснабжении (печень и др.). В целом формирование функциональной системы «ДК – костный мозг – магистральный кровоток» может быть полезным инструментом в развитии экспериментальной тканевой инженерии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Zhang P., Zhang C., Li J., Han J., Liu X., Yang H. The physical microenvironment of hematopoietic stem cells and its emerging roles in engineering applications. *Stem Cell Res. Ther.* 2019;10(1):327. DOI: 10.1186/s13287-019-1422-7.
2. Mahadik B.P., Pedron Haba S., Skertich L.J., Harley B.A. The use of covalently immobilized stem cell factor to selectively affect hematopoietic stem cell activity within a gelatin hydrogel. *Biomaterials.* 2015;67:297–307. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.07.042.
3. Sharma M.B., Limaye L.S., Kale V.P. Mimicking the functional hematopoietic stem cell niche in vitro: recapitulation of marrow physiology by hydrogel-based three-dimensional cultures of mesenchymal stromal cells. *Haematologica.* 2012;97(5):651–660. DOI: 10.3324/haematol.2011.050500.
4. Batsivari A., Haltall M.L.R., Passaro D., Pospori C., Lo Celso C., Bonnet D. Dynamic responses of the hematopoietic stem cell niche to diverse stresses. *Nat. Cell Biol.* 2020;22(1):7–17. DOI: 10.1038/s41556-019-0444-9.
5. Cosson S., Lutolf M.P. microfluidic patterning of protein gradients on biomimetic hydrogel substrates. *Methods in Cell Biology.* 2014;121:91–102. DOI: 10.1016/B978-0-12-800281-0.00007-5.
6. Itkin T., Gur-Cohen S., Spencer J.A., Schajnovitz A., Ramasamy S.K., Kusumbe A.P. et al. Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate haematopoiesis. *Nature.* 2016;532(7599):323–328. DOI: 10.1038/nature17624.
7. Jeon J.S. et al. Generation of 3D functional microvascular networks with mural cell-like human mesenchymal stem cells in microfluidic systems by vasculogenesis-like process. *Integr. Biol. (Camb.).* 2014;6(5):555–563. DOI: 10.1039/c3ib40267c.
8. Mulligan-Kehoe M.J. The vasa vasorum in diseased and nondiseased arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2010;298(2):H295–305. DOI: 10.1152/ajpheart.00884.
9. Zhou X., Pan Y., Liu R. et al. Biocompatibility and biodegradation properties of polycaprolactone/polydioxanone composite scaffolds prepared by blend or co-electrospinning. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers.* 2019;34(2):115–130. DOI: 10.1177/0883911519835569.
10. ГОСТ ISO 11135-2017 Стерилизация медицинской продукции. Этиленоксид. Требования к разработке, валидации и текущему управлению процессом стерилизации медицинских изделий.
11. Kokozidou M., Katsargyris A., Verhoeven Eric L.G., Schulze-Tanzil G. Vascular access animal models used in research. *Ann. Anatomy.* 2019;225:65–75. DOI: 10.1016/j.aanat.2019.06.002.
12. Богданов Л.А., Кутихин А.Г. Оптимизация окрашивания элементов системы кровообращения и гепатопортальной системы гематоксилином и эозином. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2019;4(4):70–77. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-4-70-77.
13. Коняева А.Д., Варакута Е.Ю., Лейман А.Е., Рафиев Д.О., Бельбасов Е.Н., Станкевич К.С. Морфологические особенности регенерации слизистой оболочки полости рта при применении полимерных пьезоэлектрических мембран. *Вестник РГМУ.* 2023;(3):61–68. DOI: 10.24075/vrgmu.2023.020.
14. Нестерова Е.С., Кравченко С.К., Гемджян Э.Г., Османов Е.А., Ковригина А.М. Оценка васкуляризации и микроокружения опухолевой ткани при фолликулярной лимфоме. *Терапевтический архив.* 2013;85(7):57–64.
15. Никель В.В., Самотесов П.А., Ефремова В.П., Батухтина Н.П., Вахтина Л.Ю., Беззаботнов В.Е. Морфофункциональное состояние артериальных сосудов полых паренхиматозных органов. *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2015;(3):76.

16. Казанцева Е.А. Конструирование и оценка эффективности систем контролируемой доставки сельскохозяйственных препаратов различного действия: магистерская диссертация. М., 2018.
17. Степанов И.В., Алтыбаев С.Р., Крахмаль Н.В., Рачковский К.В., Сорокин Д.А., Афанасьев С.Г. и др. Связь параметров опухолевого неоангиогенеза с лимфогенным метастазированием при раке прямой кишки. *Сибирский онкологический журнал*. 2017;16(3):46–51. DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-3-46-51.
18. Vasuri F., Fittipaldi S., Giunchi F., Monica M., Ravaioli M., Degiovanni A. Facing the enigma of the vascular network in hepatocellular carcinomas in cirrhotic and non-cirrhotic livers. *J. Clin. Pathol.* 2016;69(2):102–108. DOI: 10.1136/jclinpath-2015-203028.
19. Park S., Kim J.-Y., Jang G.-B., Choi J.-H., Kim J.-H., Lee C.-L. Aberrant activation of the CD45-Wnt signaling axis promotes stemness and therapy resistance in colorectal cancer cells. *Theranostics*. 2021;11(18):8755–8770. DOI: 10.7150/thno.63446.
20. Юрова К.А., Хазиахматова О.Г., Малащенко В.В., Норкин И.К., Иванов П.А., Хлусов И.А. и др. Клеточно-молекулярные аспекты воспаления, ангиогенеза и остеогенеза. Краткий обзор. *Цитология*. 2020;62(5):305–315. DOI: 10.31857/S0041377120050090.
21. Woodruff M.A., Hutmacher D.W. The return of a forgotten polymer – polycaprolactone in the 21st century. *Prog. Polym. Sci.* 2010;35(10):1217–1256. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002.
22. Murr L.E. Strategies for creating living, additively manufactured, open-cellular metal and alloy implants by promoting osseointegration, osteoinduction and vascularization: An overview. *J. Mater. Sci. Technol.* 2019;35(2):231–241. DOI: 10.1016/j.jmst.2018.09.003.
23. Dang J., Yang J., Yu Z., Chen L., Zang Z., Wang K. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells enhance angiogenesis and promote fat retention in fat grafting via polarized macrophages. *Stem Cell Res. Ther.* 2022;13(1):52. DOI: 10.1186/s13287-022-02709-2.
24. Khlusov I., Litvinova L., Shupletsova V., Khaziakhmatova O., Malashchenko V., Yurova K. et al. Costimulatory effect of rough calcium phosphate coating and blood mononuclear cells on adipose-derived mesenchymal stem cells in vitro as a model of *in vivo* tissue repair. *Materials*. 2020;13(19):4398. DOI: 10.3390/ma13194398.

Вклад авторов

Марзоль Е.А., Дворничко М.В., Хлусов И.А. – разработка концепции и дизайна. Марзоль Е.А., Зиновьев Е.А., Митрякин Н.С. – анализ и интерпретация данных. Марзоль Е.А., Зиновьев Е.А., Дворничко М.В. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Дворничко М.В., Хлусов И.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Дворничко Марина Владимировна – д-р мед. наук, профессор кафедры анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, науч. сотрудник, лаборатория клеточных и микрофлюидных технологий, СибГМУ, Томск, dochic@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9783-0817>

Марзоль Екатерина Александровна – аспирант, кафедра морфологии и общей патологии, ст. преподаватель, кафедра анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, мл. науч. сотрудник, лаборатория клеточных и микрофлюидных технологий, СибГМУ, Томск, Katya4803@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4119-7562>

Зиновьев Егор Андреевич – студент 3-го курса, лечебный факультет, СибГМУ, Томск, egorzinovye@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-8980-7967>

Митрякин Никита Сергеевич – студент 3-го курса, лечебный факультет, СибГМУ, Томск, ehmaligenauroren@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0002-1436-5601>

Хлусов Игорь Альбертович – д-р мед. наук, профессор кафедры морфологии и общей патологии, зав. лабораторией клеточных и микрофлюидных технологий, СибГМУ, Томск, khlusov63@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3465-8452>

(✉) **Марзоль Екатерина Александровна**, Katya4803@mail.ru

Поступила в редакцию 18.10.2023;
одобрена после рецензирования 21.11.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.98:578.834.1]-07-097
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-46-54>

Клинико-иммунологическая характеристика постковидного синдрома

Жданова Е.В.¹, Рубцова Е.В.^{2,3}, Костоломова Е.Г.¹

¹ Тюменский государственный медицинский университет (ТюмГМУ)
Россия, 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54

² Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии
им. акад. Г.А. Илизарова (Центр Илизарова)
Россия, 640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6

³ ООО «Поликлиника консультативно-диагностическая имени Е.М. Нигинского»
Россия, 625023, г. Тюмень, ул. Мельникайте, 89а

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить динамику клинических проявлений и цитокиновый профиль сыворотки крови у пациентов с постковидным синдромом.

Материалы и методы. Обследовано 46 пациентов (37 женщин и 9 мужчин) с признаками постковидного синдрома спустя 1–12 мес после перенесенной инфекции COVID-19. Факт перенесенной инфекции COVID-19 был лабораторно подтвержден (положительный результат полимеразной цепной реакции ПНК SARS-Cov-2 в анамнезе или положительный титр антител иммуноглобулина (Ig) класса G к SARS-Cov-2 после купирования острого периода и при бессимптомном течении инфекции). Наряду с обязательным перечнем исследований, предусмотренных порядком проведения обязательных периодических осмотров медицинских работников, в сыворотке крови пациентов определяли содержание цитокинов интерлейкина (IL) 1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, фактора некроза опухоли альфа (TNF α), интерферона гамма (IFN γ) и уровень общего IgE.

Результаты. Формирование постковидного синдрома не зависит от возраста, пола пациентов и тяжести течения острого периода перенесенной инфекции. При отсутствии противовирусной терапии или ее не-полноценности вероятность развития постковидного синдрома повышается. В основе формирования клинических проявлений в ранние сроки – до 3 мес – постковидного синдрома лежит высокий уровень и дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов при отсутствии лабораторных признаков воспаления. Клиническая картина характеризуется симптомами астенизации и функциональными нарушениями нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной систем и желудочно-кишечного тракта. Спустя 3 мес уровень большинства цитокинов нормализуется, но остается высокой только концентрация IL-17. Аллергические и аутоаллергические механизмы повреждения кожи, органов дыхания, суставов, а также прогрессирование сердечно-сосудистой патологии определяют клиническую симптоматику постковидного синдрома на протяжении 3–12 мес.

Заключение. Динамика цитокинового фона в течение 12 мес отражает различные механизмы повреждения в разные сроки постковидного синдрома, что и определяет спектр его клинических проявлений.

Ключевые слова: постковидный синдром, астенический синдром, цитокины

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

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

Соответствие принципам этики. Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено независимым этическим комитетом «Национальный медицинский иссле-

довательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» (протокол № 2 (72) от 07.10.2022).

Для цитирования: Жданова Е.В., Рубцова Е.В., Костоломова Е.Г. Клинико-иммунологическая характеристика постковидного синдрома. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):46–54. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-46-54>.

Clinical and immunological characteristics of post-COVID syndrome

Zhdanova E.V.¹, Rubtsova E.V.^{2,3}, Kostolomova E.G.¹

*Tyumen State Medical University
54, Odesskaya Str., Tyumen, 625023, Russian Federation*

² *National Ilizarov Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics
6, M. Ulyanova Str., Kurgan 640014, Russian Federation*

*E.M. Niginsky Consultative and Diagnostic Clinic
89a, Melnikaite Str., Tyumen, 625023, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To evaluate changes in clinical manifestations and the cytokine profile of blood serum in patients with post-COVID syndrome.

Materials and methods. The study involved 46 patients (37 women and 9 men) with signs of post-COVID syndrome 1–12 months after COVID-19 infection. COVID-19 infection was laboratory-confirmed (patients were tested positive for SARS-Cov-2 RNA using polymerase chain reaction (PCR), or they were tested positive for SARS-Cov-2 immunoglobulin (Ig)G antibodies after the end of the acute phase and in asymptomatic infection). Along with mandatory tests included in the regular health checkup of medical staff, the levels of interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, tumor necrosis factor alpha (TNF α), interferon gamma (INF γ), and total IgE were determined in the blood serum of patients.

Results. The results showed that the development of post-COVID syndrome did not depend on the age and gender of patients and the severity of the acute phase of infection. Patients were more likely to develop post-COVID syndrome in the absence of antiviral therapy or in case of its ineffectiveness. A high level and imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines without laboratory signs of inflammation underlie the development of clinical manifestations at early stages of post-COVID syndrome (up to 3 months). The clinical presentation was characterized by symptoms of asthenia and functional disorders in the nervous, cardiovascular, and respiratory systems and gastrointestinal tract. After 3 months, the content of most cytokines returned to normal levels, whereas only the concentration of IL-17 remained elevated. Allergic and autoallergic mechanisms of damage to the skin, respiratory organs, and joints, as well as progression of cardiovascular pathology determined the clinical symptoms of post-COVID syndrome for 3–12 months.

Conclusion. The changes in the cytokine profile over 12 months reflect different damage mechanisms at different periods of the post-COVID syndrome, which determines the range of its clinical manifestations.

Keywords: post-COVID syndrome, asthenic syndrome, cytokines

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

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

Conformity with the principles of ethics. All persons signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at the National Ilizarov Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics (Protocol No. 2 (72) of 07.10.2022).

For citation: Zhdanova E.V., Rubtsova E.V., Kostolomova E.G. Clinical and immunological characteristics of post-COVID syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):46–54. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-46-54>.

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия, вызванная SARS-CoV-2, со своим волнообразным течением за счет новых мутаций вируса, приводит к развитию хронического состояния, которое названо «длительным COVID» [1]. Около 20% людей, перенесших острый период COVID-19 с завершённой репликацией SARS-CoV-2, в постковидном периоде испытывают совокупность различных клинических симптомов, которые составляют постковидный синдром (ПКС) [1–3] и от которого страдают до 5 млн человек во всем мире [4, 5].

Постковидный синдром внесен в Международную классификацию болезней 10-го пересмотра (U09.9) как состояние после COVID-19 (Post COVID-19 condition, unspecified) с временным критерием не менее 12 нед [6, 7]. Большинство пациентов в постковидном периоде имеют тенденцию к нормализации лабораторных и рентгенологических показателей, что говорит о достигнутом вирусологическом выздоровлении. Несмотря на это, некоторые пациенты не возвращаются к изначальной физической активности и не отмечают полного выздоровления [8–10]. Особое внимание следует обратить на то, что развитие ПКС не зависит от возраста, гендерных отличий, тяжести течения острого периода, предшествующей госпитализации, и симптоматика может проявиться в различные сроки после перенесенного заболевания.

В настоящее время в нашей стране разработаны и включены в практическую медицину рекомендации по реабилитационным мероприятиям после перенесенного COVID-19 [6]. Предложенная шкала индивидуальной реабилитационной маршрутизации людей, перенесших COVID-19, определяет возможность восстановительных мероприятий на различных этапах оказания медицинской помощи, в частности на амбулаторном. Для этой программы приоритетом является восстановительный период первых 3 мес после острого периода коронавирусной инфекции. Раннее начало реабилитации имеет цель предупредить осложнения и ускорить сроки полного восстановления и возвращения к прежнему образу жизни.

Однако часть пациентов не достигают полного выздоровления даже через 12 мес, что значительно снижает их качество жизни, кроме того, в клинической практике все чаще фиксируются как дебюты, так и прогрессирование многих хронических заболеваний не только в период до 12 нед, но и через 3–8 мес после перенесенной инфекции. В связи с этим выявление механизмов формирования ПКС является актуальным и может служить основой для прогнозирования развития осложнений и патогенетического обоснования профилактики и коррекции его проявлений.

Цель: оценить динамику клинических проявлений и цитокиновый профиль сыворотки крови у пациентов с постковидным синдромом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ полученных данных проведен на базе амбулаторного-поликлинического отделения одного из лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) г. Тюмени с января по май 2022 г. В исследовании приняли участие сотрудники данного ЛПУ, проходившие очередной периодический медицинский осмотр (всего 302 человека, из них 204 женщины). Обязательный перечень обследований включал в себя осмотр терапевта, клинический и биохимический (уровень глюкозы, общего холестерина, липопротеинов высокой плотности, липопротеинов низкой плотности, триглицеридов) анализы крови, электрокардиограмму, флюорографическое исследование органов грудной клетки согласно утвержденному МЗ РФ порядку проведения обязательных периодических осмотров медицинских работников, осуществляющих работы с вредными и (или) опасными производственными факторами (приказ Минздрава РФ от 28.01.2021 № 29Н в ред. от 01.02.2022).

Из общего числа обследованных 46 пациентов (37 женщин и девять мужчин) имели признаки астенического синдрома спустя 1–12 мес после перенесенной инфекции COVID-19. Они не имели соматических заболеваний, которые в постковидном периоде могли спровоцировать или усугубить общую астенизацию, т.е. представляли I–II группы здоровья. У всех был лабораторно подтвержденный факт перенесенной инфекции COVID-19 (положительный результат полимеразной цепной реакции ПНК SARS Cov-2 в анамнезе или положительный титр антител иммуноглобулина (Ig) класса G к SARS-Cov-2 после купирования острого периода и при бессимптомном течении инфекции).

Тяжесть перенесенной инфекции COVID-19 в остром периоде оценена согласно Временным методическим рекомендациям профилактики, диагностики и лечения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (Минздрав России. Версия 17 (09.12.2022)). Анамнестически 5 человек перенесли острый период COVID-19 бессимптомно, 26 – легко, 10 – средней степени тяжести и 5 – в тяжелой форме. Сроки давности последнего перенесенного острого периода инфекции: 1–3 мес ($n = 12$); 3–6 мес ($n = 18$); 6–12 мес ($n = 16$). Перенесли COVID-19 более двух раз в течение последних 2 лет 49% обследованных.

Содержание цитокинов интерлейкина (IL) -1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, фактора некроза

опухоли альфа (TNF α) и интерферона гамма (INF γ) в сыворотке крови у пациентов с ПКС определяли иммуноферментным методом с использованием стандартного набора реактивов (ООО «Протеиновый контур», Россия). Анализ проводили согласно инструкции, прилагаемой к набору фирмой-изготовителем. Регистрацию результатов проводили на фотометре Multiskan (Labsystems, Финляндия). В качестве контрольных величин использовали показатели, полученные при исследовании сыворотки здоровых доноров крови ($n = 25$). Уровень общего IgE в сыворотке крови определяли с помощью ELISA-анализа с фиксацией результата на ридере Multiskan Sky High (Thermo FS, Финляндия).

Статистическая обработка результатов осуществлена с помощью компьютерной программы Statistica 9 (StatSoft, США). С целью выбора метода статистического анализа проведено определение нормальности распределения значений признаков с использованием критерия Шапиро – Уилка. Нормальный уровень распределения был только у одного из изученных показателей. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_{25}; Q_{75}]$. Анализ различий проводили с помощью непараметрического U -критерия Манна – Уитни. При уровне значимости $p < 0,05$ различия между группами считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Астенический синдром как основное проявление ПКС чаще встречался у женщин ($n = 37$), чем у мужчин ($n = 9$). Средний возраст женщин составил 49,43 [18,0; 73,0] лет. Средний возраст мужчин был выше – 57, 62 [31,0; 73,0] лет (табл. 1).

В основном как мужчины, так и женщины перенесли острый период инфекции в легкой форме (57%, $n = 26$), получая лечение в амбулаторных условиях. Более половины из них (52%) принимали противовирусную терапию не в полном объеме, т.е. не завершили курс противовирусной терапии до конца и (или) не всегда принимали противовирусные препараты в лечебной дозе, или самостоятельно уменьшили дозу

и (или) количество назначенных медикаментов. Перенесли заболевание средней степени тяжести с осложнением в виде интерстициальной пневмонии 10 пациентов, в большинстве своем женщины.

Таблица 1

Возрастные, половые характеристики клинических групп		
Показатель	Число случаев, n (%)	Распределение по возрасту
Мужчины	9 (20%)	18–30 лет: 0 31–40 лет: 1 41–50 лет: 0 51–60 лет: 3 61–70 лет: 3 71 год и старше: 2
Женщины	37 (80%)	18–30 лет: 5 31–40 лет: 6 41–50 лет: 10 51–60 лет: 9 61–70 лет: 3 71 год и старше: 4

В тяжелой форме инфекция COVID-19 перенесена пятью сотрудниками, из которых трое мужчин. Все пациенты при среднетяжелом и тяжелом течении инфекции получали терапию в стационаре с последующим курсом реабилитации в амбулаторных условиях. Ими был пройден курс этиотропной противовирусной терапии в полном объеме. Перенесли острый период инфекции бессимптомно и были проинформированы о перенесенном COVID-19 лишь по положительному результату IgG к SARS-Cov-2 пять пациентов, из которых четыре женщины.

В течение первых 3 мес после купирования острого периода COVID-19 чаще в медицинской помощи нуждались более молодые люди, среди которых пять женщин в возрасте 32,53 [31,0; 48,0] лет (рис. 1). В период 3–6 мес, напротив, на ухудшение общего состояния чаще жаловались мужчины старше 50 лет. В период 6–12 мес половой состав пациентов был одинаковым, но при этом чаще ухудшение состояния отмечали люди более старшего возраста – 52,3 [45,0; 73,0] лет (рис. 2).

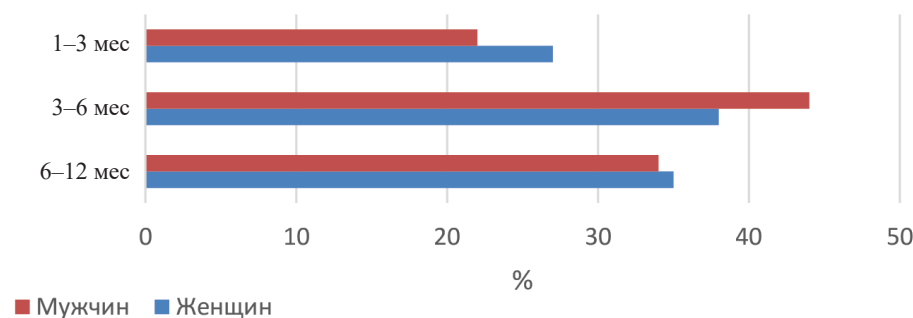


Рис. 1. Половой состав пациентов с ПКС в зависимости от давности перенесенного острого периода

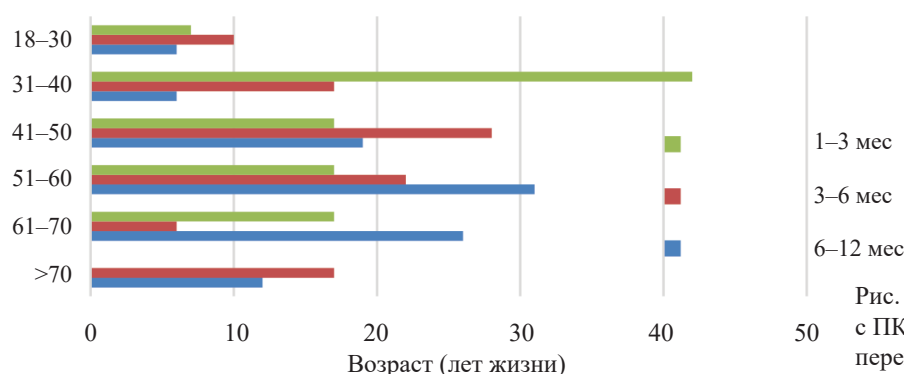


Рис. 2. Возрастной состав пациентов с ПКС в зависимости от давности перенесенного острого периода

В течение 2–3-го мес после перенесенной острой инфекции ведущим синдромом у всех пациентов явился астенический (рис. 3), основными проявлениями которого были: выраженная немотивированная общая слабость, быстрая утомляемость и снижение трудоспособности. Предъявляли жалобы со стороны поражения центральной нервной системы (ЦНС) в виде стойких головных болей разлитого характера, когнитивных и психических нарушений (нарушение сна: бессонница ночью и сонливость днем, яркие сновидения, кошмары, ухудшение памяти на текущие события, невозможность сосредоточиться) семь из 12 пациентов. У пяти пациентов астенизация сопровождалась симптомами нарушения функций сердечно-сосудистой системы (ССС) по типу декомпенса-

ции или дебюта сердечно-сосудистых заболеваний в виде немотивированной тахикардии, повышения или колебаний показателей артериального давления, нарастания одышки при привычной физической нагрузке. При проведенном дообследовании (эхокардиография, суточное холтеровское мониторирование) существенных органических повреждений сердца обнаружено не было. У четырех пациентов фиксировались жалобы на нарушения зрения в виде снижения его остроты, появлении «тумана», «чувства песка», сухости глаз. С такой же частотой сохранялись признаки дисфункции дыхания. Имелись жалобы на кожные высыпания в виде полиморфных пятен или гнойничковой сыпи, диспепсические расстройства и полиартралгии (по одному случаю).

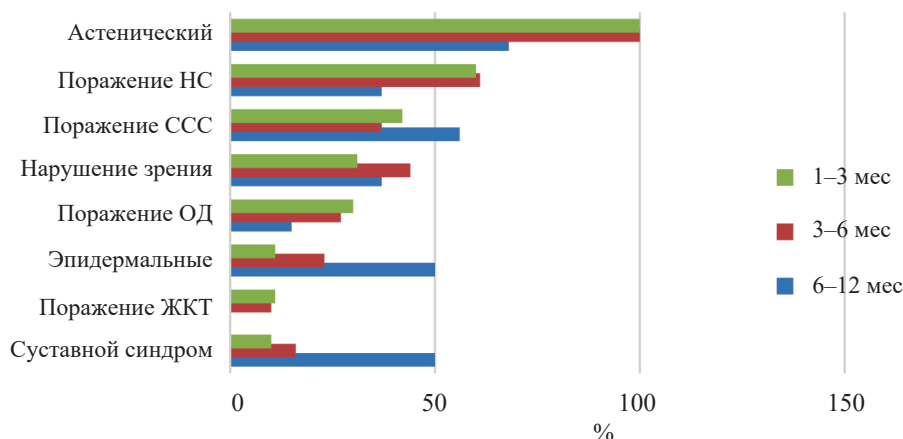


Рис. 3. Жалобы, предъявляемые пациентами в различные периоды ПКС: НС – нервная система, ССС – сердечно-сосудистая система, ОД – органы дыхания, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

При анализе цитокинового профиля сыворотки крови у пациентов с ПКС в период 2–3-го мес выявлены высокие уровни всех исследованных цитокинов (табл. 2). Медианы уровня IL-1 β и IL-2 были выше показателей здоровых доноров крови в 1,3 и 1,4 раза; IL-8 и IL-10 в 2 раза соответственно. Содержание IL-

17 превысило контрольные значения в 2,8 раза, IL-4 и IL-6 в 3 и 4,5 раза соответственно. Наибольших значений достигали TNF α и INF γ , концентрации которых превышали норму в 5,5 и 70 раз соответственно.

Несмотря на высокие уровни цитокинов, в клиническом анализе крови у пациентов с ПКС

отсутствовали лабораторные признаки воспалительного процесса: значения содержания лейкоцитов в периферической крови составили $6,12 [5,29; 7,29] \times 10^9/\text{л}$; скорость оседания эритроцитов $9,7 [4; 17] \text{ мм/ч}$; С-реактивного белка $6,9 [5,2; 11,3] \text{ мг/л}$.

При этом у трех человек из 12 зафиксировано повышение уровня общего IgE, которое не сопровождалось положительным аллергологическим анамнезом и какими-либо клиническими проявлениями аллергии.

Таблица 2

Вариабельность уровня цитокинов сыворотки крови в клинических группах в зависимости от длительности течения постковидного синдрома, пкг/мл, Me [Q_{25} ; Q_{75}]							
Показатель	Группа 1, 1–3 мес ПКС, $n = 12$	Группа 2, 3–6 мес ПКС, $n = 18$	Группа 3, 6–12 мес ПКС, $n = 16$	Группа 4, здоровые доноры крови, $n = 25$	p		
					Группы 1–4	Группы 2–4	Группы 3–4
IL-1 β	3,85 [3,45; 5,35]	2,62 [2,45; 3,05]	2,98 [2,45; 3,37]	2,88 [2,46; 3,12]	0,001	0,249	0,965
IL-2	0,18 [0,13; 0,26]	0,12 [0,09; 0,15]	0,13 [0,12; 0,14]	0,13 [0,09; 0,15]	0,002	0,484	0,655
IL-4	1,28 [0,98; 1,6]	0,37 [0,34; 0,52]	0,43 [0,38; 0,64]	0,42 [0,31; 0,55]	0,000	0,531	0,403
IL-6	3,77 [2,51; 4,64]	1,23 [1,12; 1,30]	0,98 [0,89; 1,17]	1,09 [0,97; 1,29]	0,000	0,363	0,129
IL-8	3,65 [2,85; 5,1]	1,66 [1,34; 2,67]	1,57 [1,36; 2,04]	1,6 [1,25; 2,42]	0,000	1,000	0,633
IL-10	2,48 [1,46; 3,22]	1,15 [1,08; 1,25]	1,2 [1,00; 1,27]	1,14 [1; 1,24]	0,001	0,686	0,720
IL-17	13,3 [11,16; 14,31]	5,74 [5,36; 6,99]	5,49 [4,88; 9,22]	4,75 [3; 5,61]	0,000	0,018	0,030
TNF α	1,7 [0,97; 2,65]	0,32 [0,25; 0,42]	0,25 [0,13; 0,46]	0,31 [0,17; 0,44]	0,000	0,919	0,467
INF γ	9,20 [0,67; 1,13]	0,14 [0,11; 0,15]	0,14 [0,10; 0,19]	0,13 [0,08; 0,08]	0,000	0,879	0,550

В период 3–6 мес после купирования острого инфекционного процесса, вызванного Sars-Cov-2, основным синдромом оставался все тот же астенический у всех пациентов исследуемой группы (100%). У 10 пациентов из 18 фиксировались проявления поражения нервной системы и желудочно-кишечного тракта (тошнота, нарушение аппетита как в сторону его повышения, так и снижения, нарушение вкусовых предпочтений). Симптомы нарушения функции органов дыхания и ССС были у 6 пациентов и, как правило, были менее интенсивными и переносились значительно легче, чем в ранние сроки ПКС.

Однако в этот период зафиксировано увеличение количества пациентов (восемь из 18) с поражением органа зрения. При осмотре врачом-офтальмологом у четырех из них на глазном дне были выявлены изменения в виде ангиопатии сетчатки по дистоническому или гипертоническому типу, причем у половины эти изменения были зафиксированы впервые.

Число пациентов с эпидермальными жалобами в виде появления кожного зуда, петехий, крапивницы и гнойничковой сыпи возросло до четырех случаев. У трех пациентов отмечен суставной синдром в виде артралгии и полиартралгии, который дебютировал у двух и в одном случае прогрессировала деструкция хрящевой ткани. Содержание общего IgE исследуемой группы достигло $80,8 [25,0; 112,0] \text{ МЕ/мл}$ и было достоверно выше, чем в контрольной группе ($p = 0,009$). Повышение общего IgE было выявлено уже у девяти пациентов, что в пяти случаях сопровождалось клини-

ческой симптоматикой аллергии в виде атопических высыпаний и бронхообструктивного синдрома.

Концентрация всех исследованных цитокинов у пациентов на этом этапе ПКС снизилась и зачастую достигала значений доноров, однако содержание IL-17 оставалось достоверно высоким на уровне $5,74 [5,36; 6,99] \text{ пкг/мл}$ против $4,75 [3,0; 5,61] \text{ пкг/мл}$ в контроле ($p = 0,018$) (см. табл. 2).

В период 6–12 мес после инфекции изменяется структура клинической симптоматики ПКС: астенический синдром был диагностирован у 11 пациентов из 16, а признаки дисфункции нервной системы отмечены только в шести случаях. У 10 пациентов зафиксированы стойкие нарушения сердечного ритма различного типа и (или) нарушение процессов реполяризации миокарда (преимущественно у женщин). Стабилизацию артериальной гипертензии и формирование ангиопатии сетчатки у семи пациентов можно рассматривать в качестве признаков органического повреждения ССС.

Нарушения желудочно-кишечного тракта на этом этапе ПКС не встречались. В качестве симптомов нарушения функции внешнего дыхания только у двух пациентов сохранялась одышка при ходьбе и легкое покашливание. Однако у двух пациентов впервые сформировался бронхообструктивный синдром с постоянным кашлем. В одном случае была впервые диагностирована атопическая астма с изменением спирограммы в виде снижения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1)/форсированная жизненная ем-

кость легких (ФЖЕЛ) менее 70%, ОФВ1 менее 80% и положительной пробой с бронхолитиком (прирост на фоне приема сальбутамола составил +12%).

У половины пациентов (восемь случаев из 16) был выявлен эпидермальный синдром, что проявлялось изменениями цвета кожи в виде розовых и красных пятен, у одного пациента – фиолетового цвета, причем самостоятельно никто из них по этому поводу за медицинской помощью не обращался. Эти эпидермальные проявления выявлены при периодическом медосмотре врачом. В одном случае выявлены папулы. Высыпания по типу крапивницы (уртикарная сыпь) были у двух пациентов. У одной женщины в постковидном периоде впервые диагностирована крапивница с часто рецидивирующим течением в виде волдырей бледно-розового и светло-красного цвета, возвышающихся над уровнем кожных покровов и сопровождающихся зудом. Аллергологический анамнез до перенесенной коронавирусной инфекции был отрицательным. На фоне антигистаминной терапии четкой положительной динамики достигнуто не было. Впоследствии была диагностирована моноклональная гаммапатия (синдром Шницлера).

У восьми пациентов в период 6–12 мес зафиксированы поражения опорно-двигательного аппарата, появление или прогрессирование которых обследуемые связывают с перенесенной инфекцией. В трех случаях это была изолированная артралгия или полиартралгии без признаков поражения суставов по результатам ультразвукового исследования. У трех пациентов выявлены деформации хрящевой ткани, артрозоартрит с присоединением признаков синовита. У двоих пациентов на фоне получаемого полного курса нестероидных противовоспалительных средств, хондропротекторов, внутрисуставного введения глюкокортикоидов и физиотерапии прогрессировало разрушение хрящевой ткани коленных суставов, что завершилось деструкцией хряща и развитием асептического некроза и явилось показанием для проведения хирургического вмешательства – эндопротезирования коленных суставов.

Учащение аллергических и аутоаллергических проявлений в период 6–12 мес ПКС сопровождается нарастанием среднего показателя IgE в крови до 98,98 [40,1; 172] МЕ/мл, а также относительного и абсолютного содержания эозинофилов в периферической крови (5,75 [3,2; 7,2] и 0,54 [0,19; 0,76]% $\times 10^9/\text{л}$ соответственно). При этом острофазовые показатели сыворотки крови не выходили за границы установленных клинических норм. Цитокиновый профиль сыворотки крови характеризовался только высоким уровнем IL-17, который превышал показатель доноров: 5,49 [4,88; 9,22] и 4,75 [3; 5,61] пкг/мл соответ-

ственно ($p = 0,03$) (см. табл. 2). Содержание этого цитокина зависело от клинических проявлений ПКС: у пациентов с изолированными атопическими эпидермальными проявлениями концентрация IL-17 составила 9,46 [6,20; 13,66] пкг/мл, при поражениях опорно-двигательного аппарата 12,56 [8,10; 14,56] пкг/мл, а при сочетании суставного и эпидермального синдромов показатель достиг 13,95 [13,05; 14,05] пкг/мл.

ОБСУЖДЕНИЕ

Следовательно, клинические проявления ПКС динамически изменяются в течение года после перенесенной острой инфекции, что сопровождается закономерными изменениями цитокинового профиля плазмы крови. Клиническую симптоматику первых 3 мес ПКС в виде астенизации, нарушения функций ЦНС и ССС обуславливают повышенный уровень и дисбаланс как про-, так и противовоспалительных цитокинов.

Постепенное восстановление уровней цитокинов сопровождается уменьшением частоты проявлений астенизации, нарушений функции ЦНС и дыхательной системы. Однако спустя 3 мес и далее в крови отмечен лишь высокий уровень IL-17. Усиленно продуцировать IL-17 могут тучные клетки [11], активность которых возрастает при ПКС [12, 13]. Умеренный синтез IL-17 Т-лимфоцитами способствует выработке противомикробных пептидов, однако длительная продукция семейства IL-17 может привести к хроническому воспалению [14]. Возможно, постоянное и длительное повышение уровня IL-17 способствует и длительному течению постковидного воспаления.

Также, вероятно, одним из факторов активации тучных клеток является повышение IgE. Если его увеличение в ранние сроки ПКС было бессимптомным, то учащение случаев гипериммуноглобулинемии E и возрастание ее значений в отдаленные сроки уже сопровождаются клиническими проявлениями аллергии в виде эпидермальных поражений и бронхообструктивного синдрома.

IL-17 является важным медиатором формирования аллергического и аутоаллергического повреждения, что подтверждается статистически значимыми различиями степени его повышения в зависимости от локализации клинических проявлений, особенно при их сочетании. Известно, что IL-17 обычно индуцирует провоспалительные реакции, часто ассоциированные с аллергией, а также способствует выработке многих других цитокинов, хемокинов и простагландинов [15]. Предполагается, что IL-17 играет важную роль при аутоиммунных заболеваниях [16].

Скорее всего, увеличение концентрации IL-17 способствует и возрастанию частоты повреждения зрительного аппарата в отдаленные сроки ПКС. Высокие концентрации IL-17 и повышенный уровень его продуцирующих Th17 были обнаружены при ряде глазных заболеваний, связанных с неоваскуляризацией [17]. Также доказана патогенная роль IL-17 в возникновении суставного синдрома, что может быть связано с его участием в формировании синовиального воспаления с последующей деструкцией суставной ткани [18].

Учитывая способность IL-17 вызывать эндотелиальную дисфункцию, стимулировать активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и ремоделирование артериол [19, 20], можно объяснить формирование стабильной гипертензии и ангиопатии сетчатки в период 3–12 мес ПКП. При этом вполне вероятно, что постепенная нормализация функции желудочно-кишечного тракта связана с восстановлением микробиоты кишечника и стимуляцией защиты бактериальных и грибковых патогенов с помощью IL-17 [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, развитие ПКС не зависит от возраста, пола пациентов и тяжести течения острого периода перенесенной инфекции. Однако при отсутствии противовирусной терапии или ее неполноценности вероятность развития ПКС повышается. Спектр клинических проявлений ПКС в течение 12 мес изменяется, что определяется закономерной динамикой цитокинового фона.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Костинов М.П., Маркелова Е.В., Свитич О.А., Полищук В.Б. Иммунные механизмы SARS-CoV-2 и потенциальные препараты для профилактики и лечения COVID-19. *Пульмонология*. 2020;30(5):700–708. DOI: 18093/0869-0189-2020-30-5-700-708.
2. Sudre C.H., Murray B., Varsavsky T., Graham M.S., Penfold R.S., Bowyer R.C. et al. Attributes and predictors of Long-COVID: analysis of COVID cases and their symptoms collected by the COVID symptoms. *Study App*. 2020;27(4):626–631. DOI: 10.1038/s41591-021-01292-y.
3. Klitzman R.L. Needs to prepare for "post-COVID-19 syndrome". *Am. J. Bioeth.* 2020;20(11):4–6. DOI: 10.1080/15265161.2020.1820755.
4. Amenta E.M., Spallone A., Rodriguez-Barradas M.C., Sahly H.M., Atmar R.L., Kulkarni P.A. Post-acute COVID-19: an overview and approach to classification. *Open Forum Infect. Dis.* 2020;7(12):ofaa509. DOI: 10.1093/ofid/ofaa509.
5. Altmann D.M., Boyton R.J. Decoding the unknowns in long COVID. *BMJ*. 2021;372:132. DOI: 10.1136/bmj.n132.
6. Fernández-de-Las-Peñas C., Palacios-Ceña D., Gómez-Mayordomo V., Cuadrado M.L., Florencio L.L. Defining post-COVID symptoms (post-acute COVID, long COVID, persistent post-COVID): an integrative classification. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021;18(5):2621. DOI: 10.3390/ijerph18052621.
7. Greenhalgh T., Knight M., A'Court M., Buxton M., Husain L. Management of post-acute COVID-19 in primary care. *BMJ*. 2020;370:m3026. DOI: 10.1136/bmj.m3026.
8. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A., Madhavan M.V., McGroder C., Stevens J.S. et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat. Med.* 2021;27(4):601–615. DOI: 10.1038/s41591-021-01283-z.
9. Amenta E.M., Spallone A., Rodriguez-Barradas M.C., Sahly H.M.E., Atmar R.L., Kulkarni P.A. Post-acute COVID-19: an overview and approach to classification. *Open Forum Infect. Dis.* 2020;7(12):509. DOI: 10.1093/ofid/ofaa509.
10. Arnold D.T., Hamilton F.W., Milne A., Morley A.J., Viner J., Attwood M. et al. Patient outcomes after hospitalisation with COVID-19 and implications for follow-up: results from a prospective UK cohort. *Thorax*. 2021;76(4):399–401. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2020-216086.
11. Noordenbos T., Blijdorp I., Chen S., Stap J., Mul E., Cañete J.D. et al. Human mast cells capture, store, and release bioactive, exogenous IL-17A. *J. Leukoc. Biol.* 2016;100:453–462. DOI: 10.1189/jlb.3HI1215-542R.
12. Kazama I. Stabilizing mast cells by commonly used drugs: a novel therapeutic target to relieve post-COVID syndrome? *Drug Discov. Ther.* 2020;14(5):259–261. DOI: 10.5582/ddt.2020.03095.
13. Weinstock L.B., Brook J.B., Walters A.S., Goris A., Afrin L.B., Molderings G.J. Mast cell activation symptoms are prevalent in Long-COVID. *Int. J. Infect. Dis.* 2021;112:217–226. DOI: 10.5582/ddt.2020.03095.
14. Isailovic N., Daigo K., Mantovani A., Selmi C. Interleukin-17 and innate immunity in infections and chronic inflammation. *J. Autoimmun.* 2015; 60:1–11. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.04.006.
15. Chang S.H., Dong C. Signaling of interleukin-17 family cytokines in immunity and inflammation. *Cell Signal.* 2011;23:1069–1075. DOI: 10.1016/j.cellsig.2010.11.022.
16. Костарева О.С., Габдулхаков А.Г., Коляденко И.А., Гарбер М.Б., Тищенко С.В. Интерлейкин-17: функциональные и структурные особенности; использование в качестве терапевтической мишени. *Успехи биологической химии*. 2019;59:393–418. DOI: 10.1134/S0006297919140116.
17. Li Y., Zhou E. Interleukin-17: role in pathological angiogenesis in ocular neovascular diseases. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2019;247(2):87–98. DOI: 10.1620/tjem.247.87.
18. Miossec P. Update on interleukin-17: a role in the pathogenesis of inflammatory arthritis and implication for clinical practice. *RMD Open*. 2017;3(1):e000284. DOI: 10.1136/rmdopen-2016-000284.eCollection 2017.
19. Nguyen H., Chiasson V.L., Chatterjee P., Kopriva S.E., Young K.J., Mitchell B.M. Interleukin-17 causes Rho-kinase-mediated endothelial dysfunction and hypertension. *Cardiovasc. Res.* 2013;97(4):696–704. DOI: 10.1093/cvr/cvs422.
20. Orejudo M., Garcia-Redondo A.B., Rodriguez-Diez R.R., Rodriguez-Diez R., Santos-Sanchez L., Tejera-Munoz A.

et al. Interleukin-17A induces vascular remodeling of small arteries and blood pressure elevation. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2020;134(5):513–527. DOI: 10.1042/CS20190682.

21. Yang Z.-J., Wang T.-T., Wang B.-Y., Gao H., He C.-W.,

Shang H.-W. et al. Deeper insight into the role of IL-17 in the relationship between hypertension and intestinal physiology. *J. Inflamm. (Lond.)*. 2022;19(1):14. DOI: 10.1186/s12950-022-00311-0.

Информация об авторах

Жданова Екатерина Васильевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии, ТюмГМУ, г. Тюмень, zhdanova.e.v@bk.ru, <http://orcid.org/0004-0002-7938-5470>

Рубцова Елена Викторовна – аспирант, Центр Илизарова, г. Курган; врач-терапевт, ООО «Поликлиника консультативно-диагностическая имени Е.М. Нигинского», г. Тюмень, rubtsova.e.v@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5644-8021>

Костоломова Елена Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент кафедры микробиологии, ТюмГМУ, г. Тюмень, lenacost@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0237-5522>

(✉) **Жданова Екатерина Васильевна**, zhdanova.e.v@bk.ru

Поступила в редакцию 07.11.2023;
одобрена после рецензирования 27.11.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 615.33.015.8:547.992:546.57-022.532
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-55-64>

Восстановление антибиотикочувствительности к линкомицину в составе композиций с наносеребром и гуминовыми веществами

Зыкова М.В.¹, Чжан Ю.², Лысенко И.В.³, Арутюнян Д.А.², Азаркина Л.А.¹,
Михалев Д.А.¹, Белоусов М.В.¹, Перминова И.В.³

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

² Московский государственный университет (МГУ) им. М.В. Ломоносова
Россия, 119991, г. Москва, Ленинские Горы, 1-3

³ Южно-Уральский государственный медицинский университет (ЮУГМУ)
Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

РЕЗЮМЕ

Цель – исследование восстановления чувствительности метициллин-резистентного штамма *Staphylococcus aureus* к линкомицину при добавлении гуминовых веществ с наночастицами серебра.

Материалы и методы. Композиции гуминовых веществ с наночастицами серебра синтезировали из коммерческого гумата натрия Rowhumus и нитрата серебра в присутствии NaOH (1 моль) для создания щелочной среды. Для синтеза одной из двух композиций гумат натрия модифицировали гидрохиноном. Для описания характеристик полученных составов снимали спектры поверхностного плазмонного резонанса наночастиц серебра и их изображения, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии. Чувствительность клинического штамма *Staphylococcus aureus*, устойчивого к метициллину, определяли, измеряя минимальную ингибирующую концентрацию (МИК), с введением в состав композиций линкомицина и тетрациклина.

Результаты. Показана 100%-я конверсия ионного серебра в металлическое с характерным размером наночастиц 6 нм. Проведено сравнение действия тетрациклина и линкомицина на исследуемый штамм *S. aureus*, показаны высокая чувствительность к тетрациклину (МИК < 10 мкг/мл) и отсутствие чувствительности к линкомицину (МИК > 200 мкг/мл). Исследование действия композиции гуматов натрия с наносеребром при введении в них линкомицина показало, что подобный подход позволяет существенно снизить МИК линкомицина до 0,1 мкг/мл в присутствии композиций с модифицированным гидрохиноном гумата натрия в концентрации 40 мкг/мл и композиций с немодифицированным гуматом натрия в концентрации 60 мкг/мл.

Заключение. В проведенном исследовании продемонстрировано, что при использовании композиций гуминовых веществ с наносеребром происходит полное восстановление чувствительности к линкомицину устойчивого к метициллину штамма *Staphylococcus aureus*.

Ключевые слова: наночастицы серебра, гуминовые вещества, линкомицин, синергетический эффект, антибиотикорезистентность, *Staphylococcus aureus*

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 20-63-47070 (синтез композиций наносеребра с гуминовыми веществами и комбинированных препаратов с антибиотиками) и гранта РНФ 20-65-47052 (определение антимикробной активности). Исследование наночастиц было выполнено в Центре коллективного пользования «Нанохимия и наноматериалы» на оборудовании (просвечивающим микроскопе), приобретенном на средства программы МГУ «Развитие».

✉ Перминова Ирина Васильевна, ipermnova@gmail.com

Для цитирования: Зыкова М.В., Чжан Ю., Лысенко И.В., Арутюнян Д.А., Азаркина Л.А., Михалев Д.А., Белоусов М.В., Перминова И.В. Восстановление антибиотикочувствительности к линкомицину в составе композиций с наносеребром и гуминовыми веществами. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):55–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-55-64>.

Restoring antibiotic sensitivity to lincomycin in compositions with nanosilver and humic substances

Zykova M.V.¹, Zhang Yun², Lysenko I.V.³, Arutyunyan D.A.², Azarkina L.A.¹, Mikhalev D.A.¹, Belousov M.V.¹, Perminova I.V.³

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Lomonosov Moscow State University

1-3, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

³ South Ural State Medical University

64, Vorovskogo Str., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the effect of compositions with nanosilver and humic substances on restoration of sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to lincomycin.

Materials and methods. Compositions of humic substances with silver nanoparticles were synthesized from commercial sodium humate Powhumus and silver nitrate in the presence of NaOH (1 M) to modulate alkaline pH. To synthesize one of the two compositions, sodium humate was modified with hydroquinone. To describe the characteristics of the resulting compositions, surface plasmon resonance spectra of silver nanoparticles and their images obtained by transmission electron microscopy were recorded. Sensitivity of a clinical strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was determined by measuring the minimum inhibitory concentration (MIC) with the addition of lincomycin and tetracycline to the compositions.

Results. 100% conversion of ionic silver into metallic silver with a characteristic nanoparticle size of 6 nm was shown. The effects of tetracycline and lincomycin on the studied strain of *Staphylococcus aureus* were compared, and high sensitivity to tetracycline (MIC < 10 µg / ml) and resistance to lincomycin (MIC > 200 µg / ml) were shown. Studying the effect of the composition containing sodium humates with nanosilver with the introduction of lincomycin into it showed that this approach can significantly reduce MIC of lincomycin to 0.1 µg/ml in the presence of compositions with hydroquinone-modified sodium humate at a concentration of 40 µg / ml and compositions with unmodified sodium humate at a concentration of 60 µg / ml.

Conclusion. The study demonstrated that the use of compositions with humic substances and nanosilver completely restores sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to lincomycin.

Keywords: silver nanoparticles, humic substances, lincomycin, synergistic effect, antibiotic resistance, *Staphylococcus aureus*

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

Source of financing. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation Grant No. 20-63-47070 (synthesis of compositions with nanosilver and humic substances and combination drugs with antibiotics) and the Russian Science Foundation Grant No. 20-65-47052 (determination of antimicrobial activity). The study of nanoparticles was carried out at the Center for Collective Use “Nanochemistry and Nanomaterials” using the equipment (a transmission microscope) purchased with Moscow State University Development program funds.

For citation: Zykova M.V., Zhang Yun, Lysenko I.V., Arutyunyan D.A., Azarkina L.A., Mikhalev D.A., Belousov M.V., Perminova I.V. Restoring antibiotic sensitivity to lincomycin in compositions with nanosilver and humic substance. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):55–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-55-64>.

ВВЕДЕНИЕ

После открытия в 1928 г. А. Флемингом первого антибиотика пенициллина в 1942 г. было показано активное развитие резистентных к препарату штаммов *Staphylococcus aureus* [1]. Рост количества резистентных к пенициллину штаммов с течением времени привел к необходимости разработки новых антибиотиков, что повлекло за собой возникновение новых полирезистентных микроорганизмов [2]. Данная проблема заставила думать о способах усиления действия уже имеющихся антибиотиков [3]. Особое внимание привлекли к себе наночастицы серебра, которые давно известны своими антибактериальными свойствами [4]. При этом к металлическим частицам резистентность формируется гораздо медленнее, чем к антибиотикам [5].

Многочисленные эксперименты по изучению антибактериальной активности композиций наносеребра и антибиотиков показали, что наносеребро способно не только усиливать действие антибиотиков на бактерии [6], но и в некоторых случаях приводить к восстановлению чувствительности к антибиотикам у резистентных штаммов бактерий [7, 8]. Ранее было показано, что применение наночастиц вместе с широким рядом антибиотиков позволяет в ряде случаев создать синергетический антибактериальный эффект действия обеих составляющих композиции против различных грамположительных бактерий. Для *Bacillus cereus* отмечено, что в присутствии наночастиц серебра чувствительность бактерий к линкомицину возрастает в 4 раза [9]; для *Enterococcus faecium* увеличение чувствительности к ампициллину составляет 16, амикацину – 32 раза [10]. Также существенное влияние на антибактериальную активность оказывают форма и размер синтезируемых наночастиц [11].

При этом основной проблемой применения наночастиц (НЧ) серебра в клинической практике является потенциальное усиление цитотоксичности таких композиций. Задача усугубляется отсутствием понимания точного механизма действия подобных композиций [12, 13]. Предполагается, что они могут формировать повышенные концентрации ионов Ag вблизи клеточной стенки бактерий, оказывая цитотоксический эффект [14], индуцировать скорость формирования гидроксильного радикала [15], влиять на процесс транскрипции ДНК [16].

Исследования по биологической активности нативных и модифицированных гуминовых веществ (ГВ) показывают, что они представляют большой потенциал для включения в композиции на основе НЧ вследствие обилия свойств и молекулярного со-

става [17–19]. Особенно перспективным представляется применение ГВ для получения наночастиц Ag без добавления других восстановителей, как описано в литературе [20–23] и в наших публикациях [24]. Мы показали, что это позволяет получить препараты НЧ с хорошим профилем безопасности, что связано с высокой антиоксидантной активностью и низкой цитотоксичностью ГВ [24]. Особый интерес в контексте получения новых комбинированных препаратов для преодоления антибиотикорезистентности имеет введение антибиотиков в состав композиций AgНЧ-ГВ. Различные механизмы взаимодействия ГВ с широким спектром антибиотиков были рассмотрены в нашей обзорной статье [25]. Ожидалось, что связывание антибиотика с гуминовыми лигандами на поверхности наночастиц серебра может способствовать его попаданию в клетку вместе с AgНЧ.

При выборе антибиотиков мы руководствовались нашей главной целью – создание бионаноматериалов для лечения инфицированных ран, в котором большую роль играет применение мягких форм – мазей, гелей и т.п. Поэтому антибиотик должен обладать способностью проникать в мягкие ткани и костную ткань для лечения хронических вялотекущих гнойно-воспалительных процессов, таких как пролежни и диабетическая стопа. Этим требованиям удовлетворяют пенициллины, линкозамиды, фторхинолоны, аминогликозиды, тетрациклины и т.д. Антибиотик должен хорошо смешиваться с липофильными мазевыми основами для использования в мягких наружных формах. Данному требованию удовлетворяют только мази с линкомицином и тетрациклином, поскольку пенициллины не используются наружно, левофлоксацин (фторхинолоны) применяется в виде водного спрея, а неомицин (аминогликозиды) – в виде аэрозольной суспензии. Поэтому мы остановили свой выбор на двух антибиотиках – линкомицине и тетрациклине, резистентность к которым имеет библиотечный штамм метициллин-резистентного золотистого стафилококка (МРЗС) *Staphylococcus aureus*.

Выбор штамма был обусловлен тем, что МРЗС является одной из наиболее распространенных и опасных форм золотистого стафилококка, вызывающей множество заболеваний, включая инфекции кровотока, пневмонию, инфекции кожи и костей. Также МРЗС обладает высокой устойчивостью к большинству антибиотиков, что делает его более сложным для лечения и контроля. Немаловажно, что данный штамм хорошо изучен и описан во многих литературных источниках, что позволяет проводить более глубокие и точные исследования. Более детальное изучение перспективных

комбинаций на других штаммах планируется на следующих этапах.

Цель данной работы состояла в изучении чувствительности метициллин-резистентного золотистого стафилококка к антибиотикам линкомицину и тетрациклину в составе композиций наносеребра, стабилизированного гуминовыми веществами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оборудование и реагенты. Гидроксид натрия (Kemphasol), нитрат серебра (Molychem), гумат натрия Powhumus (Humintech, Германия), клинический штамм *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884 (штамм F-182). Кислотность растворов измеряли с помощью рН-метра 713 рН Meter (Metrohm, Швейцария), оснащенного универсальным стеклянным электродом.

Синтез композиций проводили по методике, описанной в указанной работе [24]. Для синтеза готовили водный раствор гумата натрия и гидрохинон-производных этого препарата с концентрацией 11,8 г/л. Полученный раствор гумата доводили до рН 12, добавляя по каплям 1 моль NaOH при постоянном перемешивании. Затем 50 мл раствора помещали в трехгорлую круглодонную колбу объемом 100 мл, оснащенную обратным холодильником и термопарой, и нагревали до 80 °С при постоянном перемешивании. При достижении 80 °С по каплям вносили 2 мл раствора AgNO₃ с концентрацией 110 г/л, поддерживая рН на уровне 12 с помощью 1 моль NaOH. После этого раствор продолжали нагревать при температуре 80 °С и перемешивании в течение 4 ч. Общая концентрация серебра в полученном растворе составляла 41 ммоль/л.

Анализ полученных композиций наносеребра и гуминовых веществ. Полученные композиции гуминовых веществ с наночастицами серебра были изучены методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Эксперимент проводился с использованием микроскопа JEOLJEM-2100F (JEOL, Akishima, Япония). Обработку полученных результатов проводили при помощи программы ImageJ. Морфологию и размер частиц анализировали для обеих композиций.

Общую концентрацию серебра измеряли при помощи метода атомной эмиссионной спектроскопии индуктивно-связанной плазмы (ICP-AES) с использованием спектрометра ICPAES 720-ES (Agilent Technologies, США). Спектры УФ-видимого поглощения регистрировали для подтверждения присутствия наночастиц серебра, которые детектировали по появлению пика поверхностного плазмонного резонанса в диапазоне длин волн 400–430 нм для наночастиц серебра. Спектры поглощения измеряли при

помощи UV/Vis спектрометра (Cary 50 Probe, США). Результаты УФ-спектроскопии и ИСП-АЭС сравнивали для определения степени конверсии ионного серебра в металлическое.

Определение минимальной ингибирующей концентрации клинического штамма МРЗС проводили в 96-луночных планшетах при использовании неагаризованной питательной среды Мюллера – Хинтона. Для определения МИК в каждую лунку добавляли требуемый объем 0,9%-го раствора NaCl и 0,142 мл питательной среды, содержащей соответствующие концентрации антибиотика линкомицина в составе композиций гуминовых веществ с НЧ серебра. Диапазон результирующих концентраций составил 0,1–20 мкг/мл для линкомицина и 0–150 мкг/мл для композиций гуминовых веществ с НЧ серебра. Колонии МРЗС предварительно инкубировали при 35 °С в неагаризованной питательной среде Мюллера – Хинтона в течение 12 ч. В каждую лунку добавляли по 0,025 мл бактериальной взвеси, доведенной до 2 МЕ по Мак-Фарланду и проводили анализ на микропланшетном фотометре Immuno Chem-2100 (High Technology Inc., США) при длине волны 630 нм в течение 24 ч. Контролем служили среды без добавления исследуемых веществ, куда также вносили бактериальную взвесь.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики с использованием пакета статистической обработки данных SPSS (версия 15.0, SPSS Inc., Chicago, IL, США) с определением средней величины, ошибки средней величины и вероятности различий *p* для малых выборок с поправкой по Бонферрони (достоверность при значениях *p* < 0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Показано, что в ходе синтеза композиций гуминовых веществ с наночастицами серебра происходит 100%-я конверсия ионного серебра в металлическое с характерным средним размером сферических наночастиц 6 нм. Полученные композиции характеризуются концентрацией ГВ 11,8 г/л и концентрацией наносеребра 4,6 г/л (43 ммоль). Спектры поверхностного плазмонного резонанса (ППР) наночастиц серебра и их ПЭМ-изображения приведены на рис. 1.

Использованные в работе наночастицы серебра имеют характеристичный спектр поглощения с интенсивным пиком ППР, максимум которого находится на отметке 414 нм, что указывает на малый размер синтезированных наночастиц (рис. 1, *a*). Это подтверждается ПЭМ-изображением (рис. 1, *b*), которое показывает, что средний размер НЧ серебра в исследуемом препарате составлял 6–7 нм. Размер

наночастиц особенно важен для их биологической активности. Так, считается, что максимальной биологической активностью обладают наночастицы серебра с размерами меньше 10 нм [13]. Результа-

ты исследования показывают, что синтезированный препарат наносеребра, стабилизированного гуминовыми макролигандами, полностью удовлетворял этому условию.

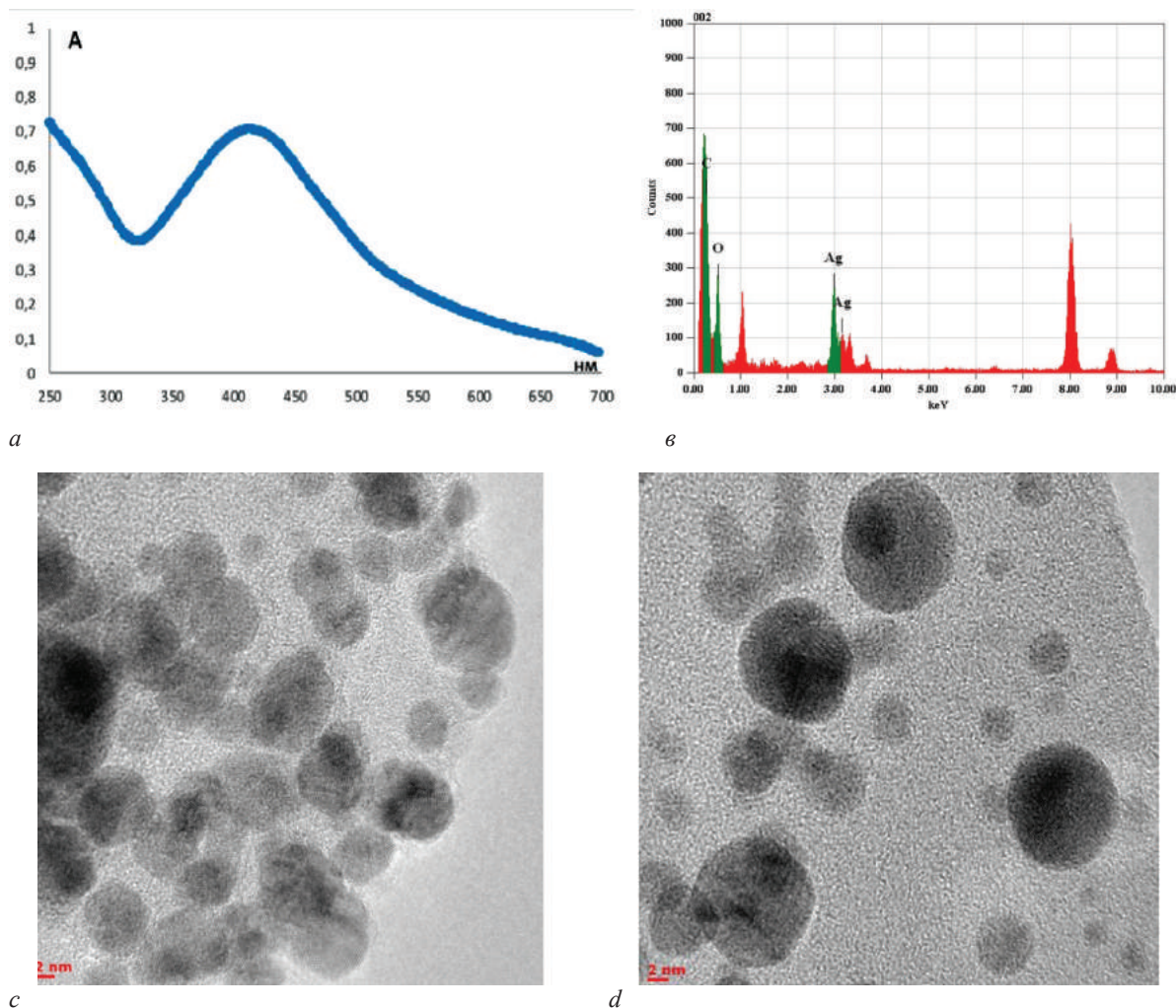


Рис. 1. Характеристика наночастиц серебра, синтезированных в среде гуминовых кислот угля (СНР): *a* – УФ-видимый спектр поглощения композиции с пиком ППР при 414 нм; *b* – карта распределения элементов по подложке ТЭМ; *c*, *d* – ПЭМ-изображения наночастиц серебра, стабилизированных ГВ

На первом этапе эксперимента было исследовано влияние матрицы ГВ на антибактериальную активность тетрациклина и линкомицина. Показано, что исследуемый штамм не обладает резистентностью к тетрациклину: антибиотик ингибирует рост бактерий во всем диапазоне исследованных концентраций. Линкомицин же не подавлял рост бактерий в широком диапазоне концентрации ГВ (0–1 500 мкг/мл) и линкомицина (10–200 мкг/мл).

Далее было проверено влияние наносеребра, синтезированного в среде исходного препарата ГВ и препарата, модифицированного гидрохиноном. Показано отсутствие эффекта изменения чувствительности

к антибиотику для композиций с тетрациклином и восстановление чувствительности к линкомицину в присутствии немодифицированной композиции (ГВ > 0 мкг/мл) и модифицированной гидрохиноном композиции (ГВ > 200 мкг/мл) во всем диапазоне исследуемых концентраций антибиотика. Вследствие этого было принято решение провести исследование свойств композиций с линкомицином, где наблюдалось восстановление чувствительности.

Антибактериальный эффект композиции наночастиц серебра, синтезированных в среде ГВ, изучали в отсутствие или присутствии линкомицина по отношению к МРЗС. Было протестировано пода-

вление роста клинических штаммов композициями наносеребра, стабилизированного исходными ГВ и их гидрохинон-производными в диапазоне концентрации 20–150 мкг/мл и линкомицином в диапазоне

концентрации 0,1–20 мкг/мл. Показан эффект повышения восстановления чувствительности бактерий к линкомицину для тестируемых композиций (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1

Изменение оптической плотности за 24 ч при измерении МИК композиций наночастиц серебра с модифицированными гуминовыми веществами и линкомицином в отношении клинического штамма МРЗС, мг/л														
Концентрация линкомицина	Концентрация модифицированных гидрохиноном гуматов натрия,							Концентрация немодифицированных гуматов натрия						
	0	20	40	60	80	100	150	0	20	40	60	80	100	150
0,1	0,5	0,4	0	0	0	0	0	0,4	0,4	0,4	0	0	0	0
0,2	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0,3	0,3	0,4	0	0	0	0
0,5	0,5	0,2	0	0	0	0	0	0,3	0,4	0,4	0	0	0	0
1	0,4	0,3	0	0	0	0	0	0,3	0,4	0,4	0	0	0	0
2	0,5	0,3	0	0	0	0	0	0,3	0,4	0,4	0	0	0	0
5	0,5	0,3	0	0	0	0	0	0,4	0,4	0,4	0	0	0	0
10	0,5	0,3	0	0	0	0	0	0,4	0,4	0,4	0	0	0	0
20	0,5	0,4	0	0	0	0	0	0,4	0,3	0,4	0	0	0	0

Примечание. Полу жирным выделены случаи статистически значимого подавления роста клинического штамма МРЗС в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

В случае применения линкомицина или композиции ГВ с линкомицином в отсутствие наночастиц серебра МИК составляла более 200 мкг/мл, в случае использования тройной композиции в концентрации от 40 мкг/мл (для исходных ГВ) и от 20 мкг/мл (для

гидрохинон-модифицированных) значение МИК снижалось до 0,1 мкг/мл (см. рис. 2). Таким образом, наблюдалось существенное подавление роста патогенных бактерий по сравнению с использованием композиции гуминовых веществ с линкомицином.

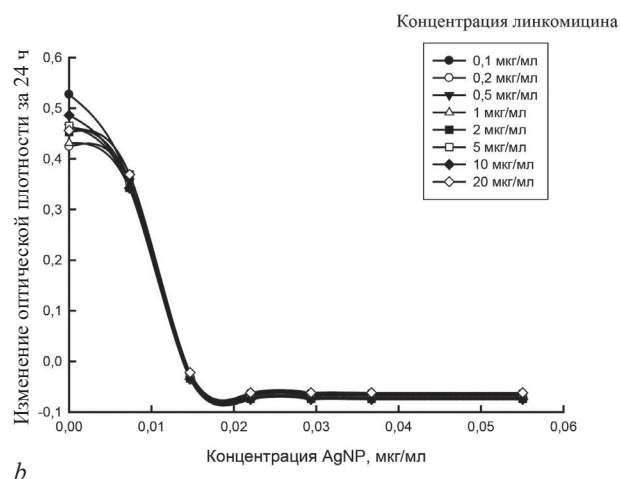
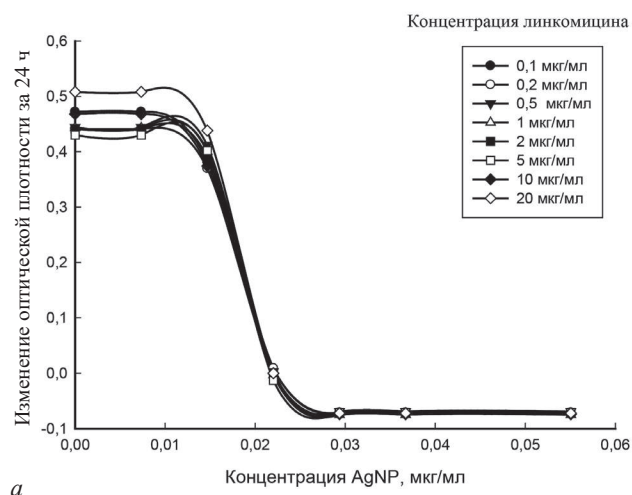


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности концентрации наночастиц серебра в течение 24 ч для концентрации линкомицина в диапазоне 0,1–20 мкг/мл в композиции с немодифицированными гуминовыми веществами (а), гуминовыми веществами, модифицированными гидрохиноном (б)

ОБСУЖДЕНИЕ

Механизм действия линкомицина связан с подавлением биосинтеза белка путем связывания с А-сайтом 23S рРНК 50S-субъединицы рибосомы и, следовательно, препятствием связывания тРНК и нарушением процесса трансляции [26]. Механизм по-

явления антибиотикорезистентности к линкомицину подробно описан в указанной работе [27] и может быть связан с инактивацией антибиотика ферментами [28], мутациями эффлюкс-помпы MFS [29], модификацией сайта связывания 23S рРНК метилтрансферазами [30] или мутацией 50S-субъединицы рибосомы. Хотя механизм действия композиций

антибиотиков с наночастицами серебра на данный момент не определен точно. Показано, что их применение может представлять существенный интерес в борьбе с таким микроорганизмом, как *Staphylococcus aureus* [31, 32].

Клинический штамм *Staphylococcus aureus* F-182 является примером классической грамположительной бактерии, использующейся для исследования разнообразных антибактериальных композиций [33]. В геноме данного штамма находятся гены *NorB* и *ErmY*, отвечающие за модификацию эффлюкс-помпы MFS и метилирование сайта связывания линкомицина 23S рРНК соответственно. Таким образом, можно говорить о том, что синтезированные композиции позволяют преодолеть так называемую MLS_B -резистентность к линкозамидам, присут-

ствующую у данного штамма. МИК исследуемого штамма МРЗС ATCC 43300 линкомицином составляла менее 0,1 мкг/мл в присутствии 40 мкг/мл нативных ГВ и 20 мкг/мл гидрохинонных производных ГВ, в отсутствие же исследуемой композиции – более 200 мкг/мл.

Полученные значения для МИК наносеребра, найденные в настоящей работе, приведены в табл. 2: они составили 0,022 и 0,015 мкг/мл для исходных и модифицированных гидрохиноном ГВ соответственно. Сравнение этих данных с литературными указывает, что они на порядок превосходят аналогичные показатели как для инженерных наночастиц, стабилизированных различными лигандами, так и для наночастиц, синтезированных различными микроорганизмами (см. табл. 2).

Таблица 2

Сравнение результатов определения МИК в присутствии исследуемых композиций с литературными данными

Антибактериальный агент	Размер НЧ, нм	Микроорганизм	МИК, мкг/мл			Источник
			Линкомицин	AgНЧ	ГВ	
Линкомицин	–	МРЗС ATCC 43300	>200	–	–	Настоящая работа
Гумат + линкомицин	–	МРЗС ATCC 43300	>200	–	>1 500	Настоящая работа
Гумат + AgНЧ + линкомицин	6,0	МРЗС ATCC 43300	<0,1	0,022	40	Настоящая работа
Гумат HQ + AgНЧ + линкомицин	6,0	МРЗС ATCC 43300	<0,1	0,015	60	Настоящая работа
Лигнин + AgНЧ	20,0	Multidrug resistant <i>S. aureus</i>	–	10	–	[34]
Дендример-инкапсулированные AgНЧ	3,3	<i>S. aureus</i> USA 300	–	128	–	[34]
Полистиренсульфонатные частицы со встроенными AgНЧ	5,0	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	–	1,14	–	[34]
AgНЧ, синтезированные с инфузией <i>Dracocephalum kotshyi</i>	19,0	МРЗС ATCC 43300	–	15,6	–	[34]
AgНЧ, синтезированные с инфузией <i>Artemisia haussknechtii</i>	10,7	МРЗС ATCC 43300	–	10,0	–	[34]
AgНЧ, полученные из морских <i>Streptomyces</i> ssp.	13,5	МРЗС ATCC 43300	–	0,039	–	[34]
AgНЧ, иммобилизованные на сополимере	25,0	МРЗС ATCC 43300	–	0,54	–	[34]

Обнаруженный эффект развивает идеи применения наночастиц серебра [35] и их композиций [36] на клинические штаммы, представляющие существенную опасность для жизни человека. Более того, он показывает существенное преимущество предложенного подхода к преодолению антибиотикорезистентности грамположительных бактерий путем применения тройных композиций гуминовых веществ с наночастицами и антибиотиками. Несмотря на то, что похожие результаты были достигнуты для композиций антибиотиков с наночастицами серебра [37] и наночастицами других металлов [38], исследования, представленные в этой работе, имеют осо-

бое значение для повышения профиля безопасности композиций на основе наносеребра ввиду биофильных свойств ГВ [24] и выполнены впервые. Более того, успешное восстановление чувствительности к антибиотикам является существенным открытием в области борьбы с антибиотикорезистентностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые продемонстрирован эффект восстановления чувствительности штамма *Staphylococcus aureus*, резистентного к метициллину, к линкомицину в присутствии композиций наносеребра, синтезированного в среде гуминовых

веществ. Показано, что модификация гуминовых веществ гидрохиноном усиливает синергетический эффект действия композиции на патогенные штаммы. В качестве механизма синергетического действия наносеребра, стабилизированного гуминовыми веществами, и линкомицина можно предположить формирование нестойких поверхностных комплексов между гуминовыми веществами и линкомицином, которые могут разрушаться и высвобождать антибиотик при поступлении наночастицы серебра в клетку. Тем самым открывается новый путь борьбы с антибиотикорезистентностью. Синтезированный препарат может рассматриваться как первый кандидат на доклиническое и клиническое тестирование с целью его скорейшего введения в клиническую практику.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lakhundi S., Zhang K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 2018;31(4):e00020–18. DOI: 10.1128/cmr.00020-18.
2. Dennesen P.J., Bonten M.J., Weinstein R.A. Multiresistant bacteria as a hospital epidemic problem. *Annals of Medicine*. 1998;30(2):176–185. DOI: 10.3109/07853899808999401.
3. Reading C., Cole M. Clavulanic acid: a beta-lactamase-inhibiting beta-lactam from *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1977;11(5):852–857. DOI: 10.1128/aac.11.5.852.
4. Li X., Gui R., Li J., Huang R., Shang Y., Zhao Q. et al. Novel multifunctional silver nanocomposite serves as a resistance-reversal agent to synergistically combat carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2021;13(26):30434–30457. DOI: 10.1021/acsami.1c10309.
5. Panáček A., Kvítek L., Smékalová M., Večeřová R., Kolář M., Röderová M. et al. Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nature Nanotechnology*. 2018;13(1):65–71. DOI: 10.1038/s41565-017-0013-y.
6. Li P., Li J., Wu C., Wu Q., Li J. Synergistic antibacterial effects of β -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Nanotechnology*. 2005;16(9):1912. DOI: 10.1088/0957-4484/16/9/082.
7. Chopra I. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007;59(4):587–590. DOI: 10.1093/jac/dkm006.
8. Allahverdiyev A.M., Kon K.V., Abamor E.S., Bagirova M., Rafailovich M. Coping with antibiotic resistance: combining nanoparticles with antibiotics and other antimicrobial agents. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2011;9(11):1035–1052. DOI: 10.1586/eri.11.121.
9. Abdul-Jabbar A.M., Hussian N.N., Mohammed H.A., Aljarbou A., Akhtar N., Khan R.A. Combined anti-bacterial actions of lincomycin and freshly prepared silver nanoparticles: overcoming the resistance to antibiotics and enhancement of the bioactivity. *Antibiotics*. 2022;11(12):1791. DOI: 10.3390/antibiotics11121791.
10. Lopez-Carrizales M., Velasco K.I., Castillo C., Flores A., Magaña M., Martinez-Castanon G.A. et al. *In vitro* synergism of silver nanoparticles with antibiotics as an alternative treatment in multiresistant uropathogens. *Antibiotics*. 2018;7(2):50. DOI: 10.3390/antibiotics7020050.
11. Masimen M.A.A., Harun N.A., Maulidiani M., Ismail W.I.W. Overcoming methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) using antimicrobial peptides-silver nanoparticles. *Antibiotics*. 2022;11(7):951. DOI: 10.3390/antibiotics11070951.
12. Ribeiro A.I., Dias A.M., Zille A. Synergistic effects between metal nanoparticles and commercial antimicrobial agents: A review. *ACS Applied Nano Materials*. 2022;5(3):3030–3064. DOI: 10.1021/acsanm.1c03891.
13. Slavin Y.N., Asnis J., Háfeli U.O., Bach H. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*. 2017;15(1):65. DOI: 10.1186/s12951-017-0308-z.
14. Deng H., McShan D., Zhang Y., Sinha S.S., Arslan Z., Ray P.C. et al. Mechanistic study of the synergistic antibacterial activity of combined silver nanoparticles and common antibiotics. *Environmental Science & Technology*. 2016;50(16):8840–8848. DOI: 10.1021/acs.est.6b00998.
15. Hwang I.S., Hwang J.H., Choi H., Kim K.J., Lee D.G. Synergistic effects between silver nanoparticles and antibiotics and the mechanisms involved. *Journal of Medical Microbiology*. 2012;61(12):1719–1726. DOI: 10.1099/jmm.0.047100-0.
16. Jamaran S., Zarif B.R. Synergistic effect of silver nanoparticles with neomycin or gentamicin antibiotics on mastitis-causing *Staphylococcus aureus*. *Open Journal of Ecology*. 2016;6(7):452–459. DOI: 10.4236/oje.2016.67043.
17. Verrillo M., Salzano M., Savy D., Di Meo V., Valentini M., Cozzolino V., Piccolo A. Antibacterial and antioxidant properties of humic substances from composted agricultural biomasses. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2022;9(1):28. DOI: 10.1186/s40538-022-00291-6.
18. Porras J., Bedoya C., Silva-Agredo J., Santamaría A., Fernández J.J., Torres-Palma R.A. Role of humic substances in the degradation pathways and residual antibacterial activity during the photodecomposition of the antibiotic ciprofloxacin in water. *Water Research*. 2016;94:1–9. DOI: 10.1016/j.watres.2016.02.024.
19. Savy D., Di Meo V., Verrillo M., Cangemi S., Cozzolino V., Piccolo A. Novel nanomaterials made of humic substances from green composts and chitosan exerting antibacterial activity. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2023;11(26):9674–9683. DOI: 10.1021/acssuschemeng.3c01362.
20. Litvin V.A., Minaev B.F. Spectroscopy study of silver nanoparticles fabrication using synthetic humic substances and their antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013;108:115–122. DOI: 10.1016/j.saa.2013.01.049.
21. Sal'nikov D.S., Pogorelova A.S., Makarov S.V., Vashurina I.Y. Silver ion reduction with peat fulvic acids. *Russ. J. Appl. Chem.* 2009;82(4):545–548. DOI: 10.1134/S107042720904003X.
22. Aleksandrova G.P., Lesnichaya M.V., Dolmaa G., Klimenkov I.V., Sukhov B.G., Regdel D. et al. Silver-containing nanocomposites with antioxidant activity based on humic

- substances of different origin. *Russ. Chem. Bull. Int. Ed.* 2017;66(1):143–149. DOI: 10.1007/s11172-017-1712-0.
23. Alexandrova G.P., Dolmaa G., Enkhbadral U., Grishenko G.L., Tserenpi S., Sukhov B.G. et al. A new humic acid remedy with addition of silver nanoparticles. *Mongolian J. Chem.* 2012;13(39):7–11. DOI: 10.5564/mjc.v13i0.151.
 24. Zykova M.V., Volikov A.B., Buyko E.E., Bratishko K.A., Ivanov V.V., Konstantinov A.I. et al. Enhanced antioxidant activity and reduced cytotoxicity of silver nanoparticles stabilized by different humic materials. *Polymers.* 2023;15(16):3386. DOI: 10.3390/polym15163386.
 25. Kulikova N.A., Solovyova A.A., Perminova I.V. Interaction of antibiotics and humic substances: Environmental consequences and remediation prospects. *Molecules.* 2022;27(22):7754. DOI: 10.3390/molecules27227754.
 26. Harms J.M., Bartels H., Schlunzen F., Yonath A. Antibiotics acting on the translational machinery. *Journal of Cell Science.* 2003;116(8):1391–1393. DOI: 10.1242/jcs.00365.
 27. Spížek J., Řezanka T. Lincosamides: Chemical structure, biosynthesis, mechanism of action, resistance, and applications. *Biochemical Pharmacology.* 2017;133:20–28. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.12.001.
 28. Roberts M.C. Environmental macrolide – lincosamide – streptogramin and tetracycline resistant bacteria. *Frontiers in Microbiology.* 2011;2:40. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00040.
 29. Floyd J.L., Smith K.P., Kumar S.H., Floyd J.T., Varela M.F. LmrS is a multidrug efflux pump of the major facilitator superfamily from *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2010;54(12):5406–5412. DOI: 10.1128/aac.00580-10.
 30. Spížek J., Řezanka T. Lincomycin, clindamycin and their applications. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2004;64(4):455–464. DOI: 10.1007/s00253-003-1545-7.
 31. Ayala N., Lara H., Ixtapan L., Rodríguez C. Silver nanoparticles toxicity and bactericidal effect against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: nanoscale does matter. *Nanobiotechnology.* 2009;5(1):2–9. DOI: 10.1007/s12030-009-9029-1.
 32. Saadh M.J. Effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of Levofloxacin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2021;25(17):5507–5510. DOI: 10.26355/eurev_202109_26661.
 33. Sharma A.D., Gutheil W.G. Synergistic combinations of FDA-approved drugs with ceftobiprole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Spectrum.* 2023;11(1):e03726-22. DOI: 10.1128/spectrum.03726-22.
 34. Swolana D., Wojtyczka R.D. Activity of silver nanoparticles against *Staphylococcus* spp. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022;23(8):4298. DOI: 10.3390/ijms23084298.
 35. Kaur A., Preet S., Kumar V., Kumar R., Kumar R. Synergetic effect of vancomycin loaded silver nanoparticles for enhanced antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2019;176:62–69. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.12.043.
 36. Vazquez-Muñoz R., Meza-Villezas A., Fournier P.G.J., Soria-Castro E., Juárez-Moreno K., Gallego-Hernández A.L. et al. Enhancement of antibiotics antimicrobial activity due to the silver nanoparticles impact on the cell membrane. *PLoS One.* 2019;14(11):e0224904. DOI: 10.1371/journal.pone.0224904.
 37. Malawong S., Thammawithan S., Sirithongsuk P., Daduang S., Klaynongsruang S., Wong P.T. et al. Silver nanoparticles enhance antimicrobial efficacy of antibiotics and restore that efficacy against the melioidosis pathogen. *Antibiotics.* 2021;10(7):839. DOI: 10.3390/antibiotics10070839.
 38. Roy A.S., Parveen A., Koppalkar A.R., Prasad M.A. Effect of nano-titanium dioxide with different antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology.* 2010;1(1):37. DOI: 10.4236/jbmb.2010.11005.

Вклад авторов

Зыкова М.В., Белоусов М.В. – окончательное утверждение рукописи для публикации. Чжан Ю. – разработка методики синтеза композиций гуматов натрия с наночастицами серебра, определение характеристик синтезированных композиций. Лысенко И.В., Михалев Д.А. – выполнение экспериментальной части исследования. Арутюнян Д.А. – обработка и анализ полученных данных, подготовка текста статьи. Азаркина Л.А. – подготовка оригинального текста рукописи. Перминова И.В. – руководство проектом, постановка задачи, обсуждение результатов и подготовка текста статьи.

Информация об авторах

Зыкова Мария Владимировна – д-р фармацевт. наук, доцент, зав. кафедрой химии, СибГМУ, г. Томск, zykova.mv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1973-8983>

Чжан Юй – аспирант, кафедра медицинской химии и тонкого органического синтеза, химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, zhangyu13051837552@gmail.com

Лысенко Илья Владимирович – зам. проректора по образовательной деятельности, г. Челябинск, lussenkoilya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8387-9780>

Арутюнян Дмитрий Альбертович – студент, кафедра химической энзимологии, химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, dmitrii.arutunian@chemistry.msu.ru

Азаркина Людмила Анатольевна – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры химии, СибГМУ, г. Томск, ludmila_logvinova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0167-7043>

Михалев Дмитрий Александрович – ассистент, кафедра химии, СибГМУ, г. Томск, diman021999@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-5292-1368>

Белоусов Михаил Валерьевич – д-р фармацевт. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск, mvb63@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2153-7945>

Перминова Ирина Васильевна – д-р хим. наук, профессор, зав. научно-исследовательской лабораторией природных гуминовых систем, кафедра медицинской химии и тонкого органического синтеза, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, ipermnova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9084-7851>

(✉) **Перминова Ирина Васильевна**, ipermnova@gmail.com

Поступила в редакцию 01.12.2023;
одобрена после рецензирования 22.12.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.36-008.51-056.7-07:575.21:57.088.7
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-65-73>

Результаты секвенирования гена *UGT1A1* у лиц с фенотипом синдрома Жильбера

Иванова А.А.¹, Апарцева Н.Е.¹, Каширина А.П.¹, Немцова Е.Г.², Иванова Ю.В.¹, Кручинина М.В.¹, Курилович С.А.¹, Максимов В.Н.¹

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН)
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

² Северо-Западный государственный медицинский университет (СЗГМУ) им. И.И. Мечникова
Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценка эффективности прямого автоматического секвенирования гена *UGT1A1* для поиска мутаций у пациентов с фенотипом синдрома Жильбера.

Материалы и методы. Проведено прямое автоматическое секвенирование по Сэнгеру экзонов и части промотора гена *UGT1A1* для 24 человек с непрямой гипербилирубинемией, у которых были исключены все другие ее причины, кроме генетических, и сделан ДНК-анализ на определение количества ТА-повторов в промоторе гена *UGT1A1* (rs3064744). Распределение генотипов rs3064744 в группе: пять человек – генотип 7ТА/7ТА, пять человек – генотип 6ТА/6ТА, 12 человек – генотип 6ТА/7ТА, один человек – генотип 5ТА/7ТА, один человек – генотип 6ТА/8ТА. ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции или экспресс-методами. Секвенирование выполнено методом капиллярного электрофореза на аппарате Hitachi 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Результаты. Идентифицированы однонуклеотидные варианты неопределенной клинической значимости rs3755319 (у 21 человека) и rs28899472 (у трех человек с генотипом 7ТА/7ТА rs3064744) в промоторе гена *UGT1A1*, rs2125984650 в 1-м экзоне гена *UGT1A1* (у одного человека с генотипом 5ТА/7ТА rs3064744). У двух лиц с генотипами 6ТА/7ТА rs3064744 выявлены варианты гена, которые являются патогенными и вероятно патогенными для синдрома Жильбера по данным некоторых источников (rs4148323, rs1273237448).

Заключение. Прямое автоматическое секвенирование по Сэнгеру гена *UGT1A1* может быть следующим этапом ДНК-анализа после определения генотипа rs3064744 для лиц с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА rs3064744 и подозрением на синдром Жильбера.

Ключевые слова: синдром Жильбера, ген *UGT1A1*, неконъюгированная гипербилирубинемия, секвенирование по Сэнгеру

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 № 23-25-00062.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на молекулярно-генетический анализ. Исследование одобрено локально-этическим комитетом НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол № 4 от 14.02.2023).

✉ Иванова Анастасия Андреевна, ivanova_a_a@mail.ru

Для цитирования: Иванова А.А., Апарцева Н.Е., Каширина А.П., Немцова Е.Г., Иванова Ю.В., Кручинина М.В., Курилович С.А., Максимов В.Н. Результаты секвенирования гена *UGT1A1* у лиц с фенотипом синдрома Жильбера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):65–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-65-73>.

Results of *UGT1A1* gene sequencing in individuals with the Gilbert syndrome phenotype

Ivanova A.A.¹, Apartseva N.E.¹, Kashirina A.P.¹, Nemcova E.G.², Ivanova Ju.V.¹, Kurilovich S.A.¹, Kruchinina M.V.¹, Maksimov V.N.¹

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
41, Kirochnaya Str., Saint Petersburg, 191015, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the effectiveness of automated Sanger sequencing of the *UGT1A1* gene to search for pathogenic mutations in individuals with the Gilbert syndrome phenotype.

Materials and methods. Automated Sanger sequencing of exons and part of the promoter in the *UGT1A1* gene was carried out for 24 people with unconjugated hyperbilirubinemia, in whom all other causes except for genetic ones were excluded and DNA analysis was performed to determine the number of TA repeats in the promoter of the *UGT1A1* gene (rs3064744). Distribution of rs3064744 genotypes in the group was the following: 5 people – 7TA/7TA genotype, 5 people – 6TA/6TA genotype, 12 people – 6TA/7TA genotype, 1 person – 5TA/7TA genotype, 1 person – 6TA/8TA genotype. DNA was isolated using phenol – chloroform extraction or express methods. The sequencing was performed by capillary electrophoresis on the Hitachi 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA).

Results. Single nucleotide variants of uncertain significance were identified: rs3755319 (in 21 people) and rs28899472 (in three people with the 7TA/7TA genotype of rs3064744) in the promoter of the *UGT1A1* gene, rs2125984650 in the first exon of the *UGT1A1* gene (in one person with the 5TA/7TA genotype of rs3064744). In two individuals with the 6TA/7TA genotype of rs3064744, gene variants were identified that were pathogenic or likely pathogenic for the Gilbert syndrome according to some sources (rs4148323, rs1273237448).

Conclusion. According to the results of the study, automated Sanger sequencing of the *UGT1A1* gene may be the next stage of DNA analysis after determining the rs3064744 genotype for individuals with 6TA/6TA, 6TA/7TA rs3064744 genotypes and suspected Gilbert syndrome.

Keywords: Gilbert syndrome, *UGT1A1* gene, unconjugated hyperbilirubinemia, Sanger sequencing

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation Grant No. 23-25-00062.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to molecular genetic testing. The study was approved by the local Ethics Committee at Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 4 of 14.02.2023).

For citation: Ivanova A.A., Apartseva N.E., Kashirina A.P., Nemcova E.G., Ivanova Ju.V., Kurilovich S.A., Kruchinina M.V., Maksimov V.N. Results of *UGT1A1* gene sequencing in individuals with the Gilbert syndrome phenotype. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):65–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-65-73>.

ВВЕДЕНИЕ

По данным проведенного нами исследования, у почти 35% лиц с фенотипом синдрома Жильбера (СЖ) и исключением других причин неконъюгированной гипербилирубинемии, кроме генетических, не удастся найти частый вариант rs3064744 гена *UGT1A1* (количество ТА-повторов в промоторе гена) в гомозиготном состоянии 7ТА/7ТА, который бы объяснил причину гипербилирубинемии у этих пациентов [1]. Для лиц с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА варианта rs3064744 с неконъюгированной гипербилирубинемией и подозрением на СЖ следующим этапом молекулярно-генетической диагностики может стать проведение прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *UGT1A1* для поиска вариантов гена, которые могут быть причиной развития СЖ.

Целью данного исследования является оценка эффективности прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *UGT1A1* в отношении поиска патогенных мутаций у лиц с разными генотипами rs3064744 и фенотипом синдрома Жильбера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прямое автоматическое секвенирование экзонов и промотора гена *UGT1A1* по Сэнгеру выполнено для 24 человек с непрямой гипербилирубинемией, у которых были исключены все другие ее причины, кроме генетических. Пациенты были обследованы и направлены на ДНК-анализ опытными врачами-га-

строэнтерологами в период с 2012 по 2023 г. Среди 24 человек у пяти обнаружен генотип 7ТА/7ТА rs3064744 (количество ТА повторов в промоторе) гена *UGT1A1*, у 12 – генотип 6ТА/7ТА rs3064744, у пяти – генотип 6ТА/6ТА rs3064744, у одного человека – редкий генотип 5ТА/7ТА rs3064744 и еще у одного – редкий генотип 6ТА/8ТА rs3064744. Характеристика пациентов представлена в табл. 1. Приведенные в таблице показатели концентрации общего и непрямого билирубина являются случайными, теми, с которыми пациент обратился к врачу, т. е. в течение жизни пациента могли быть зафиксированы большие цифры.

ДНК была выделена методом фенолхлороформной экстракции или экспресс-методом (ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА, ООО «ДНК-Технология», г. Москва). Условия проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) описаны в табл. 2. Температурный режим ПЦР включал в себя один цикл предварительного прогрева при температуре 95 °С в течение 5 мин и один завершающий цикл при температуре 72 °С в течение 7 мин. Для амплификации необходимого участка ДНК были использованы разработанные нами праймеры, а также праймеры, описанные в работах N. Abdellaoui и соавт., E. Costa и соавт. [2, 3]. Для амплификации 1-го экзона у носителей гетерозиготного генотипа по варианту rs3064744 (6ТА/7ТА, 5ТА/7ТА, 6ТА/8ТА) были использованы праймеры, исключаяющие зону варианта rs3064744 для улучшения качества прочтения при автоматическом секвенировании.

Таблица 1

Пациенты, включенные в исследование										
№	Пол	Возраст, лет	Генотип rs3064744	Общий билирубин, мкмоль/л	Непрямой билирубин, мкмоль/л	Результаты секвенирования				
						Генотип rs28899472	Генотип rs3755319	Генотип rs2125984650	Генотип rs1273237448	Генотип rs4148323
394	мужской	32	7ТА/7ТА	56,4	47,0	СТ	СС	АА	СС	GG
386	женский	50	7ТА/7ТА	48,0	42,0	СТ	СС	АА	СС	GG
301	мужской	57	7ТА/7ТА	34,9	32,6	СТ	СС	АА	СС	GG
405	мужской	18	7ТА/7ТА	54,8	46,4	СС	СС	АА	СС	GG
533	женский	38	7ТА/7ТА	68,2	58,2	СС	СС	АА	СС	GG
240	женский	61	6ТА/8ТА	51,0	46,2	СС	СС	АА	СС	GG
56	женский	22	5ТА/7ТА	170,0	155,8	СС	СС	АТ	СС	GG
404	мужской	18	6ТА/7ТА	55,4	47,8	СС	АС	АА	СС	GG
447	мужской	76	6ТА/7ТА	36,7	29,5	СС	АС	АА	СГ	GA
12	мужской	18	6ТА/7ТА	58,0	53,4	СС	АС	АА	СС	GG
442	мужской	21	6ТА/7ТА	46,4	37,8	СС	АС	АА	СС	GG
475	мужской	38	6ТА/7ТА	41,7	27,2	СС	АС	АА	СС	GG
498	мужской	38	6ТА/7ТА	35,0	20,3	СС	АС	АА	СС	GG
495	мужской	17	6ТА/7ТА	32,0	26,0	СС	АС	АА	СС	GG
523	мужской	9	6ТА/7ТА	23,0	17,0	СС	АС	АА	СС	GG
535	женский	17	6ТА/7ТА	25,2	21,2	СС	СС	АА	СС	GG
558	мужской	18	6ТА/7ТА	33,5	22,8	СС	СС	АА	СС	GA

Окончение табл. 1

№	Пол	Возраст, лет	Генотип rs3064744	Общий билирубин, мкмоль/л	Непрямой билирубин, мкмоль/л	Результаты секвенирования				
						Генотип rs28899472	Генотип rs3755319	Генотип rs2125984650	Генотип rs1273237448	Генотип rs4148323
587	мужской	15	6ТА/7ТА	36,3	33,1	СС	АС	АА	СС	GG
43	мужской	52	6ТА/7ТА	60,7	49,5	СС	АС	АА	СС	GG
11	мужской	56	6ТА/6ТА	54,2	45,5	СС	АС	АА	СС	GG
9	женский	54	6ТА/6ТА	50,0	30,0	СС	АА	АА	СС	GG
206	мужской	40	6ТА/6ТА	40,2	28,6	СС	АА	АА	СС	GG
224	женский	46	6ТА/6ТА	29,0	24,0	СС	АС	АА	СС	GG
104	мужской	28	6ТА/6ТА	33,7	29,6	СС	АА	АА	СС	GG

Таблица 2

Условия проведения полимеразной цепной реакции, n = 33				
Участок гена	Последовательность праймеров	Температура Продолжительность	Состав смеси	Длина продукта (п.н.)
Промотор	D: 5'-ctctaagcacatccccaagta-3' R: 5'-taagcaagtgttcacctca-3' [3]	95 °C 30 с, 54 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,4 мМ каждого праймера	525
Экзон 1 (гетерозиготы по rs3064744)	1_1_D: 5'-gaacctctggcaggagcaa-3' 1_1_R: 5'-aaagctgctttctgccag-3'	95 °C 30 с, 62 °C 30 с, 72 °C 30 с	Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH ₄) ₂ SO ₄ 20 мМ, Tween-20 0,01%, 2,5 мМ MgCl ₂ , по 0,4 мМ каждого праймера, 0,3 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, 1 единица активности Taq-ДНК-полимеразы (компания «СибЭнзим», Новосибирск)	461
	1_2_D: 5'-acttactgcacaacaagga-3' 1_2_R: 5'-ggctagttaatcgatcca-3'	95 °C 30 с, 56 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,6 мМ каждого праймера	551
Экзон 1 (гомозиготы по rs3064744)	1_1_D: 5'-aacttggtgtatcgattgg-3' 1_1_R: 5'-aaagctgctttctgccag-3'	95 °C 30 с, 50 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,24 мМ каждого праймера	516
	1_2_D: 5'-acttactgcacaacaagga-3' 1_2_R: 5'-ggctagttaatcgatcca-3'	95 °C 30 с, 56 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,6 мМ каждого праймера	551
Экзон 2	D: 5'-tgtaagcaggaaccctctcc-3' R: 5'-gaagctggaagtctgggattag-3' [2]	95 °C 30 с, 60 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,4 мМ каждого праймера	409
Экзон 3	D: 5'-cctcccactctgttaagactgttc-3' R: 5'-agtgttactcatatgccctgc-3' [2]	95 °C 30 с, 60 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,4 мМ каждого праймера	402
Экзон 4	D: 5'-tgcaaggcatgtgagtaacac-3' R: 5'-ttgaacaacgctattataatgctacg-3' [2]	95 °C 30 с, 44 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,4 мМ каждого праймера	434
Экзон 5	D: 5'-gagaggattgttcataccacagg-3' R: 5'-cactgattctgtttcaagtttg-3' [2]	95 °C 30 с, 60 °C 30 с, 72 °C 30 с	10 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 0,8 мМ каждого праймера	429

Примечание. n – количество циклов, п.н. – пара нуклеотидов.

Полученные продукты амплификации подвергали очистке от солей, не включившихся праймеров и дезоксинуклеотидтрифосфатов с помощью суспензии магнитных частиц КлинМаг ДНК (ЗАО «Евроген», г. Москва). Секвенирование образцов осуществляли при помощи наборов BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems, США), BrilliantDye™ Terminator (v3.1) Cycle Sequencing Kit (NimaGen, Нидерланды) методом капиллярного электрофореза на аппарате Hitachi 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems,

США) с применением полимера POP-7. Анализ результатов секвенирования осуществляли с помощью программ SeqScape v.2.7, Sequence Scanner.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру указаны в табл. 1.

У 21 человека обнаружен частый однонуклеотидный вариант rs3755319 в гетеро- или гомозиготном состоянии (рис. 1, 2). Однонуклеотидный вариант

rs3755319 (g.234667582A>C) локализован в промоторе гена *UGT1A1*, является часто встречающимся в популяции вариантом [4]. Частота редкого аллеля С варианта по данным GnomAD для европейцев – около 0,43. По данным ClinVar, вариант является патогенным для транзиторной семейной неонатальной гипербилирубинемии. Однако в исследовании, выполненном в Корее, не обнаружено его влияния на уровень экспрессии гена (при оценке в составе гаплотипов): гаплотипы rs3755319C-rs2003569A-rs887829C-rs3064744(TA)6 и rs3755319A-rs2003569G-rs887829C-rs3064744(TA)7 ассоциированы с более низкой экспрессией гена по сравнению с гаплотипом rs3755319C-rs2003569G-rs887829T-rs3064744(TA)6 [5]. Проводились исследования rs3755319 в отношении влияния на фармакокинетику моксифлоксацина, иринотекана [6, 7]. Вариант ас-

социирован с уровнем общего билирубина и холели-тиазом у пациентов с серповидноклеточной анемией [8]. Для того чтобы сделать однозначный вывод об ассоциации варианта с СЖ, необходимо провести дополнительные исследования.

У трех человек с генотипом 7TA/7TA rs3064744 (пациенты № 301, 386, 394) идентифицирован частый однонуклеотидный вариант rs28899472 в гетерозиготном состоянии (рис. 3). Однонуклеотидный вариант rs28899472 (g.234667809C>T) локализован в промоторе гена *UGT1A1* [9]. Частота редкого аллеля варианта, по данным GnomAD, для европейцев – около 0,03. Вариант не описан в ClinVar, не найдено научных статей, в которых упоминается этот вариант. По данным предиктивного анализа *in silico*, вариант определен как доброкачественный/нейтральный (PolyPhen-2, PhD-SNP, SNPs&GO).

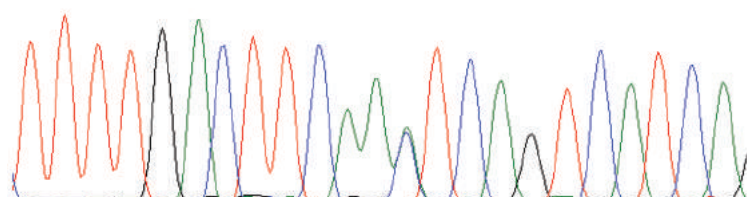


Рис. 1. Сиквенс образца (rs3755319 в гетерозиготном состоянии)

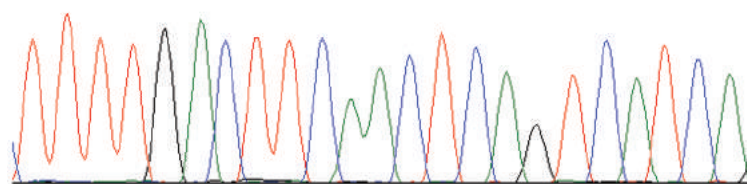


Рис. 2. Сиквенс образца (rs3755319 в гомозиготном состоянии)

Проведен поиск варианта rs28899472 у ближайших родственников пациентов № 386, 394. Все родственники пациентов, включенные в исследование, не отмечали клинических симптомов гипербилирубинемии и у них никогда не фиксировалось повышение концентрации билирубина и его фракций по результатам биохимического исследования крови. Оба сына пациентки № 386 (женщина 50 лет, максимальная концентрация билирубина была зафиксирована во время беременности, в течение жизни наблюда-

ются колебания концентрации билирубина от нормальных до повышенных цифр) являются гетерозиготными носителями варианта rs3064744 (6TA/7TA). У одного из сыновей (28 лет) идентифицирован вариант rs28899472 в гетерозиготном состоянии, второй сын (24 года) не является носителем редкого аллеля rs28899472. Отец пациента № 394 (мужчины 32 лет, у которого впервые неконъюгированная гипербилирубинемия была диагностирована на фоне лечения диффузного токсического зоба тиреостатиками)

также является гетерозиготным носителем варианта rs3064744 (6ТА/7ТА) и не является носителем редкого аллеля варианта rs28899472.

Таким образом, вариант rs28899472 идентифицирован в гетерозиготном состоянии у лица без гипербилирубинемии, носителя генотипа 6ТА/7ТА варианта rs3064744. То есть расценить вариант как патогенный в отношении СЖ на данный момент нельзя, требуется проведение исследований дизайна «случай – контроль» с целью определения частоты варианта в группе лиц с гипербилирубинемией и в контрольной группе.

У пациента № 56 (редкий генотип 5ТА/7ТА rs3064744, женщина, 22 года, без заболеваний печени и желчного пузыря в анамнезе) идентифицирован

редкий однонуклеотидный вариант rs2125984650 в гетерозиготном состоянии (рис. 4). Однонуклеотидный вариант rs2125984650 в 1-м экзоне гена *UGT1A1* (с.188А>Т) является миссенс-вариантом, приводящим к замене аспарагиновой аминокислоты на валин р.Asp63Val в 63 позиции аминокислотной последовательности белка [10]. Вариант не описан в ClinVar. Данных по частоте варианта в GnomAD нет. Не найдено научных статей, в которых упоминается вариант rs2125984650. По данным предиктивного анализа *in silico*, вариант определен как доброкачественный/нейтральный (PolyPhen-2, PhD-SNP, SNPs&GO). Таким образом, на данный момент вариант rs2125984650 гена *UGT1A1* может быть расценен как вариант неопределенного значения.

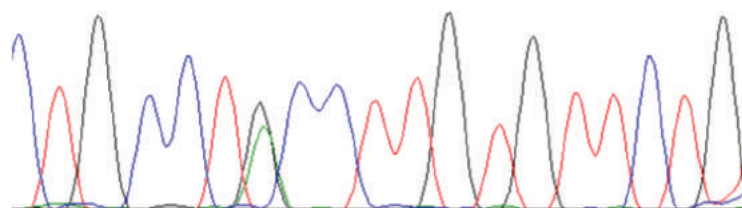


Рис. 3. Сиквенс образцов № 301, 386, 394 (rs28899472 в гетерозиготном состоянии)

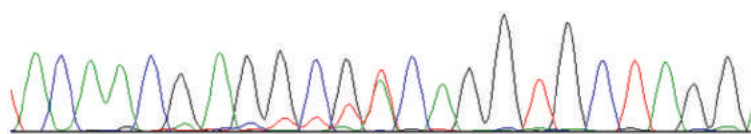


Рис. 4. Сиквенс образца № 56 (rs2125984650 в гетерозиготном состоянии)

У пациента № 447 (генотип 6ТА/7ТА rs3064744, мужчина, 76 лет, гипербилирубинемия выявлена случайно в возрасте 76 лет, татарин, в анамнезе желчнокаменная болезнь, по результатам ультразвукового исследования обнаружены кисты левой доли печени) идентифицирован редкий однонуклеотидный вариант rs1273237448 в гетерозиготном состоянии (рис. 5). Однонуклеотидный вариант rs1273237448 локализован в 1-м экзоне гена *UGT1A1* (с.182С>G), является миссенс-вариантом, приводящим к замене аминокислоты аланина на

глицин р.Ala61Gly в 61-й позиции аминокислотной последовательности белка [11].

По данным ClinVar, вариант является вероятно патогенным для СЖ [12]. Частота редкого аллеля варианта, по данным GnomAD, очень низкая – около 0,000009, гомозигот не зафиксировано. Не найдено научных статей, в которых упоминается вариант rs1273237448. По данным предиктивного анализа *in silico*, вариант расценен как доброкачественный/нейтральный (PolyPhen-2, PhD-SNP, SNPs&GO). На данный момент вариант может быть расценен как ва-

риант неопределенного значения, однако он может иметь отношение к фенотипу пациента.

Пациент № 558 (генотип 6ТА/7ТА rs3064744, мужчина, 18 лет, без заболеваний печени и желчного пузыря в анамнезе), является носителем редкого варианта rs4148323 (*UGT1A1**6) в гетерозиготном состоянии (рис. 6). Вариант rs4148323 локализован в 1-м экзоне гена *UGT1A1* (с.211G>A, p.Gly71Arg) [13]. Частота редкого аллеля варианта, по данным GnomAD, низкая – около 0,002. Наиболее распространен вариант в странах Азии (частота редкого аллеля варианта – около 0,15). Вариант rs4148323 (*UGT1A1**6) в гомозиготном состоянии связан с развитием СЖ, неонатальной гипербилирубинемией и снижением активности фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы 1А1 на 70% по сравнению с диким типом [14, 15].

Ранее нами был проведен поиск варианта в группе лиц с СЖ (125 человек). В состав группы не были включены пациенты № 447 и 558. У двоих лиц с

СЖ в этой группе был идентифицирован вариант rs4148323 также в гетерозиготном состоянии. Кроме варианта rs4148323, пациенты были гетерозиготами по rs3064744 (генотип 6ТА/7ТА) [1]. Основные исследования rs4148323 проведены в странах Азии (Индия, Китай). В них показано, что при СЖ встречаются как гомозиготные носители rs4148323, так и компаунд-гетерозиготы по rs4148323 и rs3064744, что и наблюдается у пациентов № 447 и 558 [16, 17].

Таким образом, пациент № 447 является гетерозиготным носителем четырех вариантов: rs3064744 (частый вариант при СЖ), rs1273237448 (редкий вариант, вероятно патогенный для СЖ по данным ClinVar), rs4148323 (известный вариант для СЖ у жителей азиатских стран), которые могут объяснить неконъюгированную гипербилирубинемия, и распространенного в популяции варианта rs3755319, клиническая значимость которого на данный момент неизвестна.

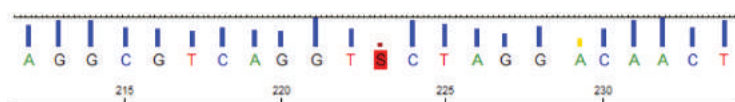


Рис. 5. Сиквенс образца № 447 (rs1273237448 в гетерозиготном состоянии)



Рис. 6. Сиквенс образца № 447 (rs4148323 в гетерозиготном состоянии)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно результатам проведенного исследования, прямое автоматическое секвенирование по Сэнгеру гена *UGT1A1* может быть следующим этапом ДНК-анализа после определения генотипа rs3064744 для лиц с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА rs3064744 и подозрением на СЖ.

Идентифицирован распространенный однонуклеотидный вариант rs3755319 в промоторе гена,

значимость которого в отношении неконъюгированной гипербилирубинемии должна будет оценена в следующих научных исследованиях. У трех лиц с подтвержденным СЖ (7ТА/7ТА rs3064744) идентифицирован вариант rs28899472, роль которого в развитии фенотипа СЖ пока неясна, что также требует дальнейшего изучения. У пациента с редким генотипом 5ТА/7ТА rs3064744 идентифицирован однонуклеотидный вариант неопределенного значения

rs2125984650. У двух лиц с генотипами 6ТА/7ТА rs3064744 выявлены варианты гена, которые являются патогенными и вероятно патогенными для СЖ по данным некоторых источников (rs4148323, rs1273237448).

Таким образом, ни у одного из шести человек с неконъюгированной гипербилирубинемией и генотипом 6ТА/6ТА rs3064744 не выявлено каких-либо патогенных для СЖ вариантов в гене *UGT1A1*. Среди 12 человек с неконъюгированной гипербилирубинемией и генотипом 6ТА/7ТА rs3064744 у двух найдены варианты, объясняющие их состояние. То есть только у 11% (два человека из 18 с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА rs3064744) прямое автоматическое секвенирование по Сэнгеру гена *UGT1A1* позволило выявить причинные варианты гена. Полученные результаты могут говорить о наличии вариантов других генов, которые ассоциированы с СЖ, либо о недостаточной обследованности пациентов с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА rs3064744 и клинически ложном диагнозе синдрома Жильбера.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Иванова А.А., Гуражева А.А., Мельникова Е.С., Максимов В.Н., Немцова Е.Г. Исследование молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):39–45. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-2-39-45.
2. Abdellaoui N., Abdelmoula B., Abdelhedi R., Kharrat N., Tabeti M., Rebai A. et al. Novel combined UGT1A1 mutations in Crigler Najjar syndrome type I. *J. Clin. Lab. Anal.* 2022;36(6):e24482. DOI: 10.1002/jcla.24482.
3. Costa E., Vieira E., Martins M., Saraiva J., Cancela E., Costa M. et al. Analysis of the UDP-glucuronosyltransferase gene in Portuguese patients with a clinical diagnosis of Gilbert and Crigler-Najjar syndromes. *Blood Cells Mol. Dis.* 2006;36(1):91–7. DOI: 10.1016/j.bcmd.2005.09.002.
4. Db SNP rs3755319. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3755319>.
5. Shin H.J., Kim J.Y., Cheong H.S., Na H.S., Shin H.D., Chung M.W. Functional study of haplotypes in UGT1A1 promoter to find a novel genetic variant leading to reduced gene expression. *Ther. Drug Monit.* 2015;37(3):369–374. DOI: 10.1097/FTD.0000000000000154.
6. Naidoo A., Ramsuran V., Chirehwa M., Denti P., McIlleron H., Naidoo K. et al. Effect of genetic variation in UGT1A and ABCB1 on moxifloxacin pharmacokinetics in South African patients with tuberculosis. *Pharmacogenomics*. 2018;19(1):17–29. DOI: 10.2217/pgs-2017-0144.
7. Yu Q., Zhang T., Xie C., Qiu H., Liu B., Huang L. et al. UGT1A polymorphisms associated with worse outcome in colorectal cancer patients treated with irinotecan-based chemotherapy. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2018;82(1):87–98. DOI: 10.1007/s00280-018-3595-7.
8. Milton J.N., Sebastiani P., Solovieff N., Hartley S.W., Bhatnagar P., Arking D.E. et al. A genome-wide association study of total bilirubin and cholelithiasis risk in sickle cell anemia. *PLoS One*. 2012;7(4):e34741. DOI: 10.1371/journal.pone.0034741.
9. Db SNP rs28899472. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs28899472>.
10. Db SNP rs2125984650. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2125984650#variant_details.
11. Db SNP rs1273237448. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1273237448#variant_details.
12. ClinVar. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV002221165.1>.
13. Db SNP rs4148323. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs4148323>.
14. Steventon G. Uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1. *Xenobiotica*. 2020;50(1):64–76. DOI: 10.1080/00498254.2019.1617910.
15. Zhou J., Yang C., Zhu W., Chen S., Zeng Y., Wang J. et al. Identification of Genetic Risk Factors for Neonatal Hyperbilirubinemia in Fujian Province, Southeastern China: A Case-Control Study. *Biomed. Res. Int.* 2018;2018:7803175. DOI: 10.1155/2018/7803175.
16. Bale G., Avanthi U.S., Padaki N.R., Sharma M., Duvvur N.R., Vishnubhotla V.R.K. Incidence and risk of Gallstone disease in Gilbert's syndrome patients in Indian population. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2018;8(4):362–366. DOI: 10.1016/j.jceh.2017.12.006.
17. Zhang M., Wang H., Huang Y., Xu X., Liu W., Ning Q. et al. Compound heterozygous UGT1A1*28 and UGT1A1*6 or single homozygous UGT1A1*28 are major genotypes associated with Gilbert's syndrome in Chinese Han people. *Gene*. 2021;781:145526. DOI: 10.1016/j.gene.2021.145526.

Вклад авторов

Иванова А.А. – разработка концепции и дизайна, молекулярно-генетический анализ, интерпретация данных. Апарцева Н.Е., Немцова Е.Г., Курилович С.А., Кручинина М.В. – формирование группы СЖ. Каширина А.П., Иванова Ю.В. – молекулярно-генетический анализ. Максимов В.Н. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

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

Апарцева Наталья Евгеньевна – аспирант, мл. науч. сотрудник, лаборатория генетических и средовых детерминант жизненного цикла человека, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, tusya_evdokimova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3772-1058>

Каширина Анастасия Петровна – аспирант, мл. науч. сотрудник, лаборатория генетических и средовых детерминант жизненного цикла человека, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, kashirina_a_p_91@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1968-9712>

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

Иванова Юлия Владимировна – ординатор, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, juliaivanovvaa@yandex.ru.

Кручинина Маргарита Витальевна – д-р мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, лаборатория гастроэнтерологии, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, kruchmargo@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0077-3823>

Курилович Светлана Арсентьевна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией гастроэнтерологии, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, kurilovich@yandex.ru

Максимов Владимир Николаевич – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, medik11@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7165-4496>

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

Поступила в редакцию 06.12.2023;
одобрена после рецензирования 21.12.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.12-008.46-036.12-037-036.88
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-74-82>

Внешняя валидация многофакторной модели прогнозирования риска смерти у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и имплантированным кардиовертером-дефибриллятором

Лебедева Н.Б.¹, Парфенов П.Г.¹, Егле А.П.¹, Иванов В.И.², Галинцев Ю.В.²,
Кашталап В.В.¹, Барбараш О.Л.¹

¹ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ)
Россия, 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

² Кемеровский государственный медицинский университет (КемГМУ)
Россия, 650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

РЕЗЮМЕ

Цель. Внешняя валидация многофакторной модели прогнозирования риска смерти у пациентов с имплантированным кардиовертером-дефибриллятором (ИКД) на независимой выборке.

Материалы и методы. Группа разработки модели была представлена 260 пациентами из Кузбасского регистра пациентов с имплантированным кардиовертером-дефибриллятором, которым ИКД был имплантирован в период с 2015 по 2019 г. Внешняя валидация модели проведена в когорте независимого проспективного наблюдения пациентов из этого же регистра, которым ИКД был имплантирован в период с 2020 по 2021 г., всего 94 пациента, медиана возраста 66 (52;73) лет, 73 (77,6%) мужчин, 21 (22,4%) женщина. У 89 (94,7%) пациентов ИКД был имплантирован с целью первичной профилактики внезапной сердечной смерти. Путем телефонного опроса, изучения медицинской документации баз данных стационаров и поликлиник были получены данные о статусе «жив/умер» и о причинах смерти в течение 2,5 лет наблюдения. Сравнялась фактическая и прогнозируемая по оцениваемой многофакторной модели смертность.

Результаты. За период наблюдения в группе внешней валидации всего умерли 26 (27,7 %) пациентов, что было сопоставимо с группой разработки ($p > 0,05$). В группе умерших у 15 (57,7%) развилась острая декомпенсация сердечной недостаточности, у 4 (14,8 %) установлен инфаркт миокарда, у 6 (23,1%) – пневмония, вызванная новой коронавирусной инфекцией, 1 (3,8%) пациент умер из-за инфекционного осложнения.

Диагностическая точность многофакторной модели прогнозирования риска смерти у пациентов с ИКД на независимой выборке была достаточной (площадь под ROC-кривой (AUC) созданной модели составила 0,8). Чувствительность модели составила 76,2%, специфичность – 76,1%. Ранее на когорте разработки площадь под ROC-кривой (AUC) созданной модели составила 0,8; чувствительность модели – 75,7%; специфичность – 80%. Значимость модели в группах разработки и внешней валидации существенно не отличалась ($p = 0,102$, тест McNeil).

Закключение. Многофакторная модель прогнозирования обладает достаточной статистической мощностью для прогнозирования риска смерти в отдаленном периоде после имплантации ИКД, что подтверждено внешней валидацией.

Ключевые слова: имплантируемый кардиовертер-дефибриллятор, сердечная недостаточность, прогностическая модель, смерть, валидация

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ «Разработка инновационных моделей управления риском развития болезней системы кровообращения с уче-

том коморбидности на основе изучения фундаментальных, клинических, эпидемиологических механизмов и организационных технологий медицинской помощи в условиях промышленного региона Сибири» (№ госрегистрации 122012000364-5 от 20.01.2022).

Соответствие принципам этики. Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом КПССЗ (протокол № 1 от 26.01.2015).

Для цитирования: Лебедева Н.Б., Парфенов П.Г., Егле А.П., Иванов В.И., Галинцев Ю.В., Кашталап В.В., Барбараш О.Л. Внешняя валидация многофакторной модели прогнозирования риска смерти у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и имплантированным кардиовертером-дефибриллятором. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):74–82. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-74-82>.

External validation of a multivariate model for predicting the risk of death in patients with chronic heart failure and an implantable cardioverter – defibrillator

Lebedeva N.B.¹, Parfenov P.G.¹, Ivanov V.I.², Egle A.P.¹, Galintsev Yu.V.², Kashtalap V.V.¹, Barbarash O.L.¹

¹ *Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases
6, Sosnovy Blvd., Kemerovo, 650002, Russian Federation*

² *Kemerovo State Medical University
22a, Voroshilova Str., Kemerovo, 650056, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To perform external validation of a multivariate model for predicting the risk of death in patients with an implantable cardioverter – defibrillator (ICD) in an independent sample.

Materials and methods. The group for model development included 260 patients from the Implantable Cardioverter – Defibrillator Patient Registry who had an ICD implanted between 2015 and 2019. External validation of the model was carried out in an independent, prospective, observational cohort study of patients from the same registry, in whom an ICD was implanted between 2020 and 2021, a total of 94 patients, median age 66 (52;73) years, 73 (77.6%) men, 21 (22.4%) women. In 89 (94.7%) patients, an ICD was implanted for primary prevention of sudden cardiac death. Following a telephone survey and examination of medical records from hospital and clinic databases, data on the vital status (alive / dead) and causes of death were obtained during a 2.5-year follow-up. The actual and predicted mortality from the estimated multivariate model were compared.

Results. During the follow-up, a total of 26 (27.7%) patients died in the external validation group, which was comparable to the development group ($p > 0.05$). In the group of deceased, 15 (57.7%) people developed acute decompensated heart failure, 4 (14.8%) had myocardial infarction, 6 (23.1%) had pneumonia caused by a new coronavirus infection, and one (3.8%) patient died due to an infectious complication.

The diagnostic accuracy of the multivariate model for predicting the risk of death in patients with ICD in an independent sample was sufficient (the area under the curve (AUC) of the created model was 0.8). The sensitivity of the model was 76.2%, specificity – 76.1%. Previously, in the development cohort, AUC of the created model was 0.8, the sensitivity of the model was 75.7%, and the specificity was 80%. Model significance did not differ significantly between the development and external validation groups ($p = 0.102$, McNeil test).

Conclusion. The multivariate prediction model has sufficient statistical power to predict the risk of long-term death after ICD implantation, which was externally validated.

Keywords: implantable cardioverter – defibrillator, heart failure, prognostic model, death, validation

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

Source of financing. The study was carried out within the basic research topic of Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases “Developing innovative risk management models for cardiovascular dis-

eases with account of comorbidity based on the study of fundamental, clinical, and epidemiological mechanisms and medical care organization technologies in conditions of the industrial region of Siberia" (state registration No. 122012000364-5 of 20.01.2022).

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 Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases (Protocol No. 1 of 26.01.2015).

For citation: Lebedeva N.B., Parfenov P.G., Ivanov V.I., Egle A.P., Galintsev Yu.V., Kashtalap V.V., Barbarash O.L. External validation of a multivariate model for predicting the risk of death in patients with chronic heart failure and an implantable cardioverter – defibrillator. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):74–82. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-74-82>.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно последним данным, распространенность пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью (ХСН) в РФ возросла до 8,2% [1]. Известно, что низкая фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) является одним из основных предикторов развития жизнеугрожающих желудочковых нарушений ритма (ЖНР) и связанного с ними высокого риска внезапной сердечной смерти (ВСС) [2]. Современные клинические рекомендации по профилактике ВСС рассматривают ФВ ЛЖ менее 35% как основное показание (класс доказательности IA) для имплантации кардиовертера-дефибриллятора (ИКД) с целью первичной профилактики ВСС [1, 3].

Таким образом, потребность в ИКД в качестве метода профилактики ВСС представляется весьма высокой. С одной стороны, несмотря на устойчивый рост количества установленных ИКД, по уровню обеспеченности регионов методами интервенционной аритмологии Россия находится на одном из последних мест в Европе [4]. С другой стороны, данные реальной клинической практики свидетельствуют о том, что пациенты с низкой ФВ ЛЖ чаще умирают от острой декомпенсации сердечной недостаточности (ОДСН), чем от других причин, в том числе и ВСС [5]. Поэтому прогностическая модель, которая позволит оценить степень риска смерти у пациентов с низкой ФВ ЛЖ перед имплантацией ИКД, поможет в осуществлении персонифицированного подхода к отбору пациентов на данный вид высокотехнологичной медицинской помощи.

Клиническое прогнозирование, основанное на доступных клинических данных и применении современных статистических ресурсов, которое позволяет оценить риск развития того или иного события, является важным направлением научного поиска и имеет четкую практическую направленность. В этой связи в медицине в целом и в кардиологии в частности отмечается экспоненциальный рост различных прогностических моделей. Проблема их применения в клинике

заключается в том, что далеко не все из них проходят внешнюю валидацию. Так, было показано, что из 1 366 различных моделей для прогнозирования сердечно-сосудистых заболеваний только 43,4% представили данные о внешней валидации [6]. Единичные модели, помимо внешней валидации, имеют еще и доказанную клиническую эффективность, показавшую, что использование модели на практике приводит к улучшению результатов для пациентов и врачей.

Целью настоящего исследования явилась внешняя валидация многофакторной модели прогнозирования риска смерти у пациентов с ИКД на независимой выборке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Многофакторная прогностическая модель определения риска неаритмической смерти у пациентов с ХСН и ИКД была разработана и прошла внутреннюю валидацию в результате проведения одноцентрового обсервационного проспективного исследования на основе данных Кузбасского Регистра пациентов с имплантированным кардиовертером-дефибриллятором. В регистр последовательно включались все пациенты Кемеровской области, которым имплантировался ИКД с 2015 по 2019 г., всего 264 пациента. Организация регистра и форма информированного согласия были одобрены локальным этическим комитетом учреждения и соответствовали положениям Хельсинкской декларации. Информированное согласие подписывалось всеми пациентами при поступлении в стационар. При ведении регистра соблюдались все требования Федерального закона от 27.07.2006 г. № 152-ФЗ «О персональных данных».

Возраст пациентов, включенных в группу разработки прогностической модели, составил 59 (53; 66) лет, 214 (82,3%) – мужчины, 28 (10,8%) работающих. У всех больных была диагностирована ХСН. Медиана ФВ ЛЖ составила 30 (25; 36)%. Кардиовертер-дефибриллятор был установлен с целью первичной профилактики ВСС 158 (60,8%) пациентам. До

имплантации ИКД одновременную трехкомпонентную медикаментозную терапию (блокатор ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), антагонист минералокортикоидных рецепторов (АМКР), бета-адреноблокатор (БАБ)), согласно существующим на тот момент клиническим рекомендациям по лечению ХСН, получали всего 122 (46,9%) пациента.

Для определения наиболее значимых предикторов смерти в течение периода наблюдения была выполнена пошаговая логистическая регрессия с включением наиболее важных переменных (все из них могут быть определены при скрининге пациента) и составлены прогностические модели для риска развития смерти, комбинированной конечной точки и прогрессирования сердечной недостаточности. При моделировании применялось регрессивное уравнение: $y = a + b_1 \times X_1 + b_2 \times X_2 + \dots + b_i \times X_i$, где y – зависимая переменная, принимающая два значения: 0 – нет события, 1 – есть событие; a – константа; b_i – коэффициенты регрессии; X_i – переменные.

Рассчитывалась вероятность возникновения события P : $P = 1 / (1 + e^{-y})$, где P – прогностическая вероятность, e – экспонента, приближенное значение которой равно 2,718.

Проверка нулевой гипотезы о совпадении теоретических и практических частот модели (валидности) проводилась с помощью критерия согласия Хосмера – Лемешова, граница критического уровня значимости $p > 0,05$ свидетельствует о валидности модели.

После формирования моделей были рассчитаны диапазоны качественной оценки прогностической вероятности возникновения события. В прогнозе смерти в качестве порога отсечения взято значение 0,2. В остальных случаях 0,5.

Для первичного включения в модель вошли признаки, имеющие статистические различия в тестах сравнения. Показатели, полученные при разработке прогностической модели риска смерти с помощью пошаговой регрессии, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Коэффициенты регрессии прогностической модели риска развития смерти в отдаленном (4-летнем) периоде у пациентов с имплантированным кардиовертером-дефибриллятором

Переменные в уравнении						
Показатель	B	Среднеквадратичная ошибка	Вальд	Степень свободы	Значимость	Exp (B)
P (ЛА), мм рт. ст., X1	0,049	0,014	12,696	1	0,000	1,050
NYHA, X2	1,312	0,353	13,854	1	0,000	3,715
Вид профилактики ВСС, X3	-1,396	0,370	14,203	1	0,000	0,248
Возраст, X4	0,054	0,017	9,596	1	0,002	1,055
РААС + БАБ + АМКР, X5	1,244	0,380	10,737	1	0,001	3,470
БАБ, X6	-1,626	0,681	5,701	1	0,017	0,197
Константа	-5,691	1,336	18,145	1	0,000	0,003

Примечание. P (ЛА) – систолическое давление в легочной артерии, NYHA – функциональная классификация степени сердечной недостаточности Нью-Йоркской кардиологической ассоциации.

Формула прогностической вероятности развития смерти имеет следующий вид:

$$P = 1 / (1 + 2,718^{(-5,691 + 0,049 \times x_1 + 1,312 \times x_2 - 1,396 \times x_3 + 0,054 \times x_4 + 1,244 \times x_5 - 1,626 \times x_6)}) \times 100\%$$

P выше 28% свидетельствует о высоком риске смерти.

Таким образом, разработанная прогностическая регрессионная модель учитывает: систолическое давление в легочной артерии выше 45 мм рт. ст. ($p = 0,000$), класс NYHA ($p = 0,000$), вид профилактики ВСС ($p = 0,000$), прием трехкомпонентной медикаментозной терапии ХСН ($p = 0,001$), прием БАБ ($p = 0,017$). При проведении внутренней валидации критерий согласия Хосмера – Лемешова для дан-

ной прогностической модели составил $\chi^2 = 4,210$; $p = 0,838$; площадь под ROC-кривой (AUC) созданной модели – 0,8; чувствительность модели была равна 80%, специфичность – 75,7%, что свидетельствует о высокой прогностической способности. Модель представлена в виде компьютерной программы-калькулятора для применения на базе операционных систем Microsoft Windows 9x/NT/2000/Vista, 7, 8 «Калькулятор расчета риска смерти у пациентов с имплантированным кардиовертером-дефибриллятором» [7].

С целью внешней валидации данной прогностической модели на независимой выборке в одноцентровое проспективное исследование были включены

94 пациента, госпитализированных в НИИ КПССЗ с 2020 по 2021 г. для имплантации ИКД. Медиана возраста пациентов составила 66 (52; 73) лет, 73 (77,6%) мужчин, 21 (22,4%) женщина, 16 (17%) работающих пациентов. Сравнительная клиническая характеристика групп разработки модели и ее внешней валидации представлены в табл. 2.

У всех пациентов оценивался риск развития смерти в отдаленном периоде после имплантации ИКД с помощью разработанной прогностической модели [7]. Далее проводилось проспективное наблюдение с ежегодной регистрацией жизненного статуса пациентов и причин смерти. Период наблюдения составил 2,5 года.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и SPSS 23.0 (IBM, США). Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Сравнение между собой непрерывных величин с нормальным распределением осуществлялось с помощью *t*-теста Стьюдента, при отсутствии нормальности распределения применялся непараметрический критерий Манна – Уитни (*U*-критерий). Сравнение дискретных величин осуществлялось с использованием критерия χ^2 с поправкой на непрерывность по Йетсу. При малом числе случаев в одной из сравниваемых групп (5 и менее), использовался двусторонний критерий Фишера (*F*-критерий). Данные приведены в виде медианы и интерквартильного размаха *Me* (Q_{25} ; Q_{75}), а также в виде абсолютной и относительной величины *n* (%). Различия считались статистически значимыми при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Внешнюю валидацию проводили с помощью ROC-анализа. Анализ диагностической точности тестируемой модели осуществляли путем построения характеристических кривых. Для каждого тестируемого диагностического критерия рассчитывали чувствительность и специфичность. Сравнение диагностической значимости в разных клинических группах проводили путем сравнения площадей под ROC-кривыми с помощью теста McNeil. Классификацию и оценку согласия модели и реальных данных выполняли с помощью критерия Хосмера – Лемешова. Модель считали адекватной при отсутствии значимых различий ($p > 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение характеристик групп разработки и внешней валидации представлено в табл. 2.

Когорты пациентов сравниваемых групп были сопоставимы по полу, возрасту, этиологии ХСН и ФВ ЛЖ. Группа внешней валидации была несколько

ко тяжелее по сердечной недостаточности (СН), большинству пациентов ИКД имплантировался для первичной профилактики ВСС (см. табл. 2). Учитывая факт того, что оптимальная медикаментозная терапия ХСН явилась важным прогностическим признаком, проведен сравнительный анализ медикаментозной терапии в группах внешней и внутренней валидации (табл. 3)

Таблица 2

Исходная клиничко-anamnestическая характеристика групп, <i>n</i> (%)		
Показатель	Группа разработки, <i>N</i> = 260, 2015–2019 гг.	Группа валидации, <i>N</i> = 94, 2019–2020 гг.
Мужчины	214 (82,3)	73 (77,6)
Возраст, лет, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	59 (53; 66)	66 (52; 73)
Работающие	28 (10,8)	16 (17)*
ИБС	194 (74,6)	76 (80,8)
ПИКС	156 (60)	58 (61,7)
Некоронарогенные заболевания	66 (25,4)	18 (19,2)
ФВ ЛЖ, %, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	30 (25; 36,5)	29,5 (24; 37)
Все формы ФП	106 (40,8)	41 (43,6)
НУНА I–II	179 (68,8)	44 (46,8)*
НУНА III–IV	81 (31,2)	50 (53,2)*
Первичная профилактика ВСС	158 (60,8)	89 (94,7)*

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ПИКС – постинфарктный кардиосклероз, ФП – фибрилляция предсердий, *N* – количество пациентов. * $p < 0,01$.

Таблица 3

Частота назначения медикаментозной терапии по поводу сердечной недостаточности до ИКД, <i>n</i> (%)		
Препарат	Группа разработки, <i>N</i> = 260	Группа валидации, <i>N</i> = 94
ИАПФ	164 (57,3)	56 (59,5)
АРА*	41 (14,3)	36 (38,2)
АРНИ*	5 (1,7)	14 (14,9)
БАБ	259 (90,6)	87 (92,5)
АМКР*	167 (58,4)	65 (69,1)
Амиодарон	144 (50,3)	54 (57,4)

Примечание. ИАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина, АРНИ – ангиотензиновых рецепторов и неприлизина ингибитор, *N* – количество пациентов. * $p < 0,01$.

При сравнении проводимой перед имплантацией ИКД терапии оказалось, что пациентам в группе валидации чаще назначали АМКР и блокаторы РААС. Однако одновременную трехкомпонентную терапию ХСН получали всего 122 (46,9%) пациента группы разработки и 49 (52,1%) пациентов группы валидации ($p < 0,05$).

За период наблюдения в группе разработки модели умерли 54 пациента, 4 были потеряны для наблюдения и расценены как умершие и, таким образом, летальность в общей группе составила 21,9 %. В группе умерших у 19 (35,2 %) пациентов смерть наступила в стационаре, из них у 3 (17,6 %) установлен инфаркт миокарда, у 1 (5,9 %) – острое нарушение мозгового кровообращения, 13 (76,5%) умерли по причине ОДСН и 2 (3,7%) – из-за пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией. Вне стационара умерли 35 (64,8 %) пациентов, у них развилась клиника ОДСН, в качестве причины смерти заявлено основное заболевание: у 10 (27 %) – дилатационная кардиомиопатия, у 1 (2,8 %) – ревматический митральный

порок, у остальных 24 (68,6 %) – ишемическая кардиомиопатия. Подавляющее большинство случаев смерти развилось в первые 1,5 года наблюдения.

В течение 2,5 лет наблюдения в группе внешней валидации было зарегистрировано 26 (27,7%) случаев смерти, что сопоставимо с группой разработки ($p > 0,05$). В группе умерших у 15 (57,7%) развилась ОДСН, у 4 (14,8 %) установлен инфаркт миокарда, у 6 (23,1%) – пневмония, вызванная новой коронавирусной инфекцией, 1 (3,8%) пациент умер из-за инфекционного осложнения (сепсис).

Диагностическая ценность разработанной модели в группе внешней валидации показала себя достаточно высокой (рис.).

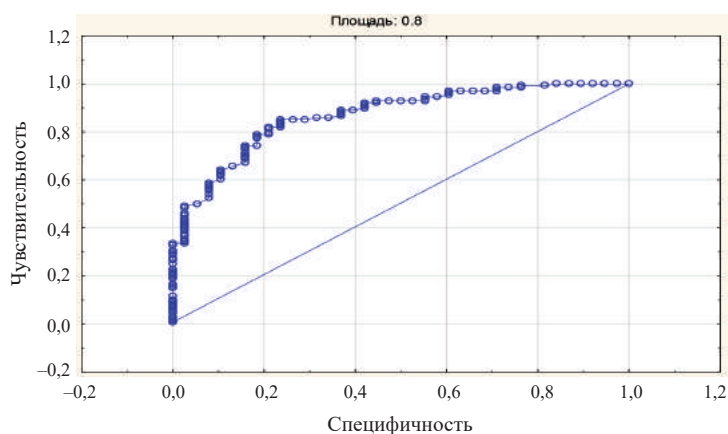


Рисунок. Прогностическая мощь модели (ROC-кривая) оценки риска смерти у пациентов с имплантированным кардиовертером-дефибриллятором в группе внешней валидации

Критерий согласия Хосмера – Лемешова для данной прогностической модели составил: $\chi^2 = 4,210$; $p = 0,838$. При проведении ROC-анализа площадь под ROC-кривой (AUC) созданной модели составила 0,8, что свидетельствует о высокой прогностической способности. Чувствительность модели равна 76,2%; специфичность – 76,1%. Все приведенные показатели подтверждают высокую валидность модели.

Диагностическая значимость модели в группах разработки и внешней валидации существенно не отличалась ($p = 0,102$, тест McNeil).

Таблица 4

Классификации				
Наблюдаемые		Предсказанные		
		Смерть		Доля правильных, %
		0	1	
Смерть	0	143	45	76,1
	1	15	48	76,2
Общая процентная доля		–	–	76,1

Значение отсечения – 0,280.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в настоящем исследовании, подтверждают тот факт, что пациенты с низкой ФВ ЛЖ, в том числе и при наличии ИКД, чаще всего умирают по причине ОДСН [8]. В настоящее время много внимания уделяется проблеме остаточной высокой смерти у пациентов с ИКД и поиску предикторов для выделения групп высокого риска неблагоприятного исхода среди пациентов с уже имеющимся ИКД [9–12]. В этой связи особую актуальность при применении ИКД приобретает возможность прогнозирования индивидуального риска смерти, в чем может помочь разработка прогностических моделей для применения в клинической практике.

Для клинической стратификации выгоды ИКД-терапии ранее была предложена шкала MADIT-II risk score, которая включает восемь предикторов развития ЖНР (мужской пол, возраст менее 75 лет, неустойчивая желудочковая тахикардия в анамнезе, частота сердечных сокращений более 75 уд/мин, систолическое артериальное давление менее 140 мм рт. ст., ФВ ЛЖ $\leq 25\%$, инфаркт миокарда в анамнезе и предсердная аритмия) и семь предикторов

неаритмической смертности (возраст 75 лет и более, сахарный диабет, индекс массы тела более 23 кг/м², ФВ ЛЖ $\leq 25\%$, класс по NYHA $\geq$ II, ИКД вместо кардиоресинхронизирующей терапии, фибрилляция предсердий, уровень мозгового натрийуретического пептида и продолжительность комплекса QRS) [13]. На основании совокупного анализа этих предикторов была разработана прогностическая модель для индивидуальной оценки риска развития ЖНР по сравнению с неаритмической смертью. Однако эта шкала была разработана на основе данных исследований более чем 20-летней давности, ее применение возможно только у пациентов с ишемической кардиомиопатией, шкала не валидизирована на российской популяции.

В отношении применения ИКД исследования в основном нацелены на определение риска развития ЖНР и неадекватных шоков у пациентов с ХСН. Одно из немногих исследований по изучению предикторов смертности у пациентов с ИКД – исследование PROSe-ICD (Prospective Observational Study of Implantable Cardioverter Defibrillators), включавшее 1 189 пациентов с систолической ХСН, которым для первичной профилактики ВСС был установлен ИКД. В течение четырехлетнего периода наблюдения умерли 343 (28,8%) пациента, а адекватные срабатывания ИКД имели место у 137 (11,5%) пациентов. Было показано, что повышение уровня С-реактивного белка, фактора некроза опухоли альфа, мозгового натрийуретического пептида, тропонина Т и интерлейкина-6 повышали риск смерти ($p < 0,001$ для всех показателей) [14]. Метод полностью основан на определении биохимических маркеров, большинство из которых рутинно не применяется в реальной клинической практике. Кроме того, этот метод также не валидизирован на российской популяции.

Известные шкалы SHFM (Seattle Heart Failure Model), используемая для оценки продолжительности жизни пациентов с ХСН на амбулаторном этапе, и шкала риска MAGGIC (Meta-Analysis Global Group in Chronic Heart Failure) также основаны на результатах достаточно давних исследований, не учитывают коморбидную патологию, не могут применяться на стационарном этапе и использоваться для оценки рисков у пациентов с имплантированными устройствами, в частности с ИКД [15, 16].

В исследовании T.E. Verstraelen с соав. (2021) по разработке и внешней валидации модели прогнозирования смертности в группе с ИКД для первичной профилактики ВСС в течение 2,7 лет наблюдения 193 (13,4%) умерли в группе разработки и 223 (15,4%) – в группе валидации, что существенно отличается от российской популяции [10]. Предикторами смертно-

сти от всех причин были возраст, прием диуретиков, уровень натрия и мозгового натрийуретического пептида, прием блокатора РААС. С-статистика составила 0,74 как при внешней, так и при внутренней валидации. Российские исследователи также активно работают над возможностью прогнозирования исходов у пациентов с ХСН, однако практически все предложенные способы включают необходимость определения либо генетических маркеров, либо сложных биохимических показателей, что ограничивает применение данных методов областью теории, а также не включают пациентов с ИКД-терапией [17].

Таким образом, в настоящее время не существует адекватных способов оценки риска неаритмической смерти в отдаленном периоде после имплантации ИКД при наличии ХСН с низкой ФВ ЛЖ, подходящего для применения в российской клинической практике. Предложенная и валидизированная на внешней выборке модель оценки риска неаритмической смерти у пациентов с имплантированным ИКД отличается от существующих тем, что при определении прогноза учитывается наличие обоих факторов (ХСН с низкой ФВ ЛЖ и ИКД), коморбидность и приверженность к оптимальной медикаментозной терапии, которая для российской популяции также явилась важным прогностическим фактором.

Применение прогностической модели основано на определении рутинных показателей, входящих в стандарт обследования пациента с ХСН, и не требует дополнительных экономических затрат. Важно, что данная прогностическая модель может и должна применяться до имплантации ИКД и направлена на выявление тех пациентов, у которых имплантация ИКД не способна существенно улучшить отдаленный прогноз из-за высокого риска внезапной смерти. В целом прогностическая ценность исследуемой модели, оцененная на материале независимой выборки, оказалась сопоставимой с результатами внутренней валидации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленная многофакторная модель обладает достаточной статистической мощностью для прогнозирования риска смерти в отдаленном периоде у пациентов с ИКД, что было подтверждено внешней валидацией. Вместе с тем стратификация риска по-прежнему остается сложной задачей, и на основании проведенного исследования нельзя говорить о выделении группы с недостаточной пользой от имплантации ИКД. Однако использование представленной модели прогнозирования может иметь клиническую ценность, определяя сценарии, при которых имплантация ИКД может быть отложена.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Терещенко С.Н., Галаявич А.С., Ускач Т.М. Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25(11):311–374. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-4083.
2. Wellens H.J., Schwartz P.J., Lindemans F.W., Buxton A.E., Goldberger J.J., Hohnloser S.H. et al. Risk stratification for sudden cardiac death: current status and challenges for the future. *Eur. Heart J.* 2014;35(25):1642–1651. DOI: 10.1093/eurheartj/ehu176.
3. Ревиншвили А.Ш., Неминуций Н.М., Голицын С.П. Всероссийские клинические рекомендации по контролю над риском внезапной остановки сердца и внезапной сердечной смерти, профилактике и оказанию первой помощи. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018:256.
4. Богачевская С.А., Богачевский А.Н. Развитие хирургической и интервенционной аритмологии в России за 10 лет. Особенности функционирования службы в Дальневосточном регионе. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2017;1(53):2. DOI: 10.21045/2071-5021-2017-53-1-1.
5. Виноградова Н.Г., Поляков Д.С., Фомин И.В. Анализ смертности у пациентов с ХСН после декомпенсации при длительном наблюдении в условиях специализированной медицинской помощи и в реальной клинической практике. *Кардиология*. 2020;60(4):91–100. DOI: 10.18087/cardio.2020.4.n1014.
6. Adibi A., Sadatsafavi M., John P.A., Ioannidis J.P.A. Validation and utility testing of clinical prediction models time to change the approach. *JAMA*. 2020;324(3):235–236. DOI: 10.1001/jama.2020.1230
7. Boriani G., De Ponti R., Guerra F., Palmisano P., Zanutto G., D’Onofrio A. et al. Sinergy between drugs and devices in the fight against sudden cardiac death and heart failure. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2021;28(1):110–123. DOI: 10.1093/eurjpc/zwaa015.
8. Looi K.L., Sidhu K., Cooper L., Dawson L., Slipper D., Gavin A. et al. Long-term outcomes of heart failure patients who received primary prevention implantable cardioverter-defibrillator: An observational study. *J. Arrhythm.* 2017;34(1):46–54. DOI: 10.1002/joa3.12027.
9. Piccini J.P., Zhang M., Pieper K., Solomon S.D., Al-Khatib S.M., Van de Werf F. et al. Predictors of sudden cardiac death change with time after myocardial infarction: results from the VAL-IANT trial. *Eur. Heart J.* 2010;31(2):211–221. DOI: 10.1093/eurheartj/ehp425.
10. Verstraeten T.E., van Barneveld M., van Dessel P.H.F.M., Boersma L.V.A., Delnoy P.P.H.M., Tuinenburg A.E. et al. Development and external validation of prediction models to predict implantable cardioverter-defibrillator efficacy in primary prevention of sudden cardiac death. *Europace*. 2021;23(6):887–897. DOI: 10.1093/europace/euab012.
11. Илов Н.Н., Пальникова О.В., Нечепуренко А.А. Пациенты с высоким риском внезапной сердечной смерти: жизнь после имплантации кардиовертера-дефибриллятора (одноцентровое наблюдательное исследование). *Клиническая и экспериментальная хирургия*. 2018;6(3):98–106. DOI: 10.24411/2308-1198-2018-13011.
12. Younis A., Goldberger J.J., Kutyla V., Zareba W., Polonsky B., Klein H. et al. Predicted benefit of an implantable cardioverter-defibrillator: the MADIT-ICD benefit score. *Eur. Heart J.* 2021;42(17):1676–1684. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa1057.
13. Naksuk N., Akkaya M., Adabag S. Application of the Multi-center Automatic Defibrillator Implantation Trial II risk score in a nontrial setting. *Am. J. Cardiol.* 2013;112(4):530–532. DOI: 10.1016/j.amjcard.2013.04.019.
14. Cheng A., Zhang Y., Blasco-Colmenares E., Dalal D., Butcher B., Norgard S. et al. Protein Biomarkers Identify Patients Unlikely to Benefit from Primary Prevention ICDs: Findings from the PROSE-ICD Study. *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* 2014;7(6):1084–1091. DOI: 10.1161/CIRCEP.113.001705.
15. Levy W.C., Mozaffarian D., Linker D.T., Sutradhar S.C., Anker S.D., Cropp A.B. et al. The Seattle Heart Failure Model: prediction of survival in heart failure. *Circulation*. 2006;113(11):1424–1433. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.584102.
16. Khanam S.S., Choi E., Son J.W., Lee J.W., Youn Y.J., Yoon J. et al. Validation of the MAGGIC (Meta-Analysis Global Group in Chronic Heart Failure) heart failure risk score and the effect of adding natriuretic peptide for predicting mortality after discharge in hospitalized patients with heart failure. *PLoS One*. 2018;13(11):e0206380. DOI: 10.1371/journal.pone.0206380.
17. Хазова Е.В., Булашова О.В., Малкова М.И., Ослопов В.Н. Новый подход к прогнозированию исходов хронической сердечной недостаточности. *Практическая медицина*. 2014;6(14):101–104.

Вклад авторов

Лебедева Н.Б. разработала концепцию и дизайн исследования, внесла вклад в анализ, интерпретацию и обобщение полученных данных, одобрила первоначальную версию статьи.

Парфенов П.Г. внес существенный вклад в ведение регистра, получение данных, их анализ и интерпретацию, литературный поиск. Эгле А.П. осуществлял ведение регистра, проведение статистического анализа, интерпретацию полученных данных. Галинцев Ю.В. осуществлял ведение регистра, проведение проспективного этапа наблюдения группы внешней валидации. Иванов В.И. проводил статистический анализ, разработал прогностическую модель и калькулятор расчета риска. Кашталап В.В. провел проверку критически важного интеллектуального содержания. Барбараш О.Л. принадлежит идея исследования, правка и утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и несут ответственность за все аспекты работы.

Информация об авторах

Лебедева Наталия Борисовна – д-р мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, лаборатория реабилитации, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, lebenb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2769-3807>

Парфенов Павел Геннадьевич – мл. науч. сотрудник, лаборатория фиброэирования миокарда, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, Pavel90548bars@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0019-766X>

Егле Альберт Павлович – ординатор, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, albert_egle@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-2547-0782>

Иванов Вадим Иванович – канд. биол. наук, доцент, кафедра нормальной физиологии им. профессора Н.А. Барбараш, КемГМУ, г. Кемерово, trampviy@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2383-9768>

Галинцев Юрий Вячеславович – студент 6-го курса, лечебный факультет, КемГМУ, г. Кемерово, galinzev@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-5244-7245>

Кашталап Василий Васильевич – д-р мед. наук, доцент, зав. отделом клинической кардиологии, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, v_kash@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3729-616X>

Барбараш Ольга Леонидовна – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НИИ КПССЗ, г. Кемерово, olb61@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4642-3610>

(✉) **Лебедева Наталия Борисовна**, lebenb@mail.ru

Поступила в редакцию 15.12.2023;
одобрена после рецензирования 26.02.2024;
принята к публикации 06.02.2024

УДК 616.124.2-071.1

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-83-90>

Клинико-анамнестические особенности пациентов в зависимости от величины фракции выброса левого желудочка: результаты регистрового исследования

Парфёнов П.Г., Юркина А.В., Голубовская Д.П., Шустер С.Ю., Дрень Е.В., Гусельникова Ю.И., Лебедева Н.Б., Печерина Т.Б.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ)
Россия, 650000, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить клинико-анамнестические особенности пациентов, наблюдающихся в центре хронической сердечной недостаточности на базе регионального сосудистого центра по данным соответствующего регистра.

Материалы и методы. В настоящее исследование вошли данные 802 пациентов из Кузбасского регистра пациентов, наблюдающихся в центре помощи больным с хронической сердечной недостаточностью, включенных за период с 2020 по 2022 г. Средний срок наблюдения составил $1,6 \pm 0,7$ лет.

Результаты. По данным настоящего регистра, в гендерной структуре пациентов с хронической сердечной недостаточностью преобладали мужчины – 612 (76,3%) ($p < 0,001$). Наибольшую группу исследуемых составляли пациенты с низкой фракцией выброса левого желудочка (менее 40%) – 546 человек. Данная категория была и более тяжелой по функциональному классу хронической сердечной недостаточности (New York Heart Association), преобладали больные с функциональным классом III–IV ($p < 0,001$).

При анализе коморбидной патологии выявлено, что наиболее распространенными являлись: хроническая болезнь почек (скорость клубочковой фильтрации по CKD-EPI менее 60 мл/мин/1,73 м²) – 614 (76,5%) человек и ожирение (индекс массы тела более 30 кг/м²) – 334 (41,6%) пациента. Сахарный диабет 2-го типа был зарегистрирован у 193 (24%) пациентов. Анализ этиологии хронической сердечной недостаточности показал, что основными причинами сердечной недостаточности в группах низкой и промежуточной фракций выброса являлись ишемическая болезнь сердца и комбинированные причины, в группе с сохранной фракцией выброса – ишемическая болезнь сердца и аритмогенная причины.

Заключение. Таким образом, оценивая клинико-анамнестические особенности пациентов с сердечной недостаточностью, можно говорить о том, что это лица преимущественно мужского пола, пенсионного возраста, с ишемической болезнью сердца и низкой фракцией выброса левого желудочка, а также имеющие коморбидную патологию, преимущественно хроническую болезнь почек, сахарный диабет и ожирение.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, кардиология, фракция выброса левого желудочка

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 подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ.

Для цитирования: Парфёнов П.Г., Юркина А.В., Голубовская Д.П., Шустер С.Ю., Дрень Е.В., Гусельникова Ю.И., Лебедева Н.Б., Печерина Т.Б. Клинико-анамнестические особенности пациентов в зависимости от величины фракции выброса левого желудочка: результаты регистрового исследования. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):83–90. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-83-90>.

Clinical and anamnestic characteristics of patients depending on left ventricular ejection fraction: results of a register study

Parfenov P.G., Yurkina A.V., Golubovskaya D.P., Shuster S.Y., Dren E.V., Guselnikova Y.I., Lebedeva N.B., Pecherina T.B.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases
6, Sosnovy Blvd., Kemerovo, 650000, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the clinical and anamnestic features of patients followed up in the Center for Chronic Heart Failure at the Regional Vascular Center according to the data of the corresponding register.

Materials and methods. The study included data of 802 patients included in the Kuzbass Register of Patients Followed up at the Center for Chronic Heart Failure from 2020 to 2022. The median follow-up was 1.6 ± 0.7 years.

Results. According to the present register, men dominated in the gender profile of patients with chronic heart failure – 612 (76.3%) participants ($p < 0.001$). The largest group of subjects was represented by patients with a low left ventricular ejection fraction (less than 40%) – 546 people. This category was also characterized by a more severe functional class of chronic heart failure (New York Heart Association); patients with functional class III–IV chronic heart failure prevailed ($p < 0.001$).

The most common comorbidities revealed were chronic kidney disease (glomerular filtration rate of less than 60 ml / min / 1.73 m² according to the CKD-EPI equation) – 614 (76.5%) patients and obesity (body mass index of more than 30 kg / m²) – 334 (41.6%) patients. Type 2 diabetes mellitus was reported in 193 (24%) patients. The analysis of the etiology of chronic heart failure showed that the main causes of heart failure in the groups with low and intermediate left ventricular ejection fraction were coronary heart disease and combined causes, whereas in the group with preserved left ventricular ejection fraction, the disease resulted from coronary heart disease and arrhythmogenic causes.

Conclusion. Assessing the clinical and anamnestic features of patients with heart failure, it can be said that these people are mainly male, retired, with coronary heart disease, low left ventricular ejection fraction, and a comorbidity, mainly chronic kidney disease, diabetes mellitus, and obesity.

Keywords: chronic heart failure, coronary heart disease, cardiology, left ventricular ejection fraction

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases.

For citation: Parfenov P.G., Yurkina A.V., Golubovskaya D.P., Shuster S.Y., Dren E.V., Guselnikova Y.I., Lebedeva N.B., Pecherina T.B. Clinical and anamnestic characteristics of patients depending on left ventricular ejection fraction: results of a register study. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):83–90. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-83-90>.

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос снижения смертности при хронической сердечной недостаточности (ХСН) среди населения в настоящее время остается одним из наиболее важных и актуальных в рамках кардиологии и здра-

воохранения в целом. Пациенты с ХСН характеризуются прогрессирующим течением заболевания, что в конечном итоге приводит к многократным госпитализациям в связи с декомпенсацией ХСН, продолжительному медикаментозному и дорогостоящему хирургическому лечению, высокому уровню инва-

лидизации и смертности [1]. По различным оценкам, распространенность ХСН составляет примерно 1–2% среди общей популяции и неуклонно возрастает, достигая более 10% среди людей старше 70 лет [2].

Учитывая возрастающую численность лиц пожилого возраста и прогрессирующий рост сердечно-сосудистой патологии, также ежегодно увеличивается и распространенность ХСН [3]. В этой связи глобальной стратегической задачей является поиск способов выявления ХСН на более ранних стадиях заболевания, в том числе и за счет понимания клинико-анамнестических особенностей пациентов с ХСН [4]. Для решения данного вопроса в Европейской части Российской Федерации с 2002 по 2017 г. проводилось эпидемиологическое исследование «ЭПОХА-ХСН», результаты которого позволили оценить распространенность, уровень смертности, а также создать портрет пациента с ХСН [5].

В ходе эволюции знаний о патофизиологии хронической сердечной недостаточности на сегодняшний день доказано, что ХСН может развиваться не только при сниженной, но и при нормальной фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ). По данным проекта «ЭПОХА-ХСН» в Российской Федерации у 71% пациентов с ХСН уровень ФВ ЛЖ был более 60% [6]. Важной целью регистровых исследований также является создание эффективных методов контроля за амбулаторным этапом лечения, проведением медикаментозной терапии, физической и психологической реабилитации пациентов, разработка которых невозможна без знания особенностей когорты пациентов. В последние годы активно в поликлинических условиях создаются центры ХСН (ЦХСН), которые в ранее проведенных исследованиях доказали свою эффективность в виде снижения риска общей и сердечно-сосудистой смертности, снижение числа повторных госпитализаций [7]. Вместе с тем эффективность подобного подхода к ведению пациентов с ХСН нуждается в дополнительном изучении, в том числе с позиций разных фенотипов ХСН.

Целью настоящего исследования явилось изучение клинико-анамнестических особенностей пациентов, наблюдающихся в центре ХСН на базе регионального сосудистого центра по данным соответствующего регистра, в зависимости от фенотипа ХСН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на основе данных Кузбасского регистра пациентов, наблюдающихся в центре ХСН, в который последовательно включаются пациенты с ХСН после выписки из стационара ГБУЗ «Клинический кардиологический диспансер им. акад. Л.С. Барбараша» (г. Кемерово) или вновь

выявленные на амбулаторно-поликлиническом этапе при постановке на учет в центр ХСН. Дата начала работы регистра – 26.08.2020. Регистр проводится в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. При взятии на диспансерное наблюдение в центр ХСН все пациенты подписывают информированное согласие.

Регистр явился базой данных, на основе которой проведено проспективное когортное обсервационное исследование взрослых пациентов, единственный критерий включения – наблюдение в центре ХСН на базе поликлиники ГБУЗ КККД им. акад. Л.С. Барбараша. При ведении регистра соблюдаются все требования Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ «О персональных данных», во время анализа все данные пациентов маркировались и использовались в деперсонализированном виде.

Клинические данные вносятся в запатентованную электронную форму при включении в регистр и далее в динамике через определенные интервалы времени во время последующего наблюдения из историй болезни и амбулаторных карт. Базовые сведения о пациентах включают демографические данные, социальное положение, анамнез основного заболевания, сопутствующие заболевания, показатели жизненно важных функций, клинико-инструментальные и лабораторные показатели, дозы сердечно-сосудистых препаратов, дневники наблюдения. Исходные социально-демографические данные предоставляются пациентами самостоятельно. Для вновь включенных пациентов в течение первых 3 мес проводятся ежемесячные контрольные точки наблюдения в виде дистанционных телефонных звонков медицинской сестрой с заполнением дневников наблюдения, при необходимости – очных посещений центра ХСН с осмотром кардиолога, далее осмотры проводятся каждый триместр.

В настоящее исследование вошли данные 802 пациентов из регистра центра ХСН, включенных за период с 2020 по 2022 г. Средний срок наблюдения составил $1,6 \pm 0,7$ лет.

Статистический анализ проводился с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, США) и SPSS 11. Нормальность распределения оценивалась с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Количественные данные представлены в виде среднего значения и среднеквадратичного отклонения $M \pm \sigma$. Сравнение между собой непрерывных

величин с нормальным распределением осуществлялось с помощью *t*-теста Стьюдента. Для сравнения непрерывных величин при распределении, отличающегося от нормального, использовался непараметрический критерий Манна – Уитни (*U*-критерий). Для сравнения трех и более количественных величин проводился ранговый анализ критериев по Краскелу – Уоллису с последующим парным сравнением групп по тесту Манна – Уитни с поправкой Бонферрони для оценки значения *p*. Сравнение дискретных величин проводилось с использованием критерия χ^2 с поправкой на непрерывность по Йетсу. При малом количестве в одной из сравниваемых групп использовался двусторонний критерий Фишера (*F*-критерий). Различия считались статистически достоверными при значениях двустороннего $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным настоящего регистра, в гендерной структуре пациентов с ХСН преобладали мужчины – 612 (76,3%), женщин – 190 (23,7%), $p < 0,001$. Средний возраст исследуемых составил $63,5 \pm 11,2$ года, при этом мужчины были моложе женщин: $62 \pm 10,9$ года и $67,5 \pm 11,8$ лет соответственно, $p < 0,05$. При анализе места жительства было показано, что 626 (78,1%) больных являлись городскими жителями, а 176 (21,9%) – сельскими. Распределение пациентов с подтвержденным диагнозом ХСН по полу и возрасту показано на рис. 1.

По результатам эхокардиографии средняя ФВ ЛЖ по Симпсону в общей группе пациентов составила $37 \pm 15,4\%$. Преобладали пациенты с ФВ ЛЖ менее 40% (рис. 2).

Распределение пациентов по стадиям и тяжести клинических проявлений ХСН (функциональному классу по NYHA) в зависимости от величины ФВ ЛЖ представлены в табл. 1. Наибольшую группу исследуемых составляли пациенты с низкой ФВ ЛЖ

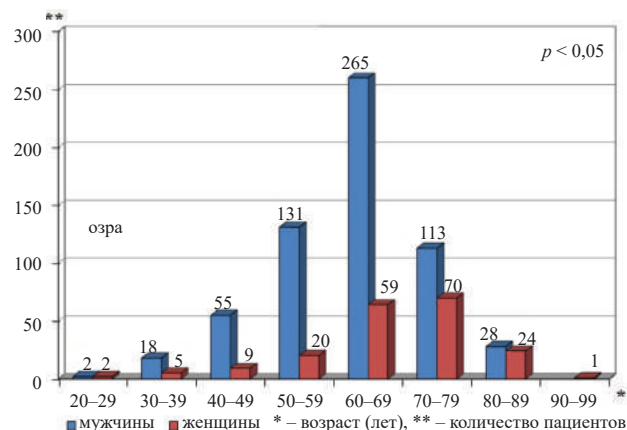


Рис. 1. Половозрастная характеристика пациентов с ХСН

(менее 40%) – 546 человек, данная категория была и более тяжелой по функциональному классу ХСН (NYHA), преобладали больные с функциональным классом III–IV, $p < 0,001$.

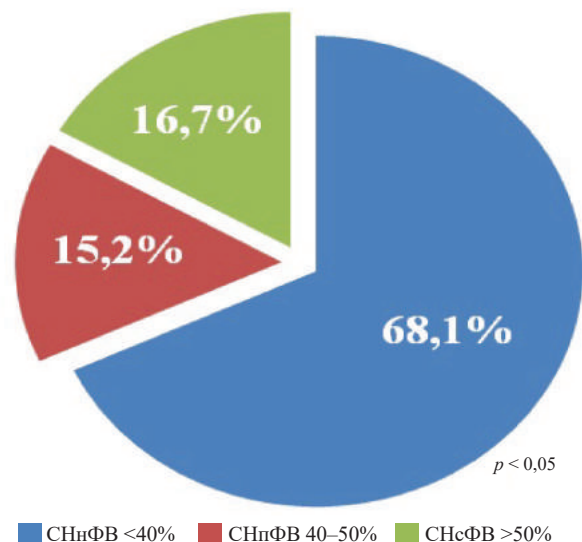


Рис. 2. Распределение пациентов в зависимости от величины фракции выброса левого желудочка: СНнФВ – сердечная недостаточность с низкой фракцией выброса, СНпФВ – сердечная недостаточность с промежуточной фракцией выброса, СНсФВ – сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса, *n* – количество пациентов, *p* – уровень значимости

Таблица 1

Стадии и функциональный класс (NYHA) хронической сердечной недостаточности в зависимости от фенотипа, <i>n</i> (%)				
Показатель	СНнФВ (менее 40%), <i>n</i> = 546 (%)	СНпФВ (40–49%), <i>n</i> = 122 (%)	СНсФВ (50% и более), <i>n</i> = 134 (%)	χ^2 ; <i>p</i>
Стадия по Стражеско – Василенко				
ХСН I	5 (0,9)	18 (14,7)	74 (55,2)	299,431; <0,001
ХСН IIА	359 (65,8)	69 (56,5)	43 (32,1)	50,578; <0,001
ХСН IIБ	182 (33,3)	35 (28,7)	17 (12,7)	22,213; <0,001
Функциональный класс по NYHA				
NYHA I	–	–	5 (3,7)	25,082; <0,001
NYHA II	59 (10,8)	33 (27,0)	106 (79,1)	270,366; <0,001
NYHA III	379 (69,4)	39 (32,0)	19 (14,2)	161,800; <0,001
NYHA IV	108 (19,8)	50 (41,0)	4 (3,0)	57,389; <0,001

Были выявлены особенности гендерного распределения в зависимости от фенотипа СН. Так, в группе с низкой ФВ ЛЖ преобладали пациенты мужского

го пола, в группах с промежуточной и сохраненной ФВ ЛЖ было больше женщин.

При анализе коморбидной патологии у исследуемых пациентов выявлено, что наиболее распространенными являлись: хроническая болезнь почек (СКФ по СКД-EP1 менее 60 мл/мин/1,73 м²) – 614 (76,5%) человек и ожирение (ИМТ более 30 кг/м²) – 34 (41,6%) пациента. Сахарный диабет 2-го типа был зарегистрирован у 193 (24%) пациентов.

При анализе зависимости коморбидного фона от фенотипа ХСН показано, что у пациентов с низкой ФВ ЛЖ преобладала хроническая болезнь почек, им ожидаемо чаще имплантировались ИКД. У пациентов с сохраненной ФВ ЛЖ чаще встречались СД и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), а в группе с промежуточной ФВ ЛЖ – перенесенные острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) и анемия (табл. 2).

Таблица 2

Анамнестический фон у пациентов с ХСН в зависимости от фенотипа, n (%)				
Показатель	СНнФВ (менее 40%), n = 546	СНпФВ (40–49%), n = 122	СНсФВ (50% и более), n = 134	χ^2 ; p
Мужчины	459 (84,0)	84 (68,8)	69 (51,5)	67,573; <0,001
Сахарный диабет 2-го типа	112 (20,5)	39 (32,0)	42 (31,3)	8,806; 0,013
Ожирение	223 (40,8)	62 (50,8)	49 (36,5)	5,792; 0,056
Перенесенное ОНМК	74 (13,5)	31 (25,4)	24 (17,9)	10,783; 0,05
ХОБЛ	18 (3,3)	5 (4,1)	12 (8,9)	8,279; 0,016
Хроническая болезнь почек (≥СЗА)	482 (88,2)	60 (49,1)	72 (53,7)	131,652; <0,001
Анемия	42 (7,6)	31 (25,4)	10 (7,4)	35,183; <0,001
Имплантированный КДФ	69 (12,6)	7 (5,7)	2 (1,5)	17,828; <0,001

Примечание. КДФ – кардиовертер-дефибриллятор.

Изучение этиологических причин ХСН показало, что более чем у половины пациентов – 452 (56,3%) – была диагностирована ишемическая болезнь сердца (ИБС). Следует отметить, что в настоящем исследовании все пациенты с ИБС имели артериальную гипертензию, в связи с чем данные патологии рассматривались совместно и не относились к группе

«две причины и более». Среди пациентов с ИБС 387 (85,6%) перенесли инфаркт миокарда (ИМ), у 65 (14,4%) диагностирована ишемическая кардиомиопатия. Только у четырех (0,5%) больных причиной развития ХСН являлась «изолированная» гипертоническая болезнь. Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) явилась причиной ХСН у 70 (8,7%) пациентов, фибрилляция или трепетание предсердий – у 36 (4,5%), перенесенный миокардит – у 13 (1,6%), пороки клапанов – у 8 (1,0%) пациентов. Практически у каждого четвертого пациента – 219 (27,4%) – причиной ХСН являлось сочетание двух и более патологий. При этом наиболее часто в данной категории встречалось сочетание ИБС (стенокардии и(или) постинфарктного кардиосклероза) и персистирующей или постоянной форм фибрилляции предсердий у 182 (83,1%) больных (табл. 3).

Анализ этиологии ХСН в зависимости от фенотипа показал, что основными причинами сердечной недостаточности в группах низкой и промежуточной фракций выброса являлись ИБС и комбинированные причины, в группе с сохраненной фракцией выброса – ИБС и аритмогенная причина.

Таблица 3

Этиологическая причина ХСН в зависимости от фенотипа, n (%)				
Показатель	СНнФВ (менее 40%), n = 546	СНпФВ (40–49%), n = 122	СНсФВ (50% и более), n = 134	χ^2 ; p
ИБС	315 (57,7)	44 (36,1)	93 (69,4)	30,092; <0,001
ПИКС, n (% от ИБС)	297 (94,3)	37 (84,1)	53 (57,0)	28,012; <0,001
ИК, n (% от ИБС)	18 (5,7)	7 (15,9)	40 (43,0)	102,946; <0,001
Аритмогенная	17 (3,1)	5 (4,1)	14 (10,4)	13,550; 0,002
ДКМП	39 (7,1)	23 (18,9)	8 (6,0)	18,699; <0,001
Пороки клапанов	5 (0,9)	3 (2,5)	–	4,026; 0,134
Постмиокардитическая	7 (1,3)	4 (3,2)	2 (1,5)	2,510; 0,26
Гипертоническая	–	–	4 (3,0)	20,040; <0,001
Две причины и более	163 (29,9)	43 (35,2)	13 (9,7)	26,581; <0,001

Примечание. ПИКС – постинфарктный кардиосклероз, ИК – ишемическая кардиомиопатия, ДКМП – дилатационная кардиомиопатия.

Динамика медикаментозной терапии, получаемой пациентами до наблюдения в центре ХСН и после начала наблюдения, представлена в табл. 4.

Таблица 4

Частота назначения медикаментозной терапии, <i>n</i> (%)			
Показатель	Медикаментозная терапия до наблюдения в центре ХСН, <i>n</i> = 802	Медикаментозная терапия во время наблюдения в центре ХСН, <i>n</i> = 802	χ^2 ; <i>p</i>
иАПФ	459 (57,2)	573 (71,4)	35,313; <0,001
АРА	79 (9,8)	98 (12,2)	2,293; 0,130
АРНИ	30 (3,7)	124 (15,4)	63,470; <0,001
БАБ	652 (81,3)	706 (88,0)	14,001; <0,001
Статины	586 (73,1)	654 (81,5)	16,432; <0,001
АМКР	468 (58,4)	493 (61,4)	1,622; 0,203
Диуретики	540 (67,3)	681 (84,9)	68,191; <0,001
Антиаритмики	139 (17,3)	172 (21,4)	4,344; 0,038
Дезагреганты	406 (50,6)	504 (62,8)	24,391; <0,001
ОАК	117 (14,6)	166 (20,6)	10,302; 0,002
АК	290 (36,2)	361 (45,0)	13,033; <0,001
ИНГТ2	64 (7,9)	417 (52,0)	370,023; <0,001

Примечание. иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина, АРНИ – ангиотензиновых рецепторов и неприлизина ингибиторы, БАБ – β -адреноблокаторы, АМКР – антагонисты минералокортикоидных рецепторов, ОАК – оральные антикоагулянты, АК – антагонисты кальция, ИНГТ2 – ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа.

До обращения в центр ХСН лишь 30% пациентов наблюдались у кардиолога. На оптимальной медикаментозной терапии, подразумевающей одновременный прием блокаторов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РАСС), БАБ и АМКР, находились пациенты с СНнФВ (не более 46%), и только в 3% случаев проводилась титрация доз до целевых. Как видно из табл. 4, наблюдение в центре ХСН привело к повышению приверженности к приему блокаторов РАСС, ИНГТ2, диуретиков, антиаритмиков и оральных антикоагулянтов. Однако по-прежнему недовольствительное количество пациентов были привержены к оптимальной медикаментозной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе анализа полученных данных было выявлено, что пациенты мужского пола являются преобладающей группой среди пациентов с ХСН, их соотношение с женщинами практически равно 3 : 1. Однако по результатам регистра «ЭПОХА-ХСН», женщин, участвующих в исследовании, было достоверно больше, чем мужчин – 56,8 и 43,2% соответственно, $p = 0,001$ [6]. Поэтому вопрос гендерного распределения в структуре хронической сердечной недостаточности остается открытым. Так, в ряде исследований ученые пытались ответить на вопрос, связано ли гендерное неравенство только с реальным преобладанием пациентов мужского пола или есть другие причины

данного явления [8–10]. Отмечается, что меньшее количество женщин может быть обусловлено преобладанием женского пола в когорте пациентов ХСН с сохранной фракцией выброса и лучшей субъективной и клинической переносимостью ХСН, а также с низкой обращаемостью за медицинской помощью и низкой выявляемостью ХСН [11].

Полученные в настоящем исследовании данные отчасти подтверждают эту теорию. Так, в группе с СНнФВ преобладали мужчины, а в группе с СНсФВ – женщины. Анализ возрастных особенностей ожидаемо показал, что число пациентов с ХСН закономерно увеличивается с возрастом, достигая максимального количества в возрастной группе 60–69 лет ($p < 0,05$). После 69 лет регистрируется резкое сокращение количества мужской части пациентов, что связано с естественной убылью населения. Со стороны пациентов женского пола данная тенденция наблюдается, только начиная с 80 лет (за счет большей продолжительности жизни). Ранняя заболеваемость ХСН у мужчин объясняется манифестацией ИБС, как основной причины ХСН, в более молодом возрасте в сравнении с женщинами [12]. Таким образом, полученные данные еще раз подчеркивают важность мероприятий по первичной и вторичной профилактике ИБС, в том числе и с позиций снижения заболеваемости и смертности от ХСН.

Важным является тот факт, что около 70% пациентов с ХСН являются пожилыми людьми. Данная категория пациентов характеризуется наличием множественной коморбидной патологии, что существенно усугубляет течение ХСН и может являться противопоказанием к современным высокотехнологичным методам лечения, таким как имплантация устройств и трансплантация сердца [13–15].

При анализе места жительства было показано, что преобладающее большинство пациентов являлись городскими жителями. Разница в распределении исследуемых в группе проживания между городскими и сельскими или деревенскими жителями объясняется меньшей доступностью медицинской помощи для последних, существованием на некоторых территориях лишь фельдшерско-акушерских пунктов. Одним из путей решения данной проблемы может быть выездная работа кардиологических бригад, что проводится в Кузбассе.

Анализ распределения по фенотипам ХСН показал, что преобладающей группой ожидаемо явились пациенты с ХСН с низкой фракцией выброса. Это соответствует данным других исследований. Так, по разным источникам, в общей популяции больных ХСН распространенность СНнФВ составляет около 50%, с СНсФВ – 10–25% [16, 17]. Тяжелая ХСН III–

IV (по NYHA) в основном была представлена пациентами с СНнФВ и СНпФВ, а у пациентов с СНсФВ чаще выявлялась СН I–II (по NYHA). Полученные результаты показывают, что выявление лиц с СНсФВ остается актуальной проблемой. Известно, что длительно существующая СН без яркой клинической картины и отсутствием своевременно назначенного лечения может в долгосрочной перспективе оказывать более существенное негативное влияние на прогноз, чем своевременно выявленная СНнФВ [18–20].

Ишемическая болезнь сердца по-прежнему остается основной причиной развития ХСН, что подтверждается и в настоящем исследовании. Во многом именно за счет перенесенного ИМ и ишемической кардиомиопатии формируется группа пациентов с низкой ФВ ЛЖ [21–24]. Практически всегда (в 100% по данным настоящего исследования) ИБС сопровождается артериальной гипертензией, вклад которой в развитие ХСН не стоит недооценивать. В ходе анализа регистра отмечено, что сочетание этих заболеваний явилось этиологической причиной у преобладающей группы пациентов (56,3%). Это не расходится с результатами исследований в других странах. Так, в эпидемиологическом исследовании, проводимом в Республике Беларусь, было установлено, что ИБС в сочетании с артериальной гипертензией являлась причиной развития ХСН у 65,5% исследуемых [25]. Малое количество исследуемых пациентов в группе гипертонической этиологии ХСН, возможно, объясняется амбулаторным наблюдением данных пациентов силами терапевтических служб без постановки на учет диспансерного наблюдения центром ХСН.

Анализируя особенности медикаментозного лечения, стоит отметить положительную динамику после начала наблюдения в центре ХСН. Как показывают полученные результаты, одно из важных преимуществ наблюдения в центре ХСН – это повышение соответствия назначенной терапии существующим клиническим рекомендациям и приверженности пациентов. Выявление на основе данных регистра групп пациентов с СНнФВ, приверженных к оптимальной медикаментозной терапии, позволяет оптимизировать формирование листов ожидания на такие виды высокотехнологичной помощи, как имплантация кардиовертера-дефибриллятора и ортотопическая пересадка сердца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценивая клинико-анамнестические особенности пациентов с сердечной недостаточностью, наблюдающихся в кузбасском центре ХСН, можно говорить о том, что это лица преимущественно

мужского пола, пенсионного возраста, с ишемической болезнью сердца и низкой фракцией выброса левого желудочка, а также имеющие коморбидную патологию, преимущественно хроническую болезнь почек, сахарный диабет и ожирение. Такая когорта пациентов требует особой стратегии наблюдения и ведения, направленной на повышение приверженности, своевременную реваскуляризацию, социальную поддержку, динамическое дистанционное наблюдение и мультидисциплинарный подход.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ziaecian B., Fonarow G.C. Epidemiology and aetiology of heart failure. *Nat. Rev. Cardiol.* 2016;13(6):368–378. DOI: 10.1038/nrcardio.2016.25.
2. Kurmani S., Squire I. Acute Heart Failure: Definition, Classification and Epidemiology. *Curr. Heart Fail. Rep.* 2017;14(5):385–392. DOI: 10.1007/s11897-017-0351-y.
3. Подобед И.В., Прошаев К.И., Ахмедов Т.А., Рукавишников А.С., Коваленко О.Ю. Гериатрические аспекты течения хронической сердечной недостаточности. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики.* 2021;(1):303–325. DOI: 10.24411/2312-2935-2021-00022.
4. Nguyen Trung M.L., Ancion A., Lancellotti P. Vignette diagnostique de l'étudiant. Approche diagnostique clinique d'une insuffisance cardiaque. Clinical diagnostic approach for heart failure. *Rev. Med. Liege.* 2022;77(1):69–74. (In French).
5. Поляков Д.С., Фомин И.В., Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Артемьева Е.Г. и др. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что изменилось за 20 лет наблюдения? Результаты исследования ЭПОХА–ХСН. *Кардиология.* 2021;61(4):4–14. DOI: 10.18087/cardio.2021.4.n1628.
6. Фомин И.В. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что сегодня мы знаем и что должны делать. *Российский кардиологический журнал.* 2016;21(8):7–13. DOI: 10.15829/1560-4071-2016-8-7-13.
7. Виноградова Н.Г. Городской центр лечения хронической сердечной недостаточности: организация работы и эффективность лечения пациентов с хронической сердечной недостаточностью. *Кардиология.* 2019;59(2S):31–39. DOI: 10.18087/cardio.2621.
8. Lam C.S.P., Arnott C., Beale A.L., Chandramouli C., Hilfiker-Kleiner D., Kaye D.M. et al. Sex differences in heart failure. *Eur. Heart J.* 2019;40(47):3859–3868. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz835.
9. Savarese G., D'Amaro D. Sex differences in heart failure. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018;1065:529–544. DOI: 10.1007/978-3-319-77932-4_32.
10. Дадашова Г.М. Гендерные особенности хронической сердечной недостаточности. *Клиническая медицина.* 2015;93(1):71–75.
11. Morgan H., Sinha A., McEntegart M., Hardman S.M., Pereira D. Evaluation of the causes of sex disparity in heart failure trials. *Heart.* 2022;108(19):1547–1552. DOI: 10.1136/heartjnl-2021-320696.

12. Мышляева Т.О., Постникова С.Л., Кисляк О.А. Хроническая сердечная недостаточность у женщин. *Лечебное дело*. 2018;(2):59–64. DOI: 10.24411/2071-5315-2018-12003.
13. Crespo-Leiro M.G., Metra M., Lund L.H., Milicic D., Costanzo M.R., Filippatos G. et al. Advanced heart failure: a position statement of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur. J. Heart Fail.* 2018;20(11):1505–1535. DOI: 10.1002/ehf.1236.
14. Dharmarajan K., Rich M.W. Epidemiology, pathophysiology, and prognosis of heart failure in older adults. *Heart Fail. Clin.* 2017;13(3):417–426. DOI: 10.1016/j.hfc.2017.02.001.
15. Skrzypek A., Mostowik M., Szeliga M., Wilczyńska-Golonka M., Dębicka-Dąbrowska D., Nessler J. Chronic heart failure in the elderly: still a current medical problem. *Folia Med. Cracov.* 2018;58(4):47–56.
16. Savarese G., Stolfo D., Sinagra G., Lund L.H. Heart failure with mid-range or mildly reduced ejection fraction. *Nat. Rev. Cardiol.* 2022;19(2):100–116. DOI: 10.1038/s41569-021-00605-5.
17. Murphy S.P., Ibrahim N.E., Januzzi J.L. Jr. Heart Failure with Reduced Ejection Fraction: A Review. *JAMA*. 2020;324(5):488–504. DOI: 10.1001/jama.2020.10262.
18. Borlaug B.A. Evaluation and management of heart failure with preserved ejection fraction. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020;17(9):559–573. DOI: 10.1038/s41569-020-0363-2.
19. Obokata M., Reddy Y.N.V., Pislaru S.V., Melenovsky V., Borlaug B.A. Evidence supporting the existence of a distinct obese phenotype of heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation*. 2017;136(1):6–19. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.026807.
20. Faggiano P., Bernardi N., Calvi E., Bonelli A., Faggiano A., Bursi F. et al. Stage A heart failure: Modern strategies for an effective prevention. *Heart Fail. Clin.* 2021;17(2):167–177. DOI: 10.1016/j.hfc.2021.01.004.
21. Barnhouse K. Heart Failure: Heart failure with reduced ejection fraction. *FP Essent.* 2021;506:20–26.
22. Del Buono M.G., Moroni F., Montone R.A., Azzalini L., Sanna T., Abbate A. Ischemic cardiomyopathy and heart failure after acute myocardial infarction. *Curr. Cardiol. Rep.* 2022;24(10):1505–1515. DOI: 10.1007/s11886-022-01766-6.
23. Окунев И.М., Кочергина А.М., Кашталап В.В. Хроническая и острая декомпенсированная сердечная недостаточность: актуальные вопросы. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2022;11(2):184–195. DOI: 10.17802/2306-1278-2022-11-2-184-195.
24. Pecherina T., Kutikhin A., Kashtalap V., Karetnikova V., Gruzdeva O., Hryachkova O. et al. Serum and echocardiographic markers may synergistically predict adverse cardiac remodeling after ST-segment elevation myocardial infarction in patients with preserved ejection fraction. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(5):301. DOI: 10.3390/diagnostics10050301.
25. Зотова О.В., Денисевич Т.Л., Курлянская Е.К., Ревтович О.П. Эпидемиология хронической сердечной недостаточности в городе Минске. *Евразийский кардиологический журнал*. 2016;(3):182–183.

Вклад авторов

Парфёнов П.Г. – разработка концепции и дизайна исследования, координация выполнения исследования, статистическая обработка данных, написание текста статьи. Юркина А.В., Голубовская Д.П., Шустер С.Ю., Дрень Е.В. – составление базы данных, статистическая обработка данных. Гусельникова Ю.И. – анализ литературы. Лебедева Н.Б., Печерина Т.Б. – разработка концепции и дизайна исследования, координация выполнения исследования, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи.

Информация об авторах

Парфёнов Павел Геннадьевич – мл. науч. сотрудник, лаборатория фиброгенеза миокарда, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, pavel90548bars@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0019-766X>

Юркина Анастасия Васильевна – мл. науч. сотрудник, лаборатория фиброгенеза миокарда, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, evteeva.anastasiya94@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0001-9761-9197>

Голубовская Дарья Петровна – младший научный сотрудник, лаборатория фиброгенеза миокарда, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, dasha250695k@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3922-009X>

Шустер Софья Юрьевна – лаборант-исследователь, лаборатория фиброгенеза миокарда, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, shustermid@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0002-8294-1826>

Дрень Елена Владимировна – лаборант-исследователь, лаборатория фиброгенеза миокарда, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, e.tolpekina.v@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5469-7638>

Гусельникова Юлия Игоревна – лаборант-исследователь, лаборатория фиброгенеза миокарда, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, guselnikova.2881@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6288-1267>

Лебедева Наталия Борисовна – д-р мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, лаборатория реабилитации, НИИ КПССЗ, г. Кемерово, lebenb@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2769-3807>

Печерина Тамара Борзалиевна – д-р мед. наук, доцент, зав. лабораторией фиброгенеза миокарда, д-р мед. наук, tb.pechorina@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-4771-484X>

(✉) Парфёнов Павел Геннадьевич, pavel90548bars@mail.ru

Поступила в редакцию 04.09.2023;
одобрена после рецензирования 15.11.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.127-005.8-036.11-036.88-037:616.132.2-089.86
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-91-100>

Применение индекса коморбидности Чарльсона для оценки прогноза 18-месячной смертности у пациентов с острым инфарктом миокарда

Хоанг Ч.Х.^{1,2}, Майсков В.В.^{3,4}, Мерай И.А.^{3,4}, Кобалава Ж.Д.³

¹ Медицинский университет Фам Нгок Тач, Хошимин, Вьетнам
Вьетнам, 72410, г. Хошимин, ул. Дуонг Куанг Трунг, 02

² Кардиологическая больница Там Дык
Вьетнам, 756335, г. Хошимин, ул. Дуонг Куанг Трунг, 04

³ Российский университет дружбы народов (РУДН)
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8

⁴ Городская клиническая больница (ГКБ) им. В.В. Виноградова
117292, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, 61

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить прогностическую способность индекса коморбидности Чарльсона (ИКЧ) для прогнозирования 18-месячной смертности пациентов с острым инфарктом миокарда (ИМ) с применением номограммы, разработанной на основе математического анализа.

Материалы и методы. В проспективное одноцентровое наблюдательное исследование были включены 712 последовательных пациентов с острым ИМ, которым выполняли коронарографию в течение 24 ч с момента госпитализации. Первичной конечной точкой исследования была принята смерть от всех причин в течение 18 мес наблюдения. Для выявления независимых прогностических факторов риска наступления смерти применялся логистический регрессионный анализ. На основе результатов многофакторного анализа была разработана номограмма для прогнозирования клинического исхода. Дискриминационная способность ИКЧ и номограммы была оценена с помощью логистической регрессии, в качестве инструмента оценки его диагностической способности применялся метод ROC-анализа (ROC-анализ).

Результаты. Среди пациентов доминировали мужчины (61%), медиана возраста составила 65 лет (интерквартильный размах [ИКР] 56–74 года). Медиана ИКЧ составила 4 (ИКР: 3–6) балла. Смертность в течение 18 мес составила 12,1%, с площадью под ROC-кривой для ИКЧ 0,797 (95%-й доверительный интервал [ДИ] 0,746–0,849; $p < 0,001$). Многофакторный анализ показал, что ИКЧ (отношение шансов [ОШ] 1,28; 95%-й ДИ 1,08–1,52; $p = 0,004$), возраст (ОШ 1,06; 95%-й ДИ 1,02–1,09; $p = 0,002$), трехсосудистое поражение коронарных артерий (ОШ 2,60; 95%-й ДИ 1,36–4,98; $p = 0,004$), включенные в номограмму, были независимыми предиктивными факторами неблагоприятного клинического исхода. Номограмма продемонстрировала хорошую дискриминационную способность прогнозирования 18-месячной смертности у пациентов с острым ИМ (площадь под ROC-кривой 0,819; 95%-й ДИ 0,767–0,870; $p < 0,001$; чувствительность 65,1%; специфичность 88,2%).

Заключение. ИКЧ независимо ассоциировался и умеренно предсказывал смертность в течение 18 мес у пациентов с острым ИМ. Предложенная номограмма облегчила раннюю идентификацию пациентов с высоким риском событий, что позволило внедрить более эффективные стратегии лечения и снизить смертность при остром ИМ.

Ключевые слова: индекс коморбидности Чарльсона, инфаркт миокарда, коморбидность, смертность, номограмма

✉ Хоанг Чыонг Хюй, truonghh@pnt.du.vn

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 комитетом по этике Медицинского института РУДН.

Для цитирования: Хоанг Ч.Х., Майсков В.В., Мерай И.А., Кобалава Ж.Д. Применение индекса коморбидности Чарльсона для оценки прогноза 18-месячной смертности у пациентов с острым инфарктом миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):91–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-91-100>.

Application of Charlson Comorbidity Index to assess prognosis of 18-month mortality in patients with acute myocardial infarction

Hoang T.H.^{1,2}, Maiskov V.V.^{3,4}, Merai I.A.^{3,4}, Kobalava Zh.D.³

Pham Ngoc Thach University of Medicine
02, Duong Quang Trung Str., Ho Chi Minh city, 72410, Vietnam

Tam Duc Heart Hospital
04, Nguyen Luong Bang Str., Ho Chi Minh City, 756335, VietNam

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

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

ABSTRACT

Aim. To evaluate the prognostic value of the Charlson Comorbidity Index (CCI) for predicting 18-month all-cause mortality and develop a nomogram for predicting 18-month mortality in acute myocardial infarction (MI) patients.

Materials and methods. The prospective, single-center, observational study included 712 consecutive patients with acute MI undergoing coronary angiography within 24 hours after hospitalization. The primary endpoint was 18-month all-cause mortality. The logistic regression analysis was adopted to identify independent prognostic factors. A nomogram for predicting the endpoint was developed using the multivariate analysis. The discriminative ability of the CCI and a nomogram were evaluated using the receiver-operating characteristic (ROC) curve analysis.

Results. Of the patients, 61% were male, median age was 65 years (interquartile range (IQR) was 56–74 years). Median CCI was 4 (IQR: 3–6) points. The mortality rate was 12.1% at 18 months with the area under the curve (AUC) of 0.797 for CCI (95% confidence interval (CI) 0.746–0.849; $p < 0.001$). The multivariate analysis revealed that CCI (odds ratio (OR) 1.28; 95% CI 1.08–1.52; $p = 0.004$), age (OR 1.06; 95% CI 1.02–1.09; $p = 0.002$), and three-vessel coronary artery disease (OR 2.60; 95% CI 1.36–4.98; $p = 0.004$), incorporated into the nomogram, were independent predictive factors of an adverse outcome. The nomogram showed good discrimination in predicting 18-month mortality in patients with acute MI (AUC = 0.819; 95% CI 0.767–0.870; $p < 0.001$; sensitivity 65.1%; specificity 88.2%).

Conclusion. CCI was independently associated with and moderately predicted 18-month mortality in patients with acute MI. The proposed nomogram facilitated early identification of high-risk patients, allowing for the implementation of more effective treatment strategies and reducing acute MI mortality.

Keywords: Charlson Comorbidity Index, comorbidity, mortality, myocardial infarction, nomogram

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at the Institute of Medicine of RUDN University.

For citation: Hoang T.H., Maiskov V.V., Merai I.A., Kobalava Zh.D. Application of Charlson Comorbidity Index to assess prognosis of 18-month mortality in patients with acute myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):91–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-91-100>.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются самой распространенной причиной смертности во всем мире, существенно влияют на утрату здоровья и приводят к избыточным затратам для здравоохранения [1, 2]. Острый инфаркт миокарда (ОИМ) представляет собой одну из самых частых причин смерти от ССЗ. Несмотря на улучшения диагностики, лечения и профилактики, ССЗ остаются основной причиной смерти в Европе, причем ишемическая болезнь сердца (ИБС) является наиболее частой причиной смерти от всех ССЗ [2]. Увеличение доли стареющего населения приводит к повышению распространения сопутствующих заболеваний, особенно среди больных ОИМ [3], и ассоциируется с повышенным риском смерти и будущих сердечно-сосудистых событий [4, 5]. Таким образом, определение ключевых факторов риска и внедрение соответствующих клинических рекомендаций может привести значительный вклад в спасение жизней людей с ОИМ с коморбидными состояниями.

Индекс коморбидности Чарльсона (ИКЧ) является маркером сопутствующих заболеваний, имеющих существенное влияние на неблагоприятные исходы у пациентов с ОИМ [6]. Несмотря на частое сочетание сопутствующей клинической патологии у пациентов с ОИМ, ее роль в степени влияния на долгосрочной прогноз больных, перенесших ОИМ, была изучена недостаточно.

Целью данного исследования – изучение прогностической способности ИКЧ для предсказания общей смертности на период 18-месячного наблюдения, а также разработка номограммы для прогнозирования отдаленной смертности у пациентов с ОИМ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было проведено проспективное одноцентровое наблюдательное исследование. В исследование вошли все последовательные пациенты старше 18 лет, поступившие с ОИМ в городскую клиническую больницу им. В.В. Виноградова (г. Москва, Россия) с января 2017 г. по декабрь 2018 г., которым выполнялась коронарография (КАГ) в течение 24 ч с момента поступления. Критериями исключения были

инфаркты миокарда (ИМ) третьего, четвертого и пятого типа. Диагноз ОИМ устанавливался на основе третьего универсального определения ИМ [7]. Все пациенты предоставили письменное информированное согласие. Исследование было утверждено местным этическим комитетом Института медицины Российского университета дружбы народов (РУДН) и проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией.

В настоящем наблюдательном исследовании изучались клинические характеристики, факторы сердечно-сосудистого риска, сопутствующие заболевания, результаты физикального обследования, анализы крови и данные инструментального обследования (электрокардиография, эхокардиография и КАГ). Уровень тропонина I измерялся с применением системы иммунного анализа Access 2 (Beckman Coulter, США), верхний предельный уровень для 99-го перцентиля составлял 0,02 нг/л. ИКЧ рассчитывался на основе базовых данных, суммированием всех баллов сопутствующих заболеваний (доступно онлайн) [8, 9]. Для стратификации риска у пациентов с ИМ использовалась шкала GRACE 2.0 (Global Registry of Acute Coronary Events GRACE) [10]. Анемия определялась как концентрация гемоглобина менее 120 г/л у мужчин или менее 130 г/л у женщин [11]. Многососудистое поражение коронарных артерий (КА) характеризовалось наличием сужения просвета на 70% и более по диаметру двух или более крупных эпикардальных артерий (диаметром не менее 2,5 мм), оцененного визуально при выполнении прямой цифровой полипроеекционной ангиографии [12].

В качестве первичной конечной точки была принята общая смертность от всех причин, как внутрибольничная, так и внегоспитальная, зафиксированная по электронным медицинским журналам пациентов и по данным телефонных контактов в течение 18 мес наблюдения.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 25.0) и программы R (версия 3.6.3). Количественные переменные представлены в виде средних значений и стандартного отклонения при нормальном распределении, или медианы (*Me*) и интеркварти-

тильного размаха (ИКР) для асимметричных переменных. Качественные переменные представлены в виде абсолютных значений и процентов. Сравнения категориальных переменных проводилось с использованием критерия χ^2 и точного критерия Фишера, а для непрерывных переменных с использованием непарного теста Стьюдента и U -критерия Манна – Уитни. Логистический регрессионный анализ использовался для выявления факторов, связанных с 18-месячной смертностью. Представлены показатели отношения шансов (ОШ) и 95%-го доверительного интервала (ДИ). На основе анализа факторов из многофакторной логистической модели строилась номограмма для оценки риска смерти в течение 18 мес (пакет «rms» в R). Для оценки дискриминирующей способности ИКЧ и номограммы относительно 18-месячной смертности использовался ROC-анализ (ROC-кривая). Для всех тестов был выбран двусторонний уровень значимости $p = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование включены 712 последовательных пациентов, из которых 434 пациента (61%) – мужчины. Медиана возраста пациентов составила 65 лет (ИКР: 56–74), при этом 47,8% больных были госпитализированы с подъемом сегмента ST. Доля пациентов в возрастных группах <44 лет, ≥ 45 и

<59 лет, ≥ 60 и <74 лет, ≥ 75 и <90 лет и ≥ 90 лет составила 8,84; 5,8; 28,1; 42,6; 23 и 0,6% соответственно. В течение всего периода наблюдения умерли 86 больных (12,1%).

Основные характеристики групп пациентов представлены в табл. 1. В группе умерших больных чаще встречались более пожилые пациенты, женщины, с острым коронарным синдромом (ОКС) с подъемом сегмента ST, артериальной гипертензией (АГ), ранее перенесенным ИМ, анамнезом сердечной недостаточности, ранее перенесенным цереброваскулярным событием (ЦВС), фибрилляцией предсердий, хронической болезни почек (ХБП), анемией, острой сердечной недостаточности (ОСН) Killip II–IV класса, трехсосудистым поражением КА, с более высокими баллами по шкалам ИКЧ и GRACE. Значения систолического артериального давления (АД), гемоглобина, креатинина и фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) были ниже в группе умерших пациентов. Группы достоверно не различались по частоте предыдущей хирургической реваскуляризации миокарда, заболеваний периферических артерий (ЗПА), хронических заболеваний легких (бронхиальная астма и (или) хроническая обструктивная болезнь легких), язвенной болезни желудка, значениях тропонина и частоте чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ).

Таблица 1

Основные характеристики 712 пациентов с инфарктом миокарда				
Показатель	Популяция пациентов, $n = 712$	Выжившие пациенты, $n = 626$	Умершие пациенты, $n = 86$	p
Возраст, годы, Me (ИКР)	65 (56; 74)	64 (55; 71,2)	76,5 (67,7; 83,2)	<0,001
Женщины, n (%)	278 (39)	227 (36,3)	51 (59,3)	<0,001
Подъем сегмента ST, n (%)	340 (47,8)	289 (46,2)	51 (59,3)	0,022
Артериальная гипертензия, n (%)	634 (89)	552 (88,2)	82 (95,3)	0,046
ИБС, n (%)	328 (46,1)	267 (42,7)	61 (70,9)	<0,001
Предшествующий ИМ, n (%)	155 (21,8)	125 (20)	30 (34,9)	0,003
Предшествующая реваскуляризация миокарда, n (%)	85 (11,9)	77 (12,3)	8 (9,3)	0,483
Предшествующая СН, n (%)	57 (8,0)	44 (7,0)	13 (15,1)	0,017
Сахарный диабет, n (%)	150 (21,1)	125 (20)	25 (29,1)	0,066
Предшествующий ЦВИ, n (%)	51 (7,2)	36 (5,8)	15 (17,4)	<0,001
Фибрилляция предсердий в анамнезе, n (%)	73 (10,3)	57 (9,1)	16 (18,6)	0,012
ХБП, n (%)	61 (8,6)	44 (7,0)	17 (19,8)	<0,001
ЗПА, n (%)	26 (3,7%)	20 (3,2)	6 (7,0)	0,114
Хроническое заболевание легких, n (%)	115 (16,2%)	95 (15,2)	20 (23,3)	0,062
ЯБ желудка и 12-перстной кишки, n (%)	65 (9,1%)	57 (9,1)	8 (9,3)	1,0
ИКЧ, баллы, Me (IQR)	4 (3; 6)	4 (3; 5)	6 (5; 8)	<0,001
Анемия, n (%)	189 (26,5)	145 (23,2)	44 (51,2)	<0,001
Боль в грудной клетки, n (%)	658 (92,4)	583 (93,1)	75 (87,2)	0,078
Одышка, n (%)	124 (17,4)	102 (16,3)	22 (25,6)	0,047
Класс Killip II–IV, n (%)	160 (22,5)	115 (18,4)	45 (52,3)	<0,001
Систолическое АД, мм рт. ст., Me (ИКР)	140 (120; 159)	140 (120; 160)	130 (110; 150)	0,019
Диастолическое АД, мм рт. ст., Me (ИКР)	80 (76; 89)	80 (77; 90)	80 (70; 80)	0,021
Тропонин I, нг/мл, Me (ИКР)	0,39 (0,09; 2,85)	0,39 (0,09; 2,86)	0,42 (0,09; 2,50)	0,996

Окончание табл. 1

Показатель	Популяция пациентов, <i>n</i> = 712	Выжившие пациенты, <i>n</i> = 626	Умершие пациенты, <i>n</i> = 86	<i>p</i>
Гемоглобин, г/л, <i>Me</i> (ИКР)	136 (123; 147)	138 (125; 148)	122 (105; 136,5)	<0,001
Креатинин, мкмоль/л, <i>Me</i> (ИКР)	94 (80; 107)	69 (55; 84)	52,5 (41; 66,5)	0,014
ФВЛЖ, %, <i>Me</i> (ИКР)	45 (40; 54)	45 (40; 54)	40 (34; 50)	<0,001
Отсутствие поражений/стеноз < 50% КА, <i>n</i> (%)	73 (10,3)	69 (11)	4 (4,7)	0,086
Трехсосудистое поражение КА, <i>n</i> (%)	390 (54,8)	320 (51,1)	70 (81,4)	<0,001
ЧКВ, <i>n</i> (%)	566 (79,5)	499 (79,7)	67 (77,9)	0,671
Шкала GRACE, баллы, <i>Me</i> (ИКР)	117 (98; 141)	113 (96; 134)	149 (128,5; 171,25)	<0,001

Примечание. ЦВИ – цереброваскулярный инцидент; ЯЗ – язвенные болезни (здесь и в табл. 2).

Медиана балльной оценки ИКЧ составила 4 (ИКР: 3–6, диапазон 0–13) баллов. Распределение баллов ИКЧ среди всех участников исследования представлено на рис. 1. В структуре ИСЗ чаще встречался предшествующий ИМ (21,8%), сахарный диабет (21,1%), хронические заболевания легких (астма и хроническая обструктивная болезнь легких) (16,2%), деменция (9,3%), язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки (9,1%) и ХБП (8,6%) (табл. 2).

По результатам однофакторного анализа: ИКЧ, возраст, женский пол, ОКС с подъемом сегмента ST, систолическое и диастолическое АД, фибрилляция предсердий, анемия, ОСН по Killip II–IV, уровень креатинина, ФВЛЖ, трехсосудистое поражение КА были ассоциированы с 18-месячной общей смертностью ($p < 0,05$) (табл. 3). В многофакторном анализе: ИКЧ (ОШ 1,28; 95% ДИ 1,08–1,52; $p = 0,004$), возраст (ОШ 1,06; 95%-й ОШ 1,02–1,09; $p = 0,002$), трехсосудистое поражение КА (ОШ 2,60; 95%-й ДИ 1,36–4,98; $p = 0,004$) независимо ассоциировались с первичной конечной точкой.

Таблица 2

Частота сопутствующих заболеваний в каждой категории индекса коморбидности Чарльсона		
Сопутствующие заболевания	Количество	Частота
Предшествующий ИМ	155	21,8
Сахарный диабет (легкая до умеренной степени)	150	21,1
Хроническое заболевание легких	115	16,2
Деменция	66	9,3
ЯБ желудка и 12-перстной кишки	65	9,1
ХБП	61	8,6
Предыдущая госпитализация по поводу СН	57	8,0
Цереброваскулярный инцидент	51	7,2
Онкологическое заболевание	27	3,8
ЗПА	26	3,7
Заболевание печени	4	0,6
СПИД	1	0,1
Ревматическое заболевание	0	0
Гемиплегия или паралич	0	0

Примечание. СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита.

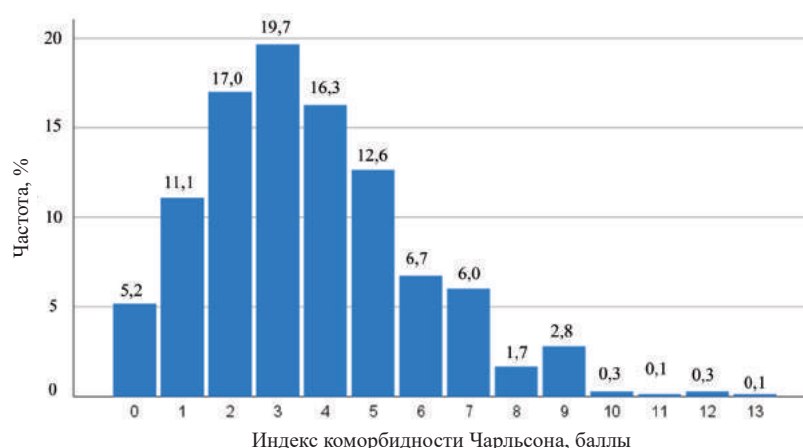


Рис. 1. Распределение баллов индекса коморбидности Чарльсона среди всех пациентов

В анализе ROC-кривых для предсказания общей смертности в течение 18 мес с использованием ИКЧ площадь под ROC-кривой (Area Under Curve – AUC) для ИКЧ составила 0,797 (95%-й ДИ

0,746–0,849; $p < 0,001$). Чувствительность и специфичность составили 69,8 и 78,4% соответственно при пороговом значении ИКЧ > 5 баллов (рис. 2). На основании оцененных переменных многофакторной

модели разработана номограмма для прогнозирования риска смерти в течение 18 мес у пациентов с ОИМ (AUC = 0,819, 95%-й ДИ 0,767–0,870; $p < 0,001$; чувствительность 65,1%; специфичность 88,2%) (рис. 3). Вероятность наступления смерти в течение 18 мес у пациентов с ОИМ оценивали согласно следующему уравнению:

$$\text{риск} = 1 / (1 + e^{-Z}),$$

где $Z = -7,984 + 0,341 \times \text{ИКЧ} + 0,051 \times \text{возраст} + 0,967 \times \text{трехсосудистое поражение КА}$.

Инструкция по использованию: общий балл формируется путем использования количества баллов каждого фактора на соответствующей оси с проведением вертикальной линии к оси «Балл». Чтобы определить индивидуальную вероятность смерти в течение 18 мес, суммируются баллы всех факторов и проводится вертикальная линия к линии «Риск смерти в течение 18 мес».

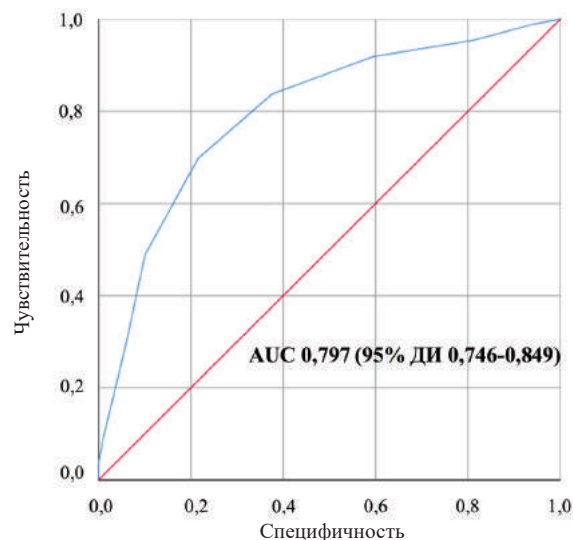


Рис. 2. Анализ рабочей характеристики ROC-кривой индекса коморбидности Чарльсона для прогнозирования общей смертности в течение 18 мес у пациентов с острым инфарктом миокарда

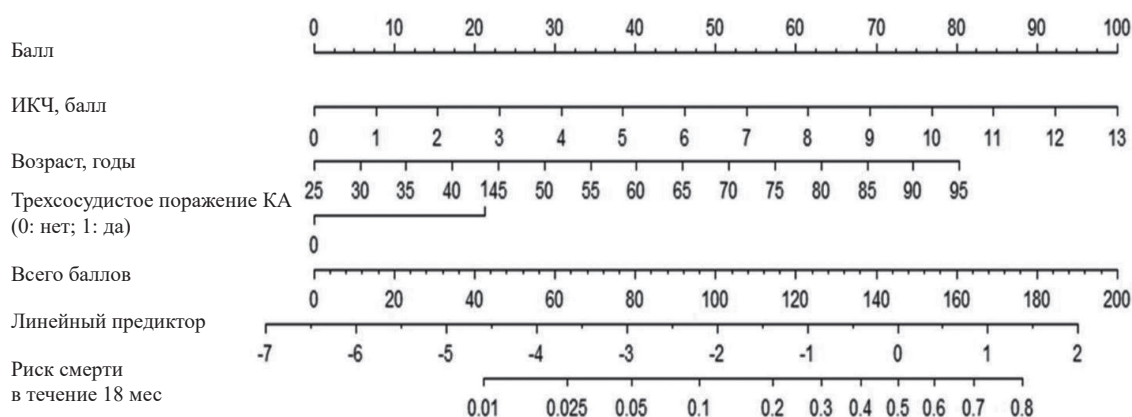


Рис. 3. Номограмма для прогнозирования общей смертности в течение 18 мес при остром инфаркте миокарда: индекс коморбидности Чарльсона, возраст и трехсосудистое поражение коронарных артерий

Таблица 3

Однофакторный и многофакторный анализ факторов риска в прогнозировании общей смертности в течение 18 мес				
Показатель	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	ОШ (95%-й ДИ)	p	ОШ (95%-й ДИ)	p
ИКЧ, баллы	1,65 (1,47–1,84)	<0,001	1,28 (1,08–1,52)	0,004
Возраст, годы	1,09 (1,07–1,12)	<0,001	1,06 (1,02–1,09)	0,002
Женщины	2,56 (1,62–4,06)	<0,001	1,35 (0,73–2,51)	0,336
ОКС с подъемом сегмента ST	1,70 (1,07–2,69)	0,023	1,33 (0,76–2,34)	0,318
Систолическое АД ≤ 115 мм рт. ст.	2,37 (1,43–3,95)	0,001	2,84 (1,09–7,38)	0,032
Диастолическое АД ≤ 70 мм рт. ст.	1,88 (1,45–3,10)	0,012	2,14 (0,82–5,61)	0,121
Фибрилляция предсердий в анамнезе	2,28 (1,24–4,19)	0,008	1,32 (0,64–2,75)	0,453
Анемия	3,47 (2,19–5,51)	<0,001	1,67 (0,93–2,99)	0,083
Класс Killip II–IV ≥ 2	2,67 (2,05–3,45)	<0,001	1,22 (0,66–2,26)	0,523
Креатинин ≥ 115 мкмоль/л и более	1,83 (1,08–3,08)	0,023	1,09 (0,55–2,13)	0,811
ФВЛЖ $\leq 40\%$	3,16 (1,93–5,17)	<0,001	1,79 (0,97–3,32)	0,063
Трехсосудистое поражение КА	4,18 (2,38–7,36)	<0,001	2,60 (1,36–4,98)	0,004

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты были использованы для построения прогностической модели этой популяции. В нашем исследовании преобладание мужчин в общей группе исследования согласуется с результатами предыдущих работ [6, 13–15]. Артериальная гипертензия имела более высокую распространенность (89%), чем в исследованиях J. Sanchis и соавт. с участием 1 017 пациентов с ОКС без подъема сегмента ST [16], J.E. Núñez и соавт. в когорте из 1 035 пациентов с ОИМ [17], где АГ составляла 65 и 61,4% от общей популяции соответственно.

При анализе структуры сопутствующих заболеваний по ИКЧ наиболее часто встречающимися оказались ранее перенесенный ИМ (21,8%) и сахарный диабет (21,1%), что согласуется с результатами исследования D. Radovanovic и соавт., в котором изучались 30 711 пациентов с ОКС из 69 швейцарских больниц в реестре AMIS Plus [6]. В этих исследованиях предыдущий ИМ и сахарный диабет составляли 18 и 14,7%, что также подтверждается результатами исследования M. Hautamäki и соавт. 1 576 пациентов в исследовании MADDEC (Mass Data in Detection and Prevention of Serious Adverse Events in Cardiovascular Disease), где предыдущий ИМ составил 22%. В отличие от результатов J.E. Núñez и соавт. [17], сахарный диабет без осложнений (21,5%) был самым распространенным в структуре ИКЧ со значительным отрывом от ИМ (17,6%), хронической обструктивной болезни легких (8,6%), ЦВИ (6,6%), СН (6,4%), ЗПА (5,5%) и болезнью почек (4,1%).

Предыдущие исследования подтвердили положительную корреляцию между ИКЧ и неблагоприятными исходами у пациентов с ИМ [3, 17–19]. В проспективном многоцентровом наблюдательном исследовании с участием 29 620 пациентов с ОИМ у 46,8% пациентов были сопутствующие заболевания [6]. ИКЧ был независимым предиктором внутрибольничной смертности: ИКЧ = 1 имел ОШ 1,36 (95%-й ДИ 1,16–1,60; $p = 0,001$), ИКЧ = 2 имел ОШ 1,65 (95%-й ДИ 1,38–1,97; $p < 0,001$), а ИКЧ ≥ 3 показал ОШ 2,20 (95%-й ДИ 1,86–2,57; $p < 0,001$). При сочетании ИКЧ, возраста и пола в анализе ROC-кривой AUC составила 0,761 (95%-й ДИ 0,748–0,773) для прогнозирования внутрибольничной смертности. В отличие от этого использование только ИСЗ дало AUC 0,670 (95%-й ДИ 0,656–0,685) для внутрибольничной смертности. После коррекции по возрасту AUC улучшилось до 0,83 (95%-й ДИ 0,80–0,86) для прогнозирования смертности в течение года.

M. Schmidt и соавт. исследовали связь между ИКЧ и смертностью у 234 331 пациента, госпитализи-

зированных впервые с ОИМ с 1984 по 2008 г. [3]. Авторы пришли к выводу о наличии связи между ИКЧ и 30-дневной смертностью (корректированное отношение риска (кОР) 1,35 (95%-й ДИ 1,26–1,45) для умеренной степени (ИКЧ = 1) и 1,96 (95%-й ДИ 1,83–2,11) для очень тяжелой степени сопутствующих заболеваний (ИКЧ ≥ 3)), а также смертностью в течение года (кОР 1,83 (95%-й ДИ 1,68–2,00) для умеренной и 3,89 (95% ДИ 3,58–4,24) для тяжелой степени сопутствующих заболеваний). В другом исследовании [19] общее кОР за 5 лет для общей смертности составило 1,39 (95%-й ДИ 0,90–2,14) и 2,33 (95% ДИ: 0,79–6,84) для низкой степени сопутствующих заболеваний, 2,05 (95% ДИ: 0,69–6,06) для умеренной степени сопутствующих заболеваний и 1,07 (95% ДИ: 0,64–1,80) для тяжелой степени сопутствующих заболеваний. В исследовании 1 035 последовательных пациентов с диагнозом ОИМ J.E. Núñez и соавт. продемонстрировали, что более высокий балл по ИКЧ независимо способен предсказывать смерть или ОИМ в течение 30 дней и года [17].

В анализе факторов, связанных с фатальными исходами, ИКЧ, возраст и трехсосудистое поражение КА оказались независимыми предикторами смертности в течение 18 мес у пациентов с ОИМ. В нашем исследовании доля пожилых больных составила две трети от всех пациентов. Клиническая значимость ИКЧ в этой популяции пациентов была продемонстрирована в предыдущих исследованиях [20–22]. Учитывая, что тяжесть коморбидности увеличивается с возрастом, особенно у пожилых пациентов, которые становятся более уязвимыми и хрупкими, индексы сопутствующих заболеваний приобретают большее значение для этой возрастной группы [23].

В проспективном когортном исследовании, включившем 520 пациентов пожилого возраста (≥ 80 лет), госпитализированных с ОКС без подъема сегмента ST, ИКЧ был независимо ассоциирован со смертностью или повторными госпитализациями (ОР 1,15; 95%-й ДИ 1,06–1,26; $p = 0,001$) в течение 6 мес наблюдения [21]. В другом проспективном когортном исследовании, включившем 715 пациентов с ОКС без подъема сегмента ST, ИКЧ выступил в качестве прогностического фактора повторной госпитализации из-за СН после 2-летнего наблюдения (ОР 1,2; 95%-й ДИ 1,04–1,3) [24].

Тяжесть атеросклеротического поражения коронарного русла, выявленного при выполнении прямой ангиографии, также имеет прогностическое влияние на клинические исходы больных ОИМ [25]. Распространенность многососудистого поражения КА была одинаково частой среди пациентов ОИМ как с подъемом сегмента ST, так и без подъема сегмента

ST, и составляла примерно 40–50% [26–28]. Трехсосудистое поражение КА являлось прогностическим фактором для шкалы риска CADILLAC (Controlled Abciximab and Device Investigation to Lower Late Angioplasty Complications), демонстрируя влияние на 30-дневную и годовую смертность после ЧКВ для ОИМ [29]. Среди прочего для этой шкалы учитывался возраст, ФВЛЖ, почечная недостаточность, трехсосудистое поражение КА и коронарный кровоток по TIMI (Thrombolysis In Myocardial Infarction).

Для стратификации риска после ОИМ ИКЧ был включен в несколько шкал для прогнозирования неблагоприятных исходов [30, 31]. В исследовании 1 202 пациентов с ОКС добавление ИКЧ к шкале GRACE улучшило прогноз будущих сердечно-сосудистых событий и смертности [32], в то время как ИКЧ оказался одним из самых сильных предикторов несердечно-сосудистой смертности у пациентов, проходящих ЧКВ [33]. Результаты Национальной базы данных о повторных госпитализациях в США показали, что ИКЧ ≥ 3 был наиболее сильным предиктором повторной госпитализации в течение 30 дней среди пациентов с ОКС без подъема сегмента ST [34]. Настоящий анализ обращает внимание на синергетическое прогностическое воздействие как сопутствующих заболеваний, так и ангиографических переменных, которые потенциально поддаются коррекции и требуют персонализированного подхода к вмешательству.

Наше исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, это наблюдательное исследование со случайными неизмеренными факторами смешивания, которые не могут быть устранены. Тем не менее хорошо разработанное наблюдательное исследование способно по-прежнему предоставлять достоверные результаты без систематического завышения результатов по сравнению с рандомизированными контролируемыми исследованиями. Во-вторых, небольшой размер выборки и одноцентровый дизайн исследования с отсутствием проверки номограммы, безусловно, снижают прогностическую мощность работы для клинической реализации в общей популяции. В-третьих, ИКЧ за более чем 30 лет, как и дефиниции некоторых клинических состояний, таких как ХБП, разительно изменились. Таким образом, традиционный формат ИКЧ, безусловно, может повлиять на точность оценки влияния на тяжесть сопутствующих заболеваний и долгосрочный прогноз пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИКЧ продемонстрировал умеренную предсказательную способность для 18-месячной смертности у пациентов с ОИМ. Возраст, ИКЧ и трехсосудистое поражение КА независимо ассоциированы с 18-ме-

сячной смертностью. Модель оценки риска на основе номограммы облегчила раннюю идентификацию пациентов с высоким риском, что позволило внедрить более эффективную стратегию персонализированного лечения и снизить смертность при остром инфаркте миокарда.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Vaduganathan M., Mensah G.A., Turco J.V., Fuster V., Roth G.A. The Global burden of cardiovascular diseases and risk: a compass for future health. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2022;80(25):2361–2371. DOI: 10.1016/j.jacc.2022.11.005.
2. Timmis A., Vardas P., Townsend N., Torbica A., Katus H., De Smedt D. et al. European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2021. *Eur. Heart J.* 2022;43(8):716–799. DOI: 10.1093/ehjacc/oeac014.
3. Schmidt M., Jacobsen J.B., Lash T.L., Bøtker H.E., Sørensen H.T. 25 Year trends in first time hospitalisation for acute myocardial infarction, subsequent short and long term mortality, and the prognostic impact of sex and comorbidity: A Danish nationwide cohort study. *BMJ.* 2012;344:e356. DOI: 10.1136/bmj.e356.
4. Canivell S., Muller O., Gencer B., Heg D., Klingenberg R., Räber L. et al. Prognosis of cardiovascular and non-cardiovascular multimorbidity after acute coronary syndrome. *PLoS One.* 2018;13(4):1–12. DOI: 10.1371/journal.pone.0195174.
5. Zhang F., Wong C., Chiu Y., Ensor J., Mohamed M.O., Peat G. et al. Prognostic impact of comorbidity measures on outcomes following acute coronary syndrome: A systematic review. *Int. J. Clin. Pract.* 2021;75(10):1–15. DOI: 10.1111/ijcp.14345.
6. Radovanovic D., Seifert B., Urban P., Eberli F.R., Rickli H., Bertel O. et al. Insights from the nationwide AMIS Plus registry 2002–2012. *Heart.* 2014;100(4):288–294. DOI: 10.1136/heartjnl-2013-304588.
7. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Simoons M.L., Chaitman B.R., White H.D. et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation.* 2012;126(16):2020–2035. DOI: 10.1161/CIR.0b013e31826e1058.
8. MDCalc. Charlson Comorbidity Index (CCI). URL: <https://www.mdcalc.com/calc/3917/charlson-comorbidity-index-cci#creator-insights>
9. Charlson M.E., Pompei P., Ales K.L., MacKenzie C.R. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J. Chronic. Dis.* 1987;5(40):373–383. DOI: 10.1016/0021-9681(87)90171-8.
10. Fox K.A., Fitzgerald G., Puymirat E., Huang W., Carruthers K., Simon T. et al. Should patients with acute coronary disease be stratified for management according to their risk? Derivation, external validation and outcomes using the updated GRACE risk score. *BMJ Open.* 2014;4:e004425. DOI: 10.1136/bmjopen-2013-004425.
11. Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* 1968;405:5–37.
12. Cui K., Lyu S., Song X., Liu H., Yuan F., Xu F. et al. Long-term safety and efficacy of staged percutaneous coronary intervention for patients with ST-segment elevation myocardial infarction and multivessel coronary disease. *Am. J. Cardiol.* 2019;124(3):334–342. DOI: 10.1016/j.amjcard.2019.04.048.

13. DeLong E.R., DeLong D.M., Clarke-Pearson D.L. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics*. 1988;44(3):837–845.
14. Zhang F., Bharadwaj A., Mohamed M.O., Ensor J., Peat G., Mamas M.A. Impact of Charlson Co-Morbidity Index Score on management and outcomes after acute coronary syndrome. *Am. J. Cardiol.* 2020;130:15–23. DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.06.022.
15. Hautamäki M., Lyytikäinen L.P., Mahdiani S., Eskola M., Lehtimäki T., Nikus K et al. The association between charlson comorbidity index and mortality in acute coronary syndrome – the MADDEC study coronary syndrome – the MADDEC study. *Scand. Cardiovasc. J.* 2020;12:1299–1311. DOI: 10.1080/14017431.2019.1693615.
16. Sanchis J., Núñez J., Bodí V., Núñez E., García-Alvarez A., Bonanad C. et al. Influence of comorbid conditions on one-year outcomes in non – ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Mayo Clin. Proc.* 2011;86(4):291–296. DOI: 10.4065/mcp.2010.0702.
17. Núñez J.E., Núñez E., Fácila L., Bertomeu V., Llacer A., Bodí V. et al. Prognostic Value of Charlson Comorbidity Index at 30 days and 1 year after acute myocardial infarction. *Rev. Española Cardiol.* 2004;57(9):842–849. DOI: 10.1016/S1885-5857(06)60649-X.
18. O'Connell R.L., Lim L.L. Utility of the Charlson comorbidity index computed from routinely collected hospital discharge diagnosis codes. *Methods Inf. Med.* 2000;39(1):7–11.
19. Schelde A.B., Schmidt M., Madsen M., Nielsen S.S., Frøkiær J., Christiansen C.F. Impact of the charlson comorbidity index score on risk prediction by single-photon emission computed tomography myocardial perfusion imaging following myocardial infarction. *Clin. Epidemiol.* 2019;11:901–910. DOI: 10.2147/CLEP.S211555.
20. Balun A., Akgümüş A. Charlson comorbidity index and 1-year poor outcomes in elderly patients undergoing successful percutaneous coronary intervention: A retrospective study. *Med. (United States)*. 2023;102(19):E33792. DOI: 10.1097/MD.00000000000033792.
21. Esteve Pastor M.A., Martin E., Alegre O., Castillo Dominguez J.C., Formiga F., Martinez-Selles M. et al. Relationship of Charlson Comorbidity Index with adverse events in elderly patients with acute coronary syndromes: an analysis from LONGEVO-SCA Registry. *Eur. Heart J.* 2019;40(1):2525. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz748.0854.
22. Sanchis J., Soler M., Núñez J., Ruiz V., Bonanad C., Formiga F. et al. Comorbidity assessment for mortality risk stratification in elderly patients with acute coronary syndrome. *Eur. J. Intern. Med.* 2019;62:48–53. DOI: 10.1016/j.ejim.2019.01.018.
23. Jiménez-Méndez C., Díez-Villanueva P., Alfonso F. Non-ST segment elevation myocardial infarction in the elderly. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2021;22(3):779–786. DOI: 10.31083/J.RCM2203084.
24. Ramirez-Marrero M., Jimenez-Navarro M., De Teresa-Galvan E., De Mora-Martin M. The importance of the Charlson index in risk stratification in patients admitted for acute coronary syndrome without ST-segment elevation. *Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 2011;18(1):S113.
25. Singh M., Reeder G.S., Jacobsen S.J., Weston S., Killian J., Roger V.L. Scores for post-myocardial infarction risk stratification in the community. *Circulation*. 2002;106(18):2309–2314. DOI: 10.1161/01.CIR.0000036598.12888.DE.
26. Pimor A., Auffret V., Didier R., Delaunay R., Filippi E., Hancot J.P. et al. Immediate complete revascularization in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and multivessel disease treated by primary percutaneous coronary intervention: Insights from the ORBI registry. *Arch. Cardiovasc. Dis.* 2018;111(11):656–665. DOI: 10.1016/j.acvd.2017.08.005.
27. Mariani J., Macchia A., De Abreu M., Monte G.G.V., Tajer C. Multivessel versus single vessel angioplasty in non-ST elevation acute coronary syndromes: A systematic review and metaanalysis. *PLoS One*. 2016;11(2):1–21. DOI: 10.1371/journal.pone.0148756.
28. Widimsky P., Holmes D.R. How to treat patients with ST-elevation acute myocardial infarction and multi-vessel disease? *Eur. Heart J.* 2011;32(4):396–403. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq410.
29. Halkin A., Singh M., Nikolsky E., Grines C.L., Tchong J.E., Garcia E. et al. Prediction of mortality after primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: The CADILLAC risk score. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005;45(9):1397–1405. DOI: 10.1016/j.jacc.2005.01.041.
30. Hoang T.H., Maiskov V. V., Merai I.A., Kobalava Z.D. Development and validation of a model for predicting 18-month mortality in type 2 myocardial infarction. *Am. J. Emerg. Med.* 2021;48:224–230. DOI: 10.1016/j.ajem.2021.04.060.
31. Krumholz H.M., Chen J., Chen Y.T., Wang Y., Radford M.J. Predicting one-year mortality among elderly survivors of hospitalization for an acute myocardial infarction: Results from the cooperative cardiovascular project. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001;38(2):453–459. DOI: 10.1016/S0735-1097(01)01395-X.
32. Erickson S.R., Cole E., Kline-Rogers E., Eagle K.A. The addition of the Charlson comorbidity index to the GRACE risk prediction index improves prediction of outcomes in acute coronary syndrome. *Popul. Health Manag.* 2014;17(1):54–59. DOI: 10.1089/pop.2012.0117.
33. Spoon D.B., Lennon R.J., Psaltis P.J., Prasad A., Holmes D.R. Jr., Lerman A. et al. Prediction of cardiac and noncardiac mortality after percutaneous coronary intervention. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2015;8(9):1–9. DOI: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.114.002121.
34. Lemor A., Hernandez G.A., Patel N., Blumer V., Sud K., Cohen M.G. et al. Predictors and etiologies of 30-day readmissions in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Catheter Cardiovasc. Interv.* 2019;93(3):373–379. DOI: 10.1002/ccd.27838.

Информация об авторах

Хоанг Чыонг Хюй – канд. мед. наук, преподаватель кафедры внутренних болезней, Медицинский университет Фам Нгок Тач; врач-кардиолог, кардиологическое отделение 5, Кардиологическая больница Там Дык, г. Хошимин, Вьетнам, truonghh@pnt.du.vn, <http://orcid.org/0000-0002-2013-2647>

Майсков Виктор Викторович – канд. мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН; зав. отделением рентгенохирургических методов диагностики и лечения, ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ, г. Москва, maiskov-angio@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0002-2135-2606>

Мерай Имад Ахмадович – канд. мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН; зав. I отделением реанимации и интенсивной терапии кардиологического профиля, ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ, г. Москва, imadmerai@yahoo.com, <http://orcid.org/0000-0001-6818-8845>

Кобалава Жанна Давидовна – д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН, зав. кафедрой внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, zkobalava@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5873-1768>

(✉) **Хоанг Чыонг Хюй**, truonghh@pnt.du.vn

Поступила в редакцию 15.12.2023;
одобрена после рецензирования 25.12.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616-006.6.085.277.3:577.29

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-101-113>

Молекулярные мишени таргетной терапии злокачественных новообразований

Боденко В.В.^{1,2}, Ларькина М.С.¹, Прач А.А.², Плотников Е.В.²,
Белоусов М.В.¹, Чернов В.И.³

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

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

³ Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

В течение последних двух десятилетий таргетная терапия активно развивается и, демонстрируя впечатляющие клинические результаты, завоевывает все большую роль в терапии онкологических заболеваний. В значительной мере этому способствовало углубленное понимание механизмов развития рака и главным образом открытие молекулярных мишеней. Однако таргетная терапия способна радикально изменять результаты лечения и прогнозы течения заболевания в одних онкологических контекстах, в других же эффективность сменяется лекарственной устойчивостью.

В лекции проанализированы и систематизированы терапевтические подходы нацеливания на ряд важнейших молекулярных мишеней, которые являются ключевыми для осуществления конкретного этапа в многостадийном процессе патогенеза опухолей человека: поддерживающих хроническую пролиферативную передачу сигналов, способствующих уклонению от супрессоров клеточного роста, обеспечивающих индукцию ангиогенеза, формирующих иммунный надзор и активирующих инвазию и метастазирование. Представлены применяемые в России таргетные терапевтические препараты на основе антител и низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназ, проанализированы механизмы молекулярного взаимодействия препаратов и мишеней, а также возможные факторы развития резистентности и способы преодоления резистентных механизмов.

Ключевые слова: EGFR, HER2, VEGF, BCR-ABL1, CDK4/6, CTLA-4, PD-1, c-Met

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: Боденко В.В., Ларькина М.С., Прач А.А., Плотников Е.В., Белоусов М.В., Чернов В.И. Молекулярные мишени таргетной терапии злокачественных новообразований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):101–113. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-101-113>.

Molecular targets for metastasis-directed therapy in malignant tumors

Bodenko V.V.^{1,2}, Larkina M.S.¹, Prach A.A.², Plotnikov E.V.², Belousov M.V.¹, Chernov V.I.³

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² National Research Tomsk Polytechnic University

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

³ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences

5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Over the past two decades, targeted therapy has actively developed and, demonstrating impressive clinical results, has gained an increasingly important role in the treatment of cancer. This was facilitated to a large extent by an in-depth understanding of the mechanisms of cancer development, and mainly, the discovery of molecular targets. Despite the fact that targeted therapy can radically change the results of treatment and the prognosis of the disease course in some cancer cases, its effectiveness is sometimes replaced by drug resistance, in others.

The authors of the lecture analyzed and systematized therapeutic approaches to addressing a number of important molecular targets that are key for implementing a specific stage in human tumor pathogenesis. These include maintaining chronic proliferative signaling, promoting evasion of cell growth suppressors, inducing angiogenesis, forming immune surveillance, and activating invasion and metastasis. The lecture presented targeted therapy drugs used in the Russian Federation, including antibody-based drugs and small molecule tyrosine kinase inhibitors. It also analyzed mechanisms of molecular interaction between these drugs and their targets, as well as possible factors for developing resistance and ways to overcome these resistance mechanisms.

Keywords: EGFR, HER2, VEGF, BCR-ABL1, CDK4/6, CTLA-4, PD-1, c-Met

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

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

For citation: Bodenko V.V., Larkina M.S., Prach A.A., Plotnikov E.V., Belousov M.V., Chernov V.I. Molecular targets for metastasis-directed therapy in malignant tumors. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):101–113. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-101-113>.

ВВЕДЕНИЕ

Таргетная терапия является молодым и наиболее перспективным методом медикаментозного лечения злокачественных новообразований. Углубленное понимание механизмов развития рака, в том числе открытие молекулярных мишеней, способствовало бурному развитию таргетной медицины в течение двух последних десятилетий. Согласно концепции D. Hanahan и R.A. Weinberg, основными отличительными признаками рака являются: поддержание пролиферативной передачи сигналов, уклонение от супрессоров клеточного роста, индукция ангиогенеза, уклонение от иммунного надзора, активация инвазии и метастазирования, сопротивление гибели клеток. Мутация генома опухолевых клеток опреде-

ляется как основополагающий признак, инициирующий злокачественную трансформацию [1, 2].

На сегодняшний день в арсенале онкологов имеется широкий спектр таргетных терапевтических препаратов, нацеленных на молекулярные мишени, которые являются ключевыми для осуществления конкретного этапа в многостадийном процессе патогенеза опухолей человека. Традиционно таргетная терапия основана на применении низкомолекулярных ингибиторов тирокиназ (суффикс -ib) (табл. 1) и моноклональных антител (суффикс -mab) (табл. 2), воздействующих на опухолевые мишени, которыми могут являться рецепторные тирозинкиназы и их лиганды (рис.).

Рецепторные тирозинкиназы (receptor tyrosin kinases, RTK) – трансмембранные белки, состоя-

щие из экстрацеллюлярного домена, выполняющие функцию рецептора для сайт-специфического связывания с лигандами трансмембранного и каталитического интрацеллюлярного тирозинкиназного домена. Последний участвует в фосфорилировании субстратов – переносе фосфатного остатка аденозин-трифосфорной кислоты (АТФ) на тирозиновый остаток специфических клеточных белков-мишеней для сериновых или треониновых киназ. Связывание лиганда с тирозинкиназным рецептором приводит к конститутивной активации нижестоящих сигнальных путей. Таким образом, тирозинкиназные рецепторы передают сигналы от внеклеточных лигандов к нижестоящим сигнальным эффекторам, включающие преимущественно серин или треониновые киназы или же другие важные белки, например RAS (retrovirus associated DNA sequences).

Многие киназы, являясь регуляторами нормальных клеточных процессов в здоровом организме, таких как ангиогенез, пролиферация, дифференцировка, выживание или миграция клеток, также играют ключевую роль в механизмах образования и прогрессирования рака. В процессе онкогенеза киназные белки-мишени могут гиперэкспрессироваться в результате генетической мутации или транслокации, перехватывать нижестоящие сигнальные пути, становиться невосприимчивыми к нормальным регуляторным механизмам и выполнять функции, обеспечивающие формирования и рост опухоли.

Как хорошо зарекомендовавшие себя в клинической практике, так и вновь создаваемые таргетные препараты нацелены на мишени, которые являются ключевыми звеньями патогенеза развития опухоли.

Ингибиторы тирозинкиназы (ИТК) могут действовать за счет конкуренции за АТФ в АТФ-связывающем кармане киназы в активной (1-й тип ИТК) или неактивной конформации (2-й тип ИТК), осуществлять взаимодействие за пределами сайта связывания АТФ, вызывая аллостерическое ингибирование активности киназы (3-й тип ИТК), или образовывать необратимую ковалентную связь с активным центром киназы, чаще всего путем реакции с нуклеофильным остатком цистеина (4-й тип ИТК, необратимое ингибирование) [3, 4]. Ингибиторы тирозинкиназы обладают цитостатическим действием, приводящим к сдерживанию опухолевого роста.

Моноклональные антитела, связываясь с экстрацеллюлярным доменом целевого рецептора, действуют посредством ряда механизмов, включая антителозависимую клеточную цитотоксичность, интернализацию с последующей деградацией или же ингибирование димеризации рецептора [5, 6]. Моноклональные антитела могут быть химерными (-ximab), гуманизированными (-zumab) или полностью человеческими (-umab). Применяются самостоятельно или в виде конъюгата с цитотоксическим агентом (трастузумаб эмтанзин, трастузумаб дерукстефан, брентуксимаб ведотин, энфортумаб ведотин).

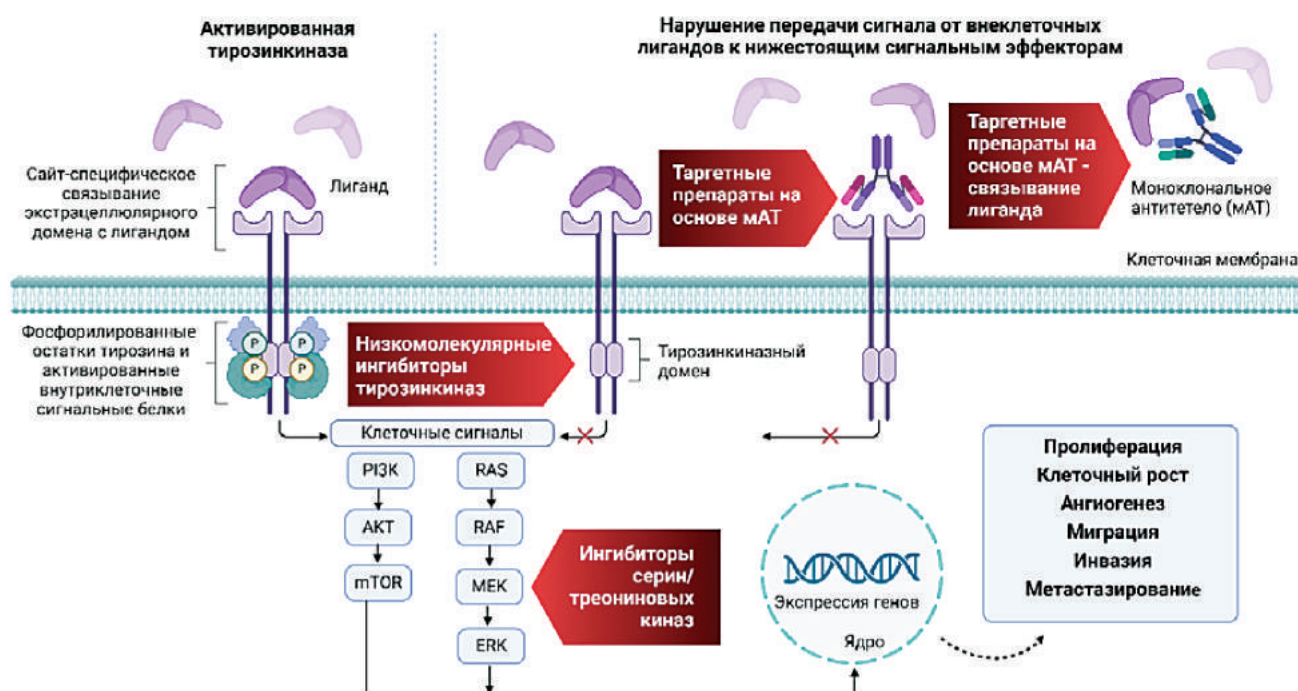


Рисунок. Методы таргетной терапии

Целью настоящей лекции является анализ терапевтических подходов нацеливания на ряд важнейших молекулярных мишеней злокачественных новообразований, включая рассмотрение проблемы развития резистентности и способов преодоления резистентных механизмов. Материал лекции ориентирован на исследователей и специалистов в области таргетной медицины и онкологии.

НАЦЕЛИВАНИЕ НА МИШЕНИ, ПОДДЕРЖИВАЮЩИЕ ХРОНИЧЕСКУЮ ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ ПЕРЕДАЧУ СИГНАЛОВ

Нормальным клеткам для перехода из состояния покоя в фазу активной пролиферации необходимы митогенные сигналы роста, передающиеся с помощью трансмембранных рецепторов. Опухолевые клетки, напротив, обладают способностью автономно поддерживать хроническую пролиферацию. Устойчивая пролиферация осуществляется за счет увеличения количества лигандов факторов роста, возрастания экспрессии рецепторных белков на поверхности опухолевых клеток, стабилизации рецептора в димерном состоянии, активации в отсутствие лиганда.

Распространенным и широко изученным фактором роста является эпидермальный фактор роста (EGF) и его рецепторы с тирозинкиназной активностью – представители семейства ErbB: EGFR (HER1, ErbB-1), HER2/c-neu (ErbB-2), Her 3 (ErbB-3). Рецепторы семейства ErbB обеспечивают пролиферацию, выживание и дифференцировку клеток в норме, при этом имеют повышенную экспрессию при ряде злокачественных образований. Так, гиперэкспрессия EGFR (HER1) наблюдается при немелкоклеточном раке легких, диссеминированном раке предстательной железы, раке головы и шеи, глиоме и глиобластоме, а также раке толстой кишки и поджелудочной железы. Наиболее часто гиперэкспрессия HER2/c-neu встречается при раке молочной железы (15–20% случаев), реже при новообразованиях яичников, желудка, простаты и поджелудочной железы. Значение гиперэкспрессии HER3 при злокачественных опухолях не столь высоко, по сравнению с HER1 и HER2. Этот феномен может наблюдаться при раке молочной железы, яичников, желудка и простаты [7].

Исследование кристаллической структуры показало, что внеклеточный домен рецепторов семейства ErbB состоит из четырех субдоменов, из которых домены I и III участвуют в связывании лигандов, а домены II и IV – во внутримолекулярном взаимодействии и обеспечивают аутоингибирование. Рецепторы эпи-

дермального фактора роста обычно существуют в неактивном мономерном состоянии в виде компактной «связанной» конформации, обусловленной внутримолекулярной связью между доменами II и IV, и переходят в активированное состояние после связывания с лигандом и последующей димеризации. Для осуществления этого процесса домены I и III образуют лиганд-связывающий карман и открывают субдомен II, обеспечивая димеризацию между идентичными рецепторами (гомодимеризацию) или с другими членами семейства (гетеродимеризацию). При этом HER2, в отличие от других членов семейства, существует в устойчивой открытой конформации, позволяющей димеризоваться без связывания с лигандом.

Для многих тирозинкиназных рецепторов переход к активной конформации киназы обеспечивается аутофосфорилированием активационной петли в киназном домене. Однако это не относится к рецепторам ErbB, для которых переход в активную форму происходит скорее за счет образования димера киназных доменов, в котором одна киназа аллостерически активирует другую. Далее киназные домены катализируют фосфорилирование тирозиновых остатков (за пределами киназного домена в С-концевом хвосте), создавая сайты связывания для белков или ферментов, участвующих в последующей передаче сигнала. Взаимодействие рецепторов эпидермального фактора роста с внеклеточным лигандом запускает каскад биохимических реакций посредством сигнальных путей RAS-RAF-MAPK, PI3k/AKT, а также фосфоинозитид-специфичной фосфолипазы C (PLC γ) [7, 8].

Существует три поколения EGFR/HER1-направленных ИТК, одобренных для терапии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Применение обратимых АТФ-конкурирующих ИТК первого поколения (гефитиниб, эрлотиниб, икотиниб) и ИТК второго поколения (афатиниб и дакотиниб) с необратимым ингибированием значительно улучшило эффективность лечения заболевания по сравнению с классической химиотерапией. При этом, несмотря на благоприятный ранний ответ на терапию, у большинства пациентов через 9–14 нед проявлялась медленная прогрессия опухоли из-за развития резистентности, которая примерно в половине случаев обусловлена мутацией второго сайта T790M в экзоне 20 [1].

Необратимый ИТК третьего поколения (осимертиниб) ковалентно связывается с цистеином в сайте взаимодействия АТФ внутриклеточного домена EGFR, практически двухсоткратно увеличивая эффективность терапии против мутации T790M, и демонстрирует потенциальную эффективность при лечении метастазов в головной мозг. Еще одним преимуществом этого лекарственного средства является

значительное снижение токсичности для кожи и желудочно-кишечного тракта по сравнению с ИТК дикого типа. В то же время актуальной и нерешенной проблемой остается развитие резистентности, возможными причинами которой могут быть точечная мутация цистеина в положении 797 (C797X), который является сайтом связывания для осимертиниба. Кроме того, в процессе лечения могут наблюдаться мутации других аминокислотных остатков EGFR, амплификация EGFR, а также появление EGFR-независимой резистентности, в частности активация обходных сигнальных путей для передачи сигнала.

К EGFR/HER1-направленным антителам, одобренным к применению в России, относятся цетуксимаб (химерное моноклональное антитело IgG1) и панитумаб (рекомбинантное человеческое моноклональное антитело IgG2). В результате связывания с EGFR антитела предотвращают внутриклеточное лиганд-опосредованное фосфорилирование тирозинкиназы, что приводит к ингибированию нижестоящих сигнальных путей, включая пути RAS-RAF-MAPK и PI3K-Akt/mTOR. Препараты этой группы нашли применение для терапии метастатического колоректального рака (панитумаб), рака головы и шеи (цетуксимаб).

Лапатиниб – двойной ингибитор тирозинкиназы, блокирует активность тирозинкиназ HER1 и HER2 путем взаимодействия с АТФ-связывающим участком внутриклеточного домена рецептора, одобрен для терапии HER2-позитивного рака молочной железы (РМЖ).

К HER2-направленным антителам, одобренным для терапии РМЖ, относятся трастузумаб и пертузумаб. Трастузумаб как HER2-направленное гуманизированное моноклональное антитело IgG1, связываясь субдоменом IV, подавляет внутриклеточные сигнальные пути PI3K и MAPK и активирует иммунный ответ. Пертузумаб представляет собой моноклональное антитело, которое, связываясь с субдоменом II HER2, ингибирует димеризацию HER2 с другими рецепторами человеческого эпидермального фактора роста EGFR, HER3, HER4. Клинические исследования показали, что трастузумаб в комбинации с пертузумабом обеспечивает более эффективную блокаду сигнального пути HER.

Представители нового класса таргетной терапии в лечении рака – конъюгаты моноклональных антител с лекарственными средствами – доказали свою высокую эффективность при допустимой системной токсичности. Такие конъюгаты состоят из трех основных частей: моноклонального антитела, химического линкера и цитотоксического агента. В качестве цитотоксического соединения применяют

ся высокоактивные ингибиторы тубулина (аналоги ауристатина и аналоги майтанзина); соединения, повреждающие ДНК (дуокармазин, калихеамицины и пирролобензодиазепины); ингибиторы РНК-полимеразы II (аманитин) и ингибиторы топоизомеразы I (дерукстекан, говитекан) [9, 10]. Помимо эффектов, опосредованных цитотоксическим агентом, моноклональные антитела могут проявлять свою внутреннюю противоопухолевую активность, например блокировать целевые антигены и запускать антителозависимые иммунные ответы [11].

Так, для пациентов, у которых заболевание прогрессирует после терапии комбинацией трастузумаба и пертузумаба, стандартным лечением второй линии является трастузумаб эмтанзин. Трастузумаб эмтанзин (T-DM1) состоит из моноклонального антитела IgG1 против HER2, трастузумаба, конъюгированного с ингибитором полимеризации тубулина, микротрубочек, цитотоксическим агентом DM1, через нерасщепляемый тиоэфирный линкер.

Трастузумаб дерукстекан (T-DXd) представляет собой новый HER2-направленный конъюгат антитела с лекарственным средством, состоящий из гуманизированного моноклонального IgG1, антитела против HER2, с той же аминокислотной последовательностью, что и у трастузумаба, конъюгированного с цитотоксическим агентом дерукстеканом. При этом дерукстекан через расщепляемый катепсинами малеимидный тетрапептидный линкер ингибирует ДНК-топоизомеразу I. Повышенная активность катепсинов в злокачественных клетках и в опухолевом микроокружении позволяет направленно высвободить цитотоксическое лекарственное средство [12]. Таким образом, после связывания с HER2 на опухолевых клетках T-DXd подвергается интернализации и внутриклеточному расщеплению линкера лизосомальными ферментами, а после высвобождения цитотоксический агент DXd проникает в ядро и вызывает повреждение ДНК и апоптозную гибель клеток.

Несмотря на внушительные успехи терапии конъюгатами «антитело – лекарственное средство», к ограничениям их применения относятся врожденная и приобретенная резистентность, а также токсичность препаратов. Так, трастузумаб дерукстекан чаще вызывает миелосупрессию и интерстициальные заболевания легких, в частности пневмонию, по сравнению с трастузумабом эмтанзином. В то же время трастузумаб эмтанзин характеризуется более высоким риском развития гепатотоксичности, кардиотоксичности и тромбоцитопении по сравнению с трастузумабом дерукстеканом [13].

Другой мишенью, обеспечивающей интенсивный и нерегулируемый рост клеток, является химерный

белок BCR-ABL1, который способствует злокачественному перерождению и усиленной пролиферации гемопоэтических клеток в костном мозге с их последующим поступлением в кровь. В стволовой клетке крови в результате реципрокной транслокации, при которой часть хромосомы 9, содержащей ген *ABL*, транслоцируется на хромосому 22 и соединяется с геном *BCR*, образуется аномальная филадельфийская хромосома (Ph), несущая онкоген BCR-ABL1. Данный ген кодирует химерный белок BCR-ABL1 в изоформах, различающихся по размеру в зависимости от конкретной точки разрыва в гене BCR, реже от вариаций точки разрыва ABL1.

Три наиболее распространенных изоформы BCR-ABL1 идентифицируются по молекулярной массе белка как p210 (e13a2 или e14a2, 210 кДа), p190 (e1a2, 190 кДа) и p230 (e19a2, 230 кДа) [14]. Экспрессируясь примерно у 95% пациентов, p210 является характерным признаком хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) [15, 16]. От 20 до 30% пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) также являются BCR-ABL1-положительными (Ph + ОЛЛ). Такие пациенты, как правило, имеют худший прогноз по сравнению с BCR-ABL-отрицательными пациентами. Более чем две трети пациентов с Ph-положительным ОЛЛ экспрессируют более короткую изоформу p190, около трети пациентов имеют экспрессию изоформы p210 [17, 18]. Слитный белок BCR-ABL1 обладает повышенной активностью киназы ABL, что приводит к образованию комплекса GRB2/GAB2/SOS и последующей хронической активации сигнальных путей PI3K/AKT, MAPK, а также путей JAK/STAT [19]. Гемопоэтические клетки, трансформированные BCR-ABL1, демонстрируют снижение потребности в факторах роста и апоптоза, а также повышенную жизнеспособность и измененную адгезию [20, 21].

Терапия, нацеленная на мутантный белок BCR-ABL1, в первую очередь была представлена ИТК, действующих путем конкуренции с АТФ в АТФ-связывающем сайте на киназе ABL, что приводит к ингибированию фосфорилирования тирозина белков, участвующих в передаче сигнала. Терапия иматинибом, ИТК первого поколения, улучшила исходы пациентов, продемонстрировав стойкую цитогенетическую ремиссию. Тем не менее некоторые пациенты изначально не реагируют на иматиниб, в то время как у других наблюдается первоначальный ответ, за которым затем следует прогрессирование заболевания. Основной причиной устойчивости к иматинибу являются точечные мутации в киназном домене BCR-ABL, выявляемые в 50% или более случаев. Мутации в киназном домене способны нарушать

связывание иматиниба, что приводит к лекарственной устойчивости [22, 23].

Дазатиниб, нилотиниб и бозутиниб, ИТК второго поколения, ингибируют большинство устойчивых к иматинибу мутаций BCR-ABL1, за исключением T315I. Определяющими для их выбора являются следующие мутации: V229L (предпочтительнее терапия нилотинибом), F317L/V/I/C, T315A (терапия бозутинибом или нилотинибом), Y153H, E255K/V, F259V/C (терапия бозутинибом или дазатинибом) [24]. Мутация T315I, или замена аминокислоты треонина (Thr315) на изолейцин (Ile315) в положении 315 киназного домена ABL1, наиболее устойчива к лекарственному ингибированию из-за ряда факторов, включающих потерю водородных связей с боковой цепью T315 в сайте связывания лекарства и мишени, изменение топологии АТФ-связывающего кармана, а также, вероятно, за счет увеличения собственной киназной активности [22, 23, 25, 26]. По этой причине T315I-мутантный вариант киназы сложно ингибировать с помощью миметиков АТФ.

Асциминиб и понатиниб, ИТК третьего поколения, разработаны для преодоления мутации T315I. Препараты показаны пациентам с ХМЛ или с Ph-положительным ОЛЛ, имеющим резистентность и (или) непереносимость к иматинибу, дазатинибу, нилотинибу или мутацию T315I. Понатиниб представляет собой АТФ-конкурентный ИТК, однако, в отличие от ИТК второго поколения, он не образует водородных связей с боковой цепью T315 в киназном домене ABL. Асциминиб, в свою очередь, имеет иной сайт связывания и представляет собой первый ингибитор STAMP (specifically targeting the ABL myristoyl pocket), подавляющий активность BCR-ABL1-киназы путем взаимодействия с миристоиловым карманом [24, 26].

НАЦЕЛИВАНИЕ НА МИШЕНИ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ УКЛОНЕНИЮ ОТ СУПРЕССОРОВ КЛЕТОЧНОГО РОСТА

Помимо поддержания устойчивой передачи сигналов пролиферативной активности, клеткам опухоли требуется обходить механизмы ингибирования клеточной пролиферации. Переход от одной стадии клеточного цикла к другой контролируется действием циклинзависимых киназ (CDK), активируемых при взаимодействии с циклинами D-типа. Так, переход от фазы G1 к фазе S осуществляется после связывания CDK4/6 с циклином D1 и последующим фосфорилированием ассоциированного с ретинобластомой белка 1 (Rb1). Ингибирование CDK4/6 вызывает дефосфорилирование Rb1, ведущее к ингибированию прогрессирования клеточного цикла [27].

Примерно в 75% случаев диссеминированного рака молочной железы опухоли обладают HER2-отрицательным статусом, однако характеризуются высокой экспрессией рецепторов эстрогена и (или) прогестерона. Таким больным HER2-направленная таргетная терапия не показана. У пациентов с гормонально чувствительными новообразованиями часто наблюдается гиперэкспрессия циклина D1, которому отводится ключевая роль в регуляции клеточного цикла. Стойкая активация комплекса циклин D1-CDK4/6 обуславливает эффективность применения циклинзависимых ингибиторов, таких как абемациклиб, палбоциклиб, рибоциклиб. Их эффект обусловлен ингибированием фосфорилирования Rb и блокированием клеточного цикла из фазы G1 в фазу S, что вызывает апоптоз опухолевых клеток [28].

НАЦЕЛИВАНИЕ НА МИШЕНИ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ИНДУКЦИЮ АНГИОГЕНЕЗА

Прогрессирующий рост опухоли и метастазирование сопровождаются постоянным ростом новых кровеносных сосудов [29], который инициируется «ангиогенным переключением». При «ангиогенном переключении» баланс между проангиогенными и антиангиогенными факторами смещается в сторону активаторов, что приводит к стимулированию васкуляризации тканей [30]. Гипоксия, возникающая в результате быстрого роста опухоли, является основным стимулом продукции индукторов ангиогенеза. Примечательно, что активация ангиогенеза фиксируется даже на ранних стадиях, предшествующих появлению солидных опухолей, что позволяет предположить следующее: индукция ангиогенеза является дискретным событием в канцерогенезе [29].

Мощным проангиогенным фактором является фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Сигнальные белки, включая VEGF, а также основной фактор роста фибробластов (FGF) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF), связываются с рецепторами клеточной поверхности на эндотелиальных клетках сосудов, регулируя «ангиогенный переключатель» [31, 32].

Терапия ИТК, направленная на ангиогенез опухолевого микроокружения, представлена мультицелевыми ингибиторами. Для терапии карциномы щитовидной железы одобрены следующие препараты. Вандетаниб – ИТК, нацеленный на ангиогенный VEGFR-2, EGFR и Ret-тирозинкиназы, участвующий в росте, прогрессировании и ангиогенезе опухоли, а также леватиниб – мультикиназный ингибитор рецепторов VEGF1-3 и FGF1-4. Регорафениб – мультикиназный ингибитор дифенилмочевины, воз-

действующий на ангиогенные (VEGFR1-3, TIE2), стромальные (PDGFR- β , FGFR) и онкогенные рецепторы тирозинкиназы (KIT, RET и RAF), одобрен для терапии метастатического колоректального рака. Акситиниб – ИТК, характеризующийся сродством к рецепторам ангиогенным VEGF1, 2 и 3, PDGFR и c-KIT одобрен для терапии почечно-клеточной карциномы. Сунитиниб – мультикиназный ингибитор, активный в отношении более 80 киназ, среди которых рецепторы тромбоцитарного фактора роста (PDGFR α и PDGFR β), фактора роста сосудистого эндотелия (VEGFR1, VEGFR2 и VEGFR3), а также KIT, FLT, CSF-IR и RET, одобрен для терапии гастроинтестинальных стромальных опухолей, почечно-клеточного рака, нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы. Сорафениб – мультикиназный ИТК, одобрен для терапии гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточного рака и рака щитовидной железы. Бевацизумаб и рамуцирумаб – моноклональные антитела IgG1, селективно связывающиеся с VEGF и ингибирующие его биологическую активность, одобрен для лечения опухолей различных локализаций.

НАЦЕЛИВАНИЕ НА ИММУННЫЕ КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ

В норме клетки, несущие онкогенный потенциал, как обладатели генетических и эпигенетических модификаций, распознаются иммунными клетками как чужеродные и уничтожаются NK-киллерами, дендритными клетками и Т-лимфоцитами. Однако раковые клетки могут эффективно уклоняться от иммунного надзора посредством снижения экспрессии молекул человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), опухоль-ассоциированных антигенов на своей поверхности или же непосредственно блокируя активацию Т-лимфоцитов способами клональной делеции или анергии.

Рецепторы и их лиганды, способствующие ингибированию или активации иммунного ответа, известны как иммунные контрольные точки. К иммунным контрольным точкам, подавляющим пути активации Т-лимфоцитов, относят гликопротеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (CTLA-4), рецептор запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1) и его лиганды (PD-L1 и PD-L2). Считается, что CTLA-4 регулирует пролиферацию Т-лимфоцитов на ранних стадиях иммунного ответа, прежде всего в лимфатических узлах, тогда как PD-1 подавляет Т-клетки на более поздних стадиях иммунного ответа, преимущественно в периферических тканях [33]. Терапия, направленная на ингибирование иммунных контрольных точек, представляет собой

моноклональные антитела, нацеленные на эти молекулы. Блокирование рецепторов или лигандов позволяет предотвратить приобретенную периферическую толерантность к опухолевым антигенам, следовательно, способствует восстановлению противоопухолевого иммунного ответа.

На сегодняшний день существует два основных класса антител иммунных контрольных точек: мАТ, нацеленные на пути CTLA-4, и мАТ, нацеленные на PD-1 (или) его лиганд PD-L1. Первым таким лекарственным средством, одобренным для лечения неоперабельной или метастатической меланомы, стал ипилимумаб, направленный на CTLA-4. Пембролизумаб и ниволумаб, направленные на PD1, также были одобрены для лечения пациентов с поздней стадией меланомы. Позже эти препараты были разрешены для лечения опухолей других локализаций, включая немелкоклеточный рак легких, почечно-клеточный рак (ПКР), плоскоклеточный рак головы и шеи, а также лимфому Ходжкина [34].

Следует отметить, что большинство пациентов не реагируют на монотерапию препаратами этого класса, кроме того, нередки случаи первичной и приобретенной устойчивости к лечению, что приводит к ускользанию иммунитета и прогрессированию опухолевого процесса. Двойная блокада иммунных контрольных точек за счет совместного использования ингибиторов CTLA-4 и PD-1, является более мощной терапевтической стратегией и демонстрирует синергический противоопухолевый эффект. Анти-CTLA-4- и анти-PD-1-агенты усиливают противораковый иммунный ответ посредством разных, но дополняющих друг друга механизмов – действуют в разное время и в разных местах на протяжении эволюции Т-клеток. Одной из таких комбинаций является совместное применение ипилимумаба и ниволумаба.

НАЦЕЛИВАНИЕ НА МИШЕНИ, АКТИВИРУЮЩИЕ ИНВАЗИЮ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ

Распространение опухолевых клеток из первичного очага поражения в другие органы и ткани является основной причиной летальности рака. Согласно каскадной теории метастазирования, этот процесс состоит из последовательных этапов, которые можно объединить в следующие фазы. Первая фаза – физическое распространение опухолевых клеток из первичного очага, которая включает в себя трансформацию опухолевых клеток и клеточную инвазию вглубь окружающих тканей, интраваскляционную опухолевых клеток в лимфатические и кровеносные капилляры и сосуды, миграцию к участкам

высвобождения и экстравазацию. Вторая фаза – колонизация и пролиферация новых опухолевых клеток, приводящие к образованию микрометастазов с возможностью прогрессирования до макроскопических опухолей.

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – процесс морфологической и функциональной трансформации эпителиальных клеток и обретения ими мезенхимальных свойств: повышенная инвазивность, подвижность, способность к миграции. К индукторам ЭМП относят трансформирующий ростовой фактор бета (TGFβ), факторы роста гепатоцитов (HGF), факторы роста фибробластов (FGF), инсулиноподобные факторы роста (IGF) и др.

Рецептор фактора роста гепатоцитов (с-Met) участвует в иницировании и развитии различных видов рака у человека и опосредует пролиферацию, миграцию и инвазию опухолевых клеток. Взаимодействие с-Met и его лиганда HGF активирует передачу сигналов нижестоящий путей PI3K/Akt и Ras/MAPK, запуская реструктуризацию цитоскелета и различные клеточные реакции, включая миграцию клеток, митогенез, морфогенез, пролиферацию, инвазию и ангиогенез.

Низкомолекулярные ингибиторы с-Met можно разделить на селективные и мультикиназные ингибиторы. Капматиниб является селективным АТФ-конкурентным ИТК, нацеленным на с-Met, включая мутантный вариант, полученный путем пропуска экзона 14 (мутация METex14). Пропуск экзона 14 приводит к образованию усеченного рецептора с-Met с отсутствующим регуляторным доменом, что снижает его негативную регуляцию, и, следовательно, возможность деградации белка с-Met, приводит к его устойчивой активации и онкогенезу [35]. К мультикиназным ИТК, в частности с ингибированием с-Met, относятся кризотиниб (мишени ALK, ROS1, с-Met, RON), применяемый для терапии ALK + или ROS1 + HMPJL, и кабозантиниб (мишени MET, VEGF, GAS6 (AXL), RET, ROS1, TYRO3, MER, KIT, TRKB, FLT3 и TIE-2), применяемый для лечения ПКР. Было обнаружено, что амплификация гена *MET* связана с приобретенной устойчивостью терапии к семейству EGFR. Также было показано, что активация *MET* увеличивает экспрессию VEGF-A, способствуя ангиогенезу и росту эндотелиальных клеток.

Терапия моноклональными антителами подразделяется на антитела против с-Met (такие как онартузумаб и эмбегузуумаб), антитела против HGF (такие как фиклатузуумаб и рилотумумаб), одобренные FDA, но на данный момент еще не разрешенные в России [36].

Таблица 1

Зарегистрированные в Российской Федерации ингибиторы тирозинкиназ, классифицированные в зависимости от мишени

Механизм действия	Мишень (киназы)	Название	Показания
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (ангиогенез)	VFGFR1, VFGFR2, VFGFR3	Акситиниб (Акситиниб, Инлита®)	Почечно-клеточный рак
	VEGFR1 (FLT1), VEGFR2 (KDR) и VEGFR3 (FLT4), FGFR1, FGFR2, FGFR3, PDGFR α , а рецепторы тирозинкиназ KIT и RET	Ленватиниб (Ленватиниб, Ленвима®)	Рак щитовидной железы
	VFGFR1, VFGFR2, VFGFR3, PDGFR α и β , FGFR1, FGFR2, FGFR3	Нинтеданиб (Варгатеф®)	Немелкоклеточный рак легкого
	TIE, KIT, RET, RAF-1, BRAF, BRAFv600E, PDGFR, FGFR, CSF1R	Регорафениб (Стиварга®)	Колоректальный рак, гастроинтестинальные стромальные опухоли
	Мультикиназный (>80 киназ), в том числе PDGFR α , PDGFR β , VEGFR1, VEGFR2 и VEGFR3, KIT, FLT, CSF-IR, RET	Сунитиниб (Флутриксан, Сунитиниб-Амедарт, Сунитиниб-Химрар, Валеотиниб, Сутент®, Сунитиниб-Промомед)	Гастроинтестинальные стромальные опухоли, почечно-клеточный рак, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (ангиогенез, пролиферация)	VEGF, EGFR/HER1	Вандетаниб (Капрелса)	Рак щитовидной железы
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (пролиферация)	EGFR/HER1, HER2, HER3 и HER4	Афатиниб (Гиотриф®, Гефитиниб-Промомед)	Немелкоклеточный рак легкого с мутациями EGFR
	EGFR/HER1, HER2, HER3 и HER4	Гефитиниб (Гефитиниб, Валкира®, Гефитиниб-Тл, Гетинекс®, Гефтесса, Лангерра)	Немелкоклеточный рак легкого с мутациями EGFR
	EGFR/HER1, HER2 и HER4	Дакомитиниб (Визимпро®)	Немелкоклеточный рак легкого с мутациями EGFR
	EGFR/HER1, HER2	Лапатиниб (Брестокэр, Лапатиниб-Промомед, Лапатиниб-Химрар, Тайверб®)	HER2+ рак молочной железы
	EGFR/HER1	Осимертиниб (Осимертиниб, Рецевмо™)	Немелкоклеточный рак легкого с мутациями EGFR (делеции в экзоне 19 или замены L858R в экзоне 21, с мутацией T790M)
	EGFR/HER1	Эрлотиниб (Эрлотиниб, Эрлатера, Эрлотиниб-Тл)	Немелкоклеточный рак легкого
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (уклонение от супрессоров клеточного роста)	CDK4/6	Абемациклиб (Зенлистик)	HR+ и HER2- рак молочной железы
	CDK4/6	Палбоциклиб (Итулси)	HR+ и HER2- рак молочной железы
	CDK4/6	Рибоциклиб (Рисарг)	HR+ и HER2- рак молочной железы
Ингибирование внутриклеточных киназ (нижестоящих сигнальных путей)	MEK	Биниметиниб (Мектови)	Меланома
	MEK1/2	Кобиметиниб (Котеллик®)	Меланома с мутацией BRAF V600
	MEK1/2	Селуметиниб (Коселуго)	Плексиформная нейрофиброма
Ингибирование внутриклеточных киназ (нижестоящих сигнальных путей)	BRAF	Вемурафениб (Зелбораф®)	Меланома с мутацией BRAF V600
	BRAF	Энкарафениб (Брафтови)	Меланома с мутациями BRAF, рак толстой кишки с мутациями BRAF
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка и внутриклеточных киназ	c-CRAF, BRAF, мутантная BRAF, KIT, FLT-3, RET, RET/PTC, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3 и PDGFR β	Сорафениб (Сорафениб, Сорафениб-Амедарт, Эффароникс®, Нексавар®, Сорафениб-Промомед)	Гепатоцеллюлярная карцинома, почечно-клеточный рак и рак щитовидной железы

Продолжение табл. 1

Механизм действия	Мишень (киназы)	Название	Показания
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка	Тирозинкиназа Брутона (BTK)	Занубрутиниб (Брукинза®)	Мантийноклеточная лимфома
	Тирозинкиназа Брутона (BTK)	Ибрутиниб (Ибрутиниб-Натив)	Мантийноклеточная лимфома
	Тирозинкиназа Брутона (BTK)	Акалабрутиниб (Калквенс®)	Хронический лимфоцитарный лейкоз/мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома, мантийноклеточная лимфома
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка	BCR-ABL1, c-KIT	Иматиниб (Иматиниб, Неопакс®, Иматиниб-Тева, Иматиниб Гриндекс)	Ph+ хронический миелолейкоз, Ph+ острый лимфобластный лейкоз
	BCR-ABL1, BCR-ABL1 мутантные формы за исключением T315I мутации, c-KIT, Eph, PDGFβ	Нилотиниб (Нилотиниб, Нилотиниб-Промомед)	Ph+ хронический миелоидный лейкоз
	BCR-ABL1, BCR-ABL1 мутантные формы за исключением T315I мутации, семейство Src (в том числе, Src, Lyn и Hck), c-KIT, Eph, PDGFβ	Дазатиниб (Дазатиниб, Мирсониб, Дазатиниб-натив, Дазатиниб-Химрар)	Ph+ хронический миелоидный лейкоз, Ph+ острый лимфобластный лейкоз
	BCR-ABL1, BCR-ABL1 мутантные формы за исключением T315I мутации, семейство Src (в том числе Src, Lyn и Hck)	Бозутиниб (Бозутиниб, Бозулиф)	Ph+ хронический миелоидный лейкоз
	BCR-ABL1, BCR-ABL1 мутантные формы (в том числе T315I мутация)	Асциминиб (Сцембликс)	Ph+ хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз с мутацией T315I
	BCR-ABL1, BCR-ABL1 мутантные формы (в том числе T315I мутация)	Понатиниб (Айклусиг®)	Ph+ хронический миелоидный лейкоз, Ph+ хронический миелоидный лейкоз с мутацией T315I, Ph+ острый лимфобластный лейкоз
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка	ALK	Алектиниб (Алеценза®)	ALK+ немелкоклеточный рак легкого
	ALK	Церитиниб (Зикадия®)	ALK+ немелкоклеточный рак легкого
	ALK, ROS1, TYK1, FER, FPS, TRKA, TRKB, TRKC, FAK, FAK2 и ACK.	Лорлатиниб (Лорвиква®)	Карцинома щитовидной железы, ALK+ немелкоклеточный рак легкого
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (пролиферация, инвазия-метастазирование и др.)	ALK, ROS1, c-Met, RON	Кризотиниб (Ксалкори®)	ALK+ или ROS1+ немелкоклеточный рак легкого
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (инвазия-метастазирование)	MET	Капматиниб (Табректа)	Немелкоклеточный рак легкого с мутацией METex14
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (инвазия-метастазирование, ангиогенез и др.)	MET, VEGF, GAS6 (AXL), RET, ROS1, TYRO3, MER, KIT, TRKB, FLT3 и TIE-2	Кабозантиниб (Кабометикс®)	Почечно-клеточный рак
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка (мутация генома)	PARP1, PARP2 и PARP3	Олапариб (Линпарза®)	Рак яичников, маточных труб или перитонеального рака с мут гена BRCA

Окончание табл. 1

Механизм действия	Мишень (киназы)	Название	Показания
Ингибирование гиперэкспрессированного или мутантного белка	TRKA, TRKB и TRKC, кодируемые генами <i>NTRK1</i> , <i>NTRK2</i> и <i>NTRK3</i>	Ларотректиниб (<i>Витракви</i> ®)	Солидные опухоли, экспрессирующие слитный ген <i>NTRK</i>
	TRKA, TRKB и TRKC, кодируемые генами <i>NTRK1</i> , <i>NTRK2</i> и <i>NTRK3</i> , <i>ROS1</i>	Энтректиниб (<i>Розлитрек</i> ®)	Солидные опухоли, экспрессирующие слитный ген <i>NTRK</i> ROS1- положительный немелкоклеточный рак легкого

Таблица 2

Классификация таргетных препаратов на основе моноклональных антител (в том числе конъюгатов моноклональных антител с цитотоксическими агентами), зарегистрированных в Российской Федерации

Механизм канцерогенеза	Мишень	Название	Показания
Проллиферативная передача сигнала	EGFR	Цетуксимаб (Эрбитукс®)	Метастатический колоректальный рак, рак головы и шеи
		Панитумумаб (Вектибикс)	Метастатический колоректальный рак с генами <i>RAS</i> дикого типа в опухоли
	HER2	Пертузумаб (Перьета®)	Рак молочной железы
		Трастузумаб (Герцептин®, Гертикад®, Тразимера®)	Рак молочной железы
		Трастузумаб дерукстекан (Энхерту)	Рак молочной железы
		Трастузумаб эмтанзин (Кадсила®)	Рак молочной железы
Ангиогенез	VEGF	Бевацизумаб (Авастин®, Авегра® Биокад, Версаво®, Стибевара®)	Метастатический колоректальный рак
		Рамуцирумаб (Цирамза®)	Рак желудка, аденокарцинома гастроэзофагеального перехода, немелкоклеточный рак легкого, метастатический колоректальный рак, гепатоцеллюлярная карцинома
Иммунотерапия: иммунные контрольные точки	CTLA- 4	Ипилимумаб (Ервой®)	Меланома
		Тремелимумаб (Имджудо)	Немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак печени и гемобластозы
	PD-L1	Авелумаб (Бавенсио®)	Метастатическая карцинома Меркеля
		Атезолизумаб (Тецентрик®)	Местнораспространенный или метастатический уротелиальный рак
		Дурвалумаб (Имфинзи®)	Немелкоклеточный рак легкого
	PD-1	Ниволумаб (Опдиво®)	Меланома, немелкоклеточный рак легкого, распространенный почечно-клеточный рак
		Пембролизумаб (Китруда®, Пемброния)	Меланома
		Пролголимаб (Фортека®)	Меланома
Иммунотерапия	CD19, CD3	Блинатумомаб (Блинцито®)	Острый лимфобластный лейкоз
	CD20	Обинутузумаб (Газива®)	Хронический лимфолейкоз
		Офатумумаб (Бонспри®)	Хронический лимфоцитарный лейкоз
		Ритуксимаб (Реддитукс®, Ритуксара®, Ацеллбия®, Мабтера®)	В-клеточные неходжкинские лимфомы
	CD20, CD3	Мосунетузумаб (Лансумно®)	Фолликулярная лимфома
	CD22	Инотузумаб озогамидин (Биспонса)	CD22-положительный В-клеточный острый лимфобластный лейкоз
	CD30	Брентуксимаб ведотин (Адцетрис®)	CD30-положительная лимфома Ходжкина
	CD33	Гемтузумаб озогамидин (Милотарг®)	CD33-положительный острый миелоидным лейкозом
	CD38	Даратумумаб (Дарзалекс)	Множественная миелома
		Изатуксимаб (Сарклиза®)	Множественная миелома
	CD79b	Полатузумаб ведотин (Полайви®)	Диффузная В-крупноклеточная лимфома
	GD2	Динутуксимаб бета (Карзиба)	Нейробластома

Окончание табл. 2

Механизм канцерогенеза	Мишень	Название	Показания
	SLAMF7	Элотузумаб (Эмплисити®)	Множественная миелома
Пролиферация, миграции и адгезия	Нектин-4	Энфортумаб ведотин (Падцев Онко)	Немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка новых таргетных препаратов, характеризующихся низкой токсичностью, а также способных обходить механизмы резистентности – важная задача медицины XXI в. Понимание механизмов развития злокачественных образований и определение ключевых мишеней патогенеза того или иного процесса в эволюции формирования опухоли является необходимым условием для решения данной задачи.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- O'Neill A.C., Alessandrino F., Tirumani S.H., Ramaiya N.H. Hallmarks of cancer in the reading room: a guide for radiologists. *American Journal of Roentgenology*. 2018;211(3):470–484. DOI: 10.2214/AJR.17.19425.
- Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646–674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- Zhang J., Yang P.L., Gray N.S. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nature Reviews Cancer*. 2009;9(1):28–39. DOI: 10.1038/nrc2559.
- Roskoski R.Jr. Classification of small molecule protein kinase inhibitors based upon the structures of their drug-enzyme complexes. *Pharmacological Research*. 2016;103:26–48. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.10.021.
- Waarts M.R., Stonestrom A.J., Park Y.C., Levine R.L. Targeting mutations in cancer. *The Journal of Clinical Investigation*. 2022;132(8):e154943. DOI: 10.1172/JCI154943.
- Weiner L.M., Surana R., Wang S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2010;10(5):317–327. DOI: 10.1038/nri2744.
- Rinne S.S., Orlova A., Tolmachev V. PET and SPECT Imaging of the EGFR Family (RTK Class I) in Oncology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(7):3663. DOI: 10.3390/ijms22073663.
- Appert-Collin A., Hubert P., Crémel G., Bennasroune A. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion. *Frontiers in Pharmacology*. 2015;6:283. DOI: 10.3389/fphar.2015.00283.
- Khoury R., Saleh K., Khalife N., Saleh M., Chahine C., Ibrahim R. et al. Mechanisms of Resistance to Antibody-Drug Conjugates. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(11):9674. DOI: 10.3390/ijms24119674.
- Diamantis N., Banerji U. Antibody-drug conjugates – an emerging class of cancer treatment. *British Journal of Cancer*. 2016;114(4):362–367. DOI: 10.1038/bjc.2015.435.
- Chen Y.F., Xu Y.Y., Shao Z.M., Yu K.D. Resistance to antibody-drug conjugates in breast cancer: mechanisms and solutions. *Cancer Communications*. 2023;43(3):297–337. DOI: 10.1002/cac2.12387.
- Indini A., Rijavec E., Grossi F. Trastuzumab Deruxtecan: Changing the destiny of HER2 expressing solid tumors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(9):4774. DOI: 10.3390/ijms22094774.
- Ma P., Tian H., Shi Q., Liu R., Zhang Y., Qi X., Chen Y. High risks adverse events associated with trastuzumab emtansine and trastuzumab deruxtecan for the treatment of HER2-positive/mutated malignancies: a pharmacovigilance study based on the FAERS database. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2023;22(8):685–696. DOI: 10.1080/14740338.2023.2204228.
- Braun T.P., Eide C.A., Druker B.J. Response and resistance to BCR-ABL1-targeted therapies. *Cancer Cell*. 2020;37(4):530–542. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.006.
- Pane F., Frigeri F., Sindona M., Luciano L., Ferrara F., Ciminno R. et al. Neutrophilic-chronic myeloid leukemia: a distinct disease with a specific molecular marker (BCR/ABL with C3/A2 junction). *Blood*. 1996;88(7):2410–2414. DOI: 10.1182/blood.V88.7.2410.bloodjournal8872410.
- Adnan-Awad S., Kim D., Hohtari H., Javarappa K.K., Brandstetter T., Mayer I. et al. Characterization of p190-Bcr-Abl chronic myeloid leukemia reveals specific signaling pathways and therapeutic targets. *Leukemia*. 2021;35(7):1964–1975. DOI: 10.1038/s41375-020-01082-4.
- Moorman A.V., Chilton L., Wilkinson J., Ensor H.M., Bown N., Proctor S.J. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2010;115(2):206–214. DOI: 10.1182/blood-2009-07-232124.
- Chisoso S.L., Bodenteich A., Wang Y.-F., Buriatou S.W., Cran D., Cliftree J. et al. Sequence and analysis of the human ABL gene, the BCR gene, and regions involved in the Philadelphia chromosomal translocation. *Genomics*. 1995;27(1):67–82. DOI: 10.1006/geno.1995.1008.
- Braun T.P., Eide C.A., Druker B.J. Response and resistance to BCR-ABL1-targeted therapies. *Cancer Cell*. 2020;37(4):530–542. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.006.
- Sattler M., Griffin J.D. Molecular mechanisms of transformation by the BCR-ABL oncogene. *Seminars in Hematology*. 2003;40:4–10. DOI: 10.1053/she.2003.50034.
- García-Gutiérrez V., Breccia M., Jabbour E., Mauro M., Cortes J.E. A clinician perspective on the treatment of chronic myeloid leukemia in the chronic phase. *Journal of Hematology & Oncology*. 2022;15(1):90. DOI: 10.1186/s13045-022-01309-0.
- Iacob R.E., Pene-Dumitrescu T., Zhang J., Gray N.S., Smithgall T.E., Engen J.R. Conformational disturbance in Abl kinase upon mutation and deregulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(5):1386–1391. DOI: 10.1073/pnas.0811912106.

23. Tokarski J.S., Newitt J.A., Chang C.Y., Cheng J.D., Wittekind M., Kiefer S.E. et al. The structure of Dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. *Cancer Research*. 2006;66:5790–5797. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4187.
24. Туркина А.Г., Кузьмина Е.А. Результаты применения асциминиба, первого аллостерического ингибитора BCR::ABL1-тирозинкиназы, у больных хроническим миелолейкозом со множественной резистентностью к предшествующей терапии. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2023;16(3):311–320.
25. Куцев С.И., Вельченко М.В. Значение анализа мутаций гена *Bcr-Abl* в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2008;1(3):190–199.
26. O'Hare T., Shakespeare W.C., Zhu X., Eide C., Rivera V., Wang F. et al. AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer Cell*. 2009;16(5):401–412. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.09.028.
27. O'Leary B., Finn R.S., Turner N.C. Treating cancer with selective CDK4/6 inhibitors. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2016;13(7):417–430. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.26.
28. Braal C.L., Jongbloed E.M., Wilting S.M., Mathijssen R.H.J., Koolen S.L.W., Jager A. Inhibiting CDK4/6 in breast cancer with palbociclib, ribociclib, and abemaciclib: similarities and differences. *Drugs*. 2021;81(3):317–331. DOI: 10.1007/s40265-020-01461-2.
29. Hanahan D., Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*. 1996;86(3):353–364. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80108-7.
30. La Mendola D., Trincavelli M.L., Martini C. Angiogenesis in disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18):10962. DOI: 10.3390/ijms231810962.
31. Tirumani S.H., Fairchild A., Krajewski K.M., Nishino M., Howard S.A., Baheti A.D. et al. Anti-VEGF molecular targeted therapies in common solid malignancies: comprehensive update for radiologists. *Radio Graphics*. 2015;35(2):455–474. DOI: 10.1148/rg.352140119.
32. Cheng N., Chytil A., Shyr Y., Joly A., Moses H.L. Transforming growth factor-beta signaling-deficient fibroblasts enhance hepatocyte growth factor signaling in mammary carcinoma cells to promote scattering and invasion. *Molecular Cancer Research*. 2008;6(10):1521–1533. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-2203.
33. Buchbinder E.I., Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: similarities, differences, and implications of their inhibition. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016;39(1):98–106. DOI: 10.1097/COC.0000000000000239.
34. Nikoo M., Rabiee F., Mohebbi H., Eghbalifard N., Rajabi H., Yazdani Y. et al. Nivolumab plus ipilimumab combination therapy in cancer: Current evidence to date. *International Immunopharmacology*. 2023;117:109881. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.109881.
35. Dhillon S. Capmatinib: first approval. *Drugs*. 2020;80(11):1125–1131. DOI: 10.1007/s40265-020-01347-3.
36. Drilon A., Cappuzzo F., Ou S.I., Camidge D.R. Targeting MET in lung cancer: Will expectations finally be MET? *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(1):15–26. DOI: 10.1016/j.jtho.2016.10.014.

Информация об авторах

Боденко Виталина Васильевна – лаборант-исследователь, Научно-образовательная лаборатория химико-фармацевтических исследований, СибГМУ; аспирант, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск, bodenkovitalina@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5097-9737>

Ларькина Мария Сергеевна – д-р фармацевт. наук, профессор кафедры фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск, marialarkina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1176-2441>

Прач Анастасия Александровна – аспирант, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск, nastya.prach@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6975-2361>

Плотников Евгений Владимирович – канд. хим. наук, доцент, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск, plotnikovev@tpu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4374-6422>

Белоусов Михаил Валерьевич – д-р фармацевт. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск, belousov.mv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2153-7945>

Чернов Владимир Иванович – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, руководитель отделения радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, chernov@tnimc.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8753-7916>

(✉) **Боденко Виталина Васильевна**, bodenkovitalina@gmail.com

Поступила в редакцию 11.03.2024;
одобрена после рецензирования 18.03.2023;
принята к публикации 20.03.2024

УДК 616.8-009.17-053.9-07-092:616.858
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-114-122>

Синдром старческой астении и его особенности при болезни Паркинсона

Гусева О.В.

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

РЕЗЮМЕ

Синдром старческой астении распространен во всем мире, и его появление связано с увеличением продолжительности жизни. В лекции показаны мультифакторность формирования синдрома: изменения физического здоровья, социальные и психологические факторы, а также гендерные особенности и влияние возраста. Классическая диагностика синдрома состоит в оценке физической слабости по фенотипу Фрайда. Современный взгляд на проблему дополняет диагностику индексами слабости для характеристики мультифакторности развития и применением цифровых носимых технологий для длительного мониторингирования функциональных показателей пациента.

Дано развернутое обоснование влияния коморбидности на развитие старческой астении. Особенностью синдрома старческой астении при болезни Паркинсона является трудность его диагностики при возможно высокой распространенности. Исследования старческой астении при болезни Паркинсона малочисленны, вероятно, из-за схожести симптомов болезни и синдрома.

Определены возможные риски возникновения старческой астении при болезни Паркинсона: влияние различных форм болезни Паркинсона, пола, когнитивных и функциональных нарушений, полипрагмазии, дозы леводопы. Показана роль комплексной мультидисциплинарной реабилитации и самостоятельной физической активности при сочетании болезни Паркинсона и синдрома старческой астении.

Ключевые слова: синдром старческой астении, диагностика, коморбидность, болезнь Паркинсона

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Гусева О.В. Синдром старческой астении и его особенности при болезни Паркинсона. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):114–122. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-114-122>.

Syndrome frailty and his features in Parkinson's disease

Guseva O.V.

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

ABSTRACT

Syndrome frailty is widespread all over the world and its appearance is associated with an increase in life expectancy. The lecture shows the multifactorial nature of the syndrome: changes in physical health, social and psychological factors, gender characteristics and age. The classic diagnosis of the syndrome consists in assessing

physical weakness according to the Fried phenotype. The modern view of the problem complements the diagnosis with indices of weakness to characterize the multifactorial development and the use of digital wearable technologies for long-term monitoring of the patient's functional parameters.

The lecture provides a detailed justification of the effect of comorbidity on the development of syndrome frailty. The syndrome frailty is difficult diagnosed in Parkinson's disease, because it has high prevalence in these. Studies of syndrome frailty in Parkinson's disease are few, probably due to the similarity of the symptoms of the disease and the syndrome.

The lecture identifies the possible risks of syndrome frailty in Parkinson's disease: the influence of various forms of Parkinson's disease, gender, cognitive and functional disorders, polypharmacy, levodopa doses. The role of multidisciplinary rehabilitation's team and independent physical activity in the combination of Parkinson's disease and syndrome frailty is shown.

Keywords: syndrome frailty, diagnosis, comorbidity, Parkinson's disease

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

Source of financing. The author claims a lack of funding.

For citation: Guseva O.V. Syndrome frailty and his features in Parkinson's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):114–122. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-114-122>.

ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире население стареет быстрыми темпами, намного быстрее, чем это происходило в прошлом. Например, в Китае в 2021 г. пожилое население составляло 14,2%, являясь в абсолютном количестве самым большим в мире. К 2050 г. популяция пожилых лиц в Китае увеличится до 395 млн человек, что превысит сегодняшнюю численность населения США в 1,2 раза. При этом коэффициент общей фертильности (количество родов на 1 женщину в течение репродуктивного периода) был 6 : 1 в 1955 г. и 1 : 3 – в 2020 г. [1].

Изменение демографической ситуации, связанное с постарением населения, всесторонне влияет на жизнь общества. Поскольку кроме физиологических изменений при старении, которые могут снижать в разной степени функциональные и адаптационные возможности, у пожилого человека часто имеется целый ряд заболеваний с сопутствующей медикаментозной терапией, неблагоприятными особенностями стиля жизни и социальными условиями [1–4]. Эти факторы способствуют повышению нагрузки на здравоохранение, инвалидности, неспособности к самообслуживанию, необходимости социального ухода. К крайней степени сочетания факторов можно отнести синдром старческой астении.

Синдром характеризуется прогрессивным снижением силы, силовой выносливости, функционального резерва, повышением уязвимости организма к стрессовым факторам, зависимости от других лиц при повседневной активности и неблагоприятными исходами [2]. Ситуация осложняется тем, что снижение рождаемости и увеличение популяции пожилых

лиц ведут к уменьшению занятых в труде лиц среднего возраста и увеличению работающих пожилых лиц, в том числе с сопутствующими заболеваниями и сниженным функциональным статусом [5]. Принимая все это во внимание, руководители многих стран, чтобы сохранить экономическую стабильность, не могут отказаться от планирования повышения пенсионного возраста. В связи с этим появился новый термин «ожидаемая продолжительность здоровой трудовой деятельности» [5].

Чтобы найти консенсус в этой ситуации, Генеральной Ассамблеей ООН была задекларирована декада 2020–2030 здорового старения. В рамках этой декады запланированы различные мероприятия по улучшению жизни пожилых людей сегодня и в будущем. К ним относится в том числе раннее выявление и терапия синдрома старческой астении, а также профилактическая работа среди пожилых лиц и молодежи и создание модели здорового старения [1].

Цель лекции – ознакомление медицинской общности с синдромом старческой астении и его проявлениями, трудностью диагностики синдрома при болезни Паркинсона.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ СТАРЧЕСКОЙ АСТЕНИИ

Распространенность старческой астении во всем мире высокая [3]. Диапазон колебаний – от 4 до 59% среди пожилых людей. Синдром широко распространен в популяции пожилых лиц не только в странах с высоким уровнем дохода с большей продолжительностью жизни, но и в странах с низким уровнем доходов, например в Бразилии и Вьетнаме [1–4, 6].

Социальное и экономическое неравенство приводит к разной частоте встречаемости синдрома. Даже в одной стране частота синдрома может варьировать. Например, синдром встречается в европейских странах чаще в южной части, чем в северной, в соответствии с географическим градиентом распространенности сопутствующей патологии [7].

Чаще всего цикл формирования старческой астении включает плохое по качеству и (или) количеству питание, прогрессивное снижение мышечной массы (саркопению), снижение силы, мобильности и активности повседневной жизни. Возрастная атрофия мышечных волокон II типа, ответственных за силовую нагрузку, является основной причиной снижения физических возможностей. Тем не менее не у каждого пожилого человека одного и того же возраста диагностируют старческую астению.

Старческая астения – мультифакториальный синдром, включающий различные факторы: физические, психологические и социальные. Взаимодействие между этими факторами определяет тяжесть синдрома. Сопутствующие заболевания, такие как деформирующий артроз, болезнь Паркинсона, сахарный диабет и другие, способствуют его появлению [8, 9]. Синдром старческой астении провоцируют как заболевания, так и особенности стиля жизни. Социальная изоляция, проживание в доме престарелых, прием медицинских препаратов без учета побочных эффектов, полипрагмазия, сидячий образ жизни ускоряют развитие синдрома [10, 11].

Женщины чаще страдают от старческой астении [12]. Несмотря на большую ожидаемую продолжительность жизни, они имеют в отличие от мужчин того же возраста порой несколько заболеваний, но не критичных для жизни. Этот диссонанс обозначен как мужской – женский парадокс выживаемости. Мужчины болеют чаще заболеваниями, угрожающими жизни: ишемическая болезнь сердца и инсульт. Кроме того, мужчины чаще страдают сахарным диабетом 2-го типа, неспецифическими заболеваниями легких и хроническим обструктивным бронхитом, язвенной болезнью и болезнью Паркинсона. Женщины того же возраста чаще имеют нефатальные болезни, снижающие качество жизни: мигрень, мышечно-скелетную патологию, аутоиммунные болезни [7, 13]. Онкологическая патология до пожилого возраста преобладает у мужчин, с 75 лет – у женщин.

Частота старческой астении увеличивается с возрастом пожилого человека [10]. Поскольку продолжительность жизни мужчин меньше, чем женщин, с увеличением возраста частота синдрома увеличивается у женщин.

ДИАГНОСТИКА И КЛИНИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ СИНДРОМА СТАРЧЕСКОЙ АСТЕНИИ

Опытный врач, имеющий знания о синдроме, интуитивно понимает, что перед ним больной с синдромом старческой астении. Пациенты медленно двигаются, очень быстро устают. Они жалуются, что не могут выполнять элементарную бытовую физическую нагрузку. На настоящий момент нет единого соглашения о диагностике синдрома. Врачи используют различные оценочные шкалы. Наиболее часто – определение фенотипа Фрайда для диагностики слабости [2, 14].

Фенотип Фрайда включает следующие критерии: вопрос о потере веса более 5 кг за год, динамометрию кисти, вопрос об усталости в последний месяц, заданный в произвольной форме либо с использованием вопросников, низкую скорость ходьбы: менее 4 м за 5 с и вопрос о повседневной физической активности [2]. Слабость определяют при трех положительных критериях, преслабость – при одном или двух положительных критериях [15]. Критерии Фрайда критикуют, поскольку ими оценивается только физическая слабость.

Новая концепция синдрома старческой астении интерпретирует синдром как множественный домен, состоящий из биологических, социальных, психологических и функциональных нарушений [15]. Поэтому кроме оценки фенотипа Фрайда используют другие шкалы. Например, шкала Rockwood включают семь пунктов. Шкала EFS (Edmonton Frail scale) состоит из девяти компонент. В индекс FI-CGA (Frailty Index Comprehensive Geriatric assessment) добавлено дополнительно 10 когнитивных компонент. Индикатор слабости Тильборга (Tilburg frailty indicator) состоит из оценки физического, психологического и социального состояния пожилого человека. Шкалы включают вопросы об образовании, питании, принимаемых лекарственных препаратах, эпизодах падения, выявляют нарушения когнитивного статуса, функции мочевого пузыря и др. [15, 16].

Кроме шкал применяют современную инструментальную диагностику: цифровые носимые технологии отдельно или в сочетании с платформами, видеокамерами. Особенно важна диагностика повседневной активности, включающей ходьбу, подъем по лестнице, умывание, одевание, принятие пищи, отход ко сну [16, 17]. Повседневную активность можно сочетать с двойным заданием, включающим когнитивную часть. Инерционные сенсоры носимых технологий на талии и нижних конечностях на основе работы акселерометра или гироскопа используют

для характеристики ходьбы. Дополнительные инерционные датчики на талии помогают диагностировать нарушения баланса [16–19].

Полученная в ходе мониторинга площадь стабильности пожилого человека взаимосвязана с критериями фенотипа Фрайда. Для диагностики используют встроенные датчики в предметы, окружающие пожилого человека в виде eChair (электронное кресло), ePod (электронный ковер) и другие, комбинируя диагностику носимой технологии с другими показателями интернета вещей. Характеристика ходьбы включает увеличение времени фазы стояния на двух ногах, поскольку это компенсирует недостаточность баланса при движении, нерегулярный паттерн и снижение скорости ходьбы. Выполнение теста «Встань и иди» оценивают с помощью инерционных сенсоров и 3D-анатомических данных движения [17–20]. Длительно мониторируемые показатели в виде больших данных проходят машинное обучение и формируют модель фенотипа, включающего кинетические параметры. Оценка падений проводится на основе показателей баланса и ходьбы в сочетании с историей падений, векторного машинного обучения с формированием модели индекса слабости [19, 20].

В индексе слабости ключевым фактором является скорость ходьбы, все остальные данные интегрируются с этим параметром. Аккуратной предсказывающей модели синдрома старческой астении на сегодняшний день нет. Будущее цифровой медицины за exergame technology – интерактивной игровой платформой, являющейся диагностическо-тренировочной базой для исследования наличия и обратимости синдрома старческой астении [16].

Несмотря на то, что основные возрастные изменения состава тела происходят в мышечных волокнах силового типа, синдром затрагивает различные ткани и системы: нервную, эндокринную, иммунную и мышечно-скелетную [17]. Связь когнитивных нарушений и физической слабости широко известна. Однако коморбидность не предполагает понятие когнитивной слабости в виде деменции. Когнитивная слабость определяется как одновременное присутствие синдрома старческой астении, базируемое на фенотипе Фрайда, и когнитивных нарушений без деменции [15, 21–25].

Когнитивная слабость подразделяется на два подтипа: обратимая и потенциально обратимая слабость. Обратимая когнитивная слабость включает неполный фенотип Фрайда – преслабость и субъективные когнитивные нарушения и (или) положительные биомаркеры. Потенциально обратимая слабость – это более тяжелая степень когнитивной слабости, включающей мягкие когнитивные нарушения и пол-

ный фенотип Фрайда. Следующий этап развития предполагает неблагоприятные последствия когнитивной слабости: падения, инвалидность, болезнь Альцгеймера, деменцию, не относящуюся к болезни Альцгеймера, и смерть. Распространенность когнитивной слабости 10,7–22,0% в клинических исследованиях и 1,0–4,4% – в популяционных. Понимание физиологической связи когнитивных нарушений и физической слабости поможет направить развитие гериатрии и неврологии на создание модели лечения двух патологических состояний [21].

При когнитивной слабости наблюдается полиморбидность патологии вследствие хронического воспаления с изменением иммунных маркеров, эндокринной системы, оксидативного стресса, воздействующих негативно на нервную систему и мышечную ткань. Так, например, недостаток интерлейкина (IL) 10 повышает экспрессию медиатора воспаления, ядерного фактора NF-κB, снижает метаболизм мышц и отрицательно влияет на скорость обработки информации. Недостаток гормона роста приводит к сочетанному снижению массы мозга и мышечной массы. Пожилые женщины, у которых часто обнаруживают старческую астению, имеют низкий уровень грелина и последствия в виде снижения силы мышц, выносливости, нарушения памяти и скорости обработки информации [21].

Старческая астения может сочетаться с ортостатической гипотензией. Ортостатическая гипотензия встречается у 30% лиц старше 65 лет [26]. Частота ортостатической гипотензии в популяции пожилых людей зависит от коморбидности, наиболее часто патология наблюдается при болезни Паркинсона, мультисистемной атрофии, деменции с тельцами Леви. Ортостатическая гипотензия ассоциирована с падениями, сердечной недостаточностью, инсультом, снижением качества жизни и повышенным риском смерти [27]. Физическая слабость и ортостатическая гипотензия суммируют вероятность неблагоприятных последствий. Гомеостаз поддержания артериального давления включает интегрированную деятельность нервной системы, сердца, сосудов, мышц. Возрастные изменения этих органов и систем ведут к снижению барорефлекса, гипоперфузии мозга, сетчатки и мышц, головокружению, потере сознания [26, 27].

Старческая астения может сопровождаться болевым синдромом [28]. Хроническая боль встречается у 66% пожилых людей, у женщин в 3 раза чаще, чем у мужчин. Наиболее часто пожилые люди жалуются на боли в нижней части спины: 33% лиц старше 65 лет. Причиной боли может быть так же деформирующий остеоартроз, встречающийся у 12% ми-

ровой популяции пожилых лиц, ревматоидный полиартрит – у 1–2%. Болевой синдром сопровождается злокачественные новообразования, нейродегенеративные болезни, сахарный диабет, заболевания почек и печени [28].

Депрессия снижает болевой порог, нейровоспаление рассматривают как общую патогенетическую ступень в развитии депрессии и боли. При депрессии пациенты жалуются на разнообразные, распространенные боли. Тяжесть синдрома старческой астении при этом усугубляется [28]. И наоборот, физическая слабость является предиктором депрессии. У 30,3% пациентов с синдромом старческой астении без депрессии болезнь впоследствии диагностируется. Длительная депрессия – тяжелое бремя для пациента и общества вследствие хронического течения и рецидивов. Особенность депрессии в пожилом возрасте – нарушение настроения различной этиологии, сочетающееся с высокой коморбидностью, когнитивной недостаточностью и физическими страданиями.

По литературным данным, старческая астения встречается у 6,8% пожилых пациентов с депрессией, в домах престарелых сочетание отмечено чаще – от 10,7 до 40% [29, 30]. Тяжесть синдрома старческой астении отрицательно коррелирует с длительностью ремиссии депрессии [29]. Однако тяжелый синдром влияет на частоту ремиссий и повышает риск возникновения депрессии: 75% пациентов с тяжелой депрессией имеют синдром старческой астении [29]. Патологические механизмы возникновения синдрома при депрессии разнообразны: вялотекущее воспаление, дефицит и качественное нарушение питания, особенно недостаток витамина Д, малая физическая активность, саркопения и возрастные гормональные изменения. Дополнительными факторами являются количество принимаемых психоактивных лекарственных препаратов, низкий уровень образования, одиночество, недостаток социализации, отсутствие домашнего Интернета [2]. Связь психосоциальных факторов и возникновение физической слабости при депрессии изучены недостаточно [30]. На развитие депрессии при синдроме старческой астении влияют апатия, недостаток гигиены, сниженная физическая активность, плохое питание.

Несмотря на общие механизмы развития, концепция физической слабости при психическом неблагополучии развития не получила, поскольку диагностические признаки двух патологий перекрываются, хотя изначально в фенотипе Фрайда нет критериев, связанных с депрессией. Очевидно, если у пациента есть сочетание физической слабости и депрессии, распутать клубок причинно-следственных связей для выявления первичной патологии трудно. Однако

в сочетании есть и положительный момент: лечение одной патологии снижает проявление другой [30].

В литературе представлены данные о генетической предрасположенности к развитию старческой астении [31]. Тем не менее в исследованиях не найдено связи изменения генов-кандидатов интерлейкина-6, фактора некроза опухоли, инсулиноподобного фактора роста-1 с появлением синдрома. Поскольку синдром – мультифакторное заболевание, зависящее от образа жизни, генетических и эпигенетических факторов. Эпигенетические механизмы включают ремоделирование хроматина при старении. Гены в локусе 9p21-23 подвержены этому процессу, что, возможно, является причиной появления синдрома [32].

ПАРАДОКСЫ СТАРЧЕСКОЙ АСТЕНИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Болезнь Паркинсона – нейродегенеративное заболевание, которое не является результатом старения, но увеличение возраста является фактором риска ее появления. Пожилой возраст способствует прогрессии болезни и снижению ответа на леводопу – препарата для лечения болезни Паркинсона. Частота встречаемости синдрома старческой астении у лиц с болезнью Паркинсона высокая, по данным литературы, от 32,6 до 55,3% [33].

Тем не менее пациентов с болезнью Паркинсона ученые стараются не включать в научные исследования синдрома, поскольку клинические симптомы при двух патологиях схожи. В этом состоит парадокс диагностики синдрома старческой астении при болезни Паркинсона [14, 34]. Часто сопутствующий синдром интерпретируется ложно как ухудшение основной патологии [14, 34]. Обычно женщины с синдромом старческой астении и болезнью Паркинсона старше мужчин и имеют большие нарушения активности повседневной жизни [13, 33, 35]. Женщины страдают синдромом в 2 раза чаще чем мужчины, и тяжесть синдрома зависит от стадии болезни Паркинсона: старческая астения встречается чаще на развернутой стадии заболевания [33, 35, 36].

Сниженная физическая активность и тяжелое течение болезни Паркинсона способствуют появлению старческой астении. Существует прямое влияние этих факторов и опосредованное, связанное с изменением поведения, количества и качества принимаемых медицинских препаратов [33, 34, 37]. Например, возможно снижение активности повседневной жизни из-за проявления кинезофобии, поскольку пациенты считают, что движения приводят к падению, травме и усилению болей. Пациенты с болезнью Паркинсона имеют большую частоту изменения

поведения в виде кинезофобии [37]. Ограничение физической активности способствует плохому физическому состоянию, функциональной неполноценности и депрессии.

Однако существует противоположное мнение о физической активности при болезни Паркинсона: пациенты более активно включаются в программы по физической культуре, с лучшей приверженностью, независимо от полноты фенотипа физической слабости Фрайда [13]. У пациенток без болезни Паркинсона сниженная физическая активность ведет к появлению синдрома старческой астении. Пациентки с болезнью Паркинсона имеют большую саморегистрируемую физическую активность и менее подвержены синдрому астении [13].

На развитие синдрома старческой астении оказывают влияние не только стаж, но и клинический тип болезни Паркинсона. Наиболее часто синдром встречается при варианте болезни с преобладанием постуральной нестабильности и нарушениями ходьбы, чем у пациентов с тремором [33]. Хотя следующий парадокс синдрома при болезни Паркинсона состоит в том, что при треморе снижается синтез белка в мышцах. Таким образом, тремор может быть триггером саркопении, основного возрастного изменения, ведущего к появлению физической слабости [34, 36].

Полипрагмазия – применение более пяти лекарственных препаратов пациентами с болезнью Паркинсона, включая препараты, воздействующие на центральную нервную систему, допаминергическую терапию: карбидопу и леводопу, стимуляторы рецепторов дофамина, увеличивающие интервал QT и взаимодействующие с цитохромом P450, повышают вероятность синдрома старческой астении [33, 34]. Высокие дозы леводопы увеличивают риск моторных осложнений в виде дискинезий, что еще больше снижает физическую активность пациентов. Высокая доза карбидопы или леводопы является возможным триггером синдрома, поскольку прием препаратов, улучшая моторные характеристики, не влияет на постуральную устойчивость и повышает, таким образом, риск травмы. Кроме того, прием карбидопы и леводопы повышает риск развития остеопороза и переломов [38].

Вероятность синдрома увеличивается при дополнительном приеме антидепрессантов, препаратов, улучшающих функцию мочевого пузыря с одновременным повышением антихолинергической нагрузки на организм [14]. Плохая приверженность к лекарственной терапии, ошибки приема часто являются причиной госпитализации и делирия, что повышает вероятность развития синдрома старческой астении [14].

Синдром старческой астении при болезни Паркинсона, как и при другой патологии, ассоциирован с увеличением возраста, когнитивной дисфункцией и ортостатической гипотензией [15, 33, 39]. У пациентов с болезнью Паркинсона, как и при других нейродегенеративных заболеваниях, выявляется нарушение осуществления целенаправленной деятельности. Это нарушение является предиктором развития старческой астении [15, 39]. Встречается чаще у лиц, проживающих в социальных приютах, использующих дополнительную помощь сиделки или родственника при выполнении необходимой ежедневной активности, у госпитализированных пациентов. Госпитализация пациентов с болезнью Паркинсона и старческой астенией ассоциирована с повышением смертности в течение 30 дней, увеличением продолжительности госпитализации и повторной госпитализацией в течение месяца [33, 35]. Усталость, самый частый критерий фенотипа Фрайда при болезни Паркинсона, одновременно является немоторным симптомом болезни. Усталость снижает участие в ежедневной физической активности и способствует прогрессии старческой астении.

Дополнительный осмотр пациента с болезнью Паркинсона и подозрением на старческую астению включает заполнение вопросников по оценке риска падения, скрининг с использованием когнитивной шкалы, обследование на ортостатическую гипотензию, скрининг усталости и галлюцинаций [33, 40].

Для успешной терапии коморбидной патологии необходимы раннее распознавание и терапия синдрома у пациента с болезнью Паркинсона. Учитывая парадокс диагностики, выполнить это очень сложно. Тем не менее риск повышен у женщин со сниженным функциональным статусом и когнитивными нарушениями [41]. Для терапии требуется взаимодействие врача-гериатра, невролога, врача по физической реабилитации и психотерапевта (психиатра). Мультидисциплинарный подход способствует снижению риска полипрагмазии, подбору адекватной дозы медицинских препаратов при болезни Паркинсона, снижая ее тяжесть, моторные и немоторные симптомы.

Физическая терапия – ведущий немедикаментозный метод лечения болезни Паркинсона [42]. Классикой лечения коморбидности болезни Паркинсона с синдромом старческой астении является силовая тренировка, поскольку процесс реабилитации направлен, прежде всего, на преодоление саркопении [36, 42, 43]. Следующий парадокс состоит в том, что возможности силовой тренировки ограничены. Тренировка силы повышает ригидность мышц, усугубляя один из основных симптомов болезни

Паркинсона. Вторым компонентом физической терапии является терапия движений повседневной жизни, адаптирующая пациента к болезни. Пациент становится менее зависимым от симптомов и приобретает активность повседневной жизни. Психотерапевт со своей стороны адаптирует пациента к адекватной эмоциональной переносимости своего состояния, проводит терапию депрессии и снижает внешние ее проявления со стороны лица, голоса и осанки [42].

Во многих странах, независимо от экономического положения, понимают проблемы пожилого человека. В России установлена дополнительная денежная выплата и социальное обслуживание для лиц старше 80 лет. Во Вьетнаме, стране с низким уровнем доходов, существует также подобная выплата [6]. Материальная и социальная поддержка оправдана не только этически, но и воздействует превентивно, поскольку снижает экономическое бремя государства на лечение и реабилитацию запущенных случаев [44].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что исследовательские работы по синдрому слабости появились 15–20 лет назад, внимание к проблеме повысилось последние 2–3 года. Оно связано с пандемией COVID-19. Пожилое население в возрасте 65 лет и старше явилось мишенью для данной инфекции. Однако в ходе пандемии оказалось, что часть пожилых лиц данная инфекция не затронула, поскольку они обладали неспецифической резистентностью и не заболевали даже до появления вакцины. Для другой части пожилых людей встреча оказалась фатальной. Эти пожилые лица страдали физической слабостью и коморбидными заболеваниями.

Пожилый возраст связан со стереотипом: болезни, одиночество, ограниченность материальных средств. Но ведь существует категория пожилых людей, ведущих активный образ жизни: работающих, обеспечивающих себя и даже семью, занимающихся спортом и рекреационной активностью, садоводством и личной жизнью. В развитии синдрома слабости имеет большое значение образ жизни, который профилирует заболевания современного мира, а также замедляет скорость саркопении и старения, хотя в статье рассмотрен также вклад генетических факторов [45]. Несомненно, большая роль в предупреждении распространения синдрома старческой астении принадлежит ранней диагностике и реабилитации.

Прежде всего необходимо ознакомление практикующих врачей с синдромом старческой астении и проведение дифференциального диагноза, чтобы не относить симптоматику старческой астении к

другим профильным для врача патологиям. Но еще большее значение имеет профилактическая работа, особенно с лицами молодого и среднего возраста, по предупреждению раннего старения и появлению заболеваний современного мира [1, 46].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Chen X., Giles J., Yao Y., Yip W., Meng Q., Berkman L. et al. The path to healthy ageing in China: a Peking University-Lancet Commission. *Lancet*. 2022;400(10367):1967–2006. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)01546-X.
2. Melo Filho J., Moreira N.B., Wojciechowski A.S., Biesek S., Bento P.C.B., Gomes A.R.S. Frailty prevalence and related factors in older adults from southern Brazil: A cross-sectional observational study. *Clinics*. 2020;75:e1694. DOI: 10.6061/clinics/2020/e1694.
3. Palermo S., Stanziano M., Nigri A., Civilotti C., Celeghin A. Parkinson's disease, SARS-CoV-2, and frailty: is there a vicious cycle related to hypovitaminosis D? *Brain Sciences*. 2023;13:528. DOI: 10.3390/brainsci13040528.
4. Kaczorowska A., Szwamel K., Fortuna M., Mroczek A., Lepsy E., Katan A. Assessment of physical fitness and risk factors for the occurrence of the frailty syndrome among social welfare homes' residents over 60 years of age in Poland. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022;19:7449. DOI: 10.3390/ijerph19127449.
5. Boissonneault M., Rios P. Changes in healthy and unhealthy working-life expectancy over the period 2002–17: a population-based study in people aged 51–65 years in 14 OECD countries. *The Lancet Healthy Longevity*. 2021;2(10):e629–e638. DOI: 10.1016/s2666-7568(21)00202-6.
6. Nguyen T.T.H., Nguyen A.T., Vu T.-H.T., Dau N.T., Nguyen P.Q., Nguyen T.X. et al. Association of frailty status and functional disability among community-dwelling people aged 80 and older in Vietnam. *BioMed Res. Int.* 2021;e7109452:1–6. DOI: 10.1155/2021/7109452.
7. Ahrenfeldt L.J., Möller S., Thinggaard M., Christensen K., Lindahl-Jacobsen R. Sex differences in comorbidity and frailty in Europe. *Int. J. Public Health*. 2019;64(7):1025–1036. DOI: 10.1007/s00038-019-01270-9.
8. Sousa-Fraguas M.C., Rodríguez-Fuentes G., Conejo N.N. Frailty and cognitive impairment in Parkinson's disease: a systematic review. *J. Neur. Sci.* 2022;43(12):6693–6706. DOI: 10.1007/s10072-022-06347-7.
9. Salaffi F., De Angelis R., Farah S., Carotti M., Di Carlo M. Frailty as a novel predictor of achieving comprehensive disease control (CDC) in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 2021;40:4869–4877. DOI: 10.1007/s10067-021-05744-1.
10. Clegg A., Young J., Iliffe S., Rikker M.O., Rockwood K. Frailty in elderly people. *Lancet*. 2013;381(9868):752–762. DOI: 10.1016/s0140-6736(12)62167-9.
11. Lewis I. How can identifying and grading frailty support older people in acute and community settings? *Nurs. Older People*. 2020;32(6):e1271. DOI: 10.7748/nop.2020.e1271.
12. Park C., Ko F.C. The Science of frailty: sex differences. *Clin. Geriatr. Med.* 2021;37(4):625–638. DOI: 10.1016/j.cger.2021.05.008.

13. Roland K., Cornett K., Theou O., Jakobi J., Jones G. Physical activity across frailty phenotypes in females with Parkinson's disease. *J. Aging Res.* 2012;e468156:1–8. DOI: 10.1155/2012/468156.
14. Ozer F., Akin S., Gultekin M., Erturkzararsiz G., Soyly A. Frailty in patients with Parkinson's disease: associations with disability and Timed Up and Go. *Arch. Neuropsychiatry.* 2019;58:206–212. DOI: 10.29399/npa.23444.
15. Bartoli M., Palermo S., Cipriani G., Amanzio M. A possible association between executive dysfunction and frailty in patients with neurocognitive disorders. *Front. Psychol.* 2020;11:e554307. DOI: 10.3389/fpsyg.2020.554307.
16. Panhwar Y., Naghdy F., Naghdy G., Stirling D., Potter J. Assessment of frailty: a survey of quantitative and clinical methods. *BMC Biomedical Engineering.* 2019;1(1):1–20. DOI: 10.1186/s42490-019-0007-y.
17. Cobo A., Villalba-Mora E., Pérez-Rodríguez R., Ferre X., Rodríguez-Mañas L. Unobtrusive sensors for the assessment of older adult's frailty: A Scoping review. *Sensors.* 2021;21(9):2983. DOI: 10.3390/s21092983.
18. Kumar D., Toosizadeh N., Mohler J., Ehsani H., Mannier C., Laksari K. Sensor-based characterization of daily walking: a new paradigm in pre-frailty/frailty assessment. *BMC Geriatr.* 2020;20(1):164. DOI: 10.1186/s12877-020-01572-1.
19. Pernas F., Carrasco-Ribelles L., Abellana R., Roso-Llorach A., Cegri F., Reyes C., Violán C. Validation of an electronic frailty index with electronic health records: eFRAGICAP index. *BMC Geriatric.* 2022;22:404. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1368757/v1.
20. Zahir M., Wang C., Gardea M., Nguyen H., Shahbazi M., Sharafkhaneh A., Ruiz I.T. et al. Remote physical monitoring – the application of deep learning-based pimage processing in tele-health. *IEEE Access.* 2020;8:219391–219399. DOI: 10.1109/access.2020.3042451.
21. Ma L., Chan P. Understanding the physiological links between physical frailty and cognitive decline. *Aging Dis.* 2020;11(2):405–418. DOI: 10.14336/AD.2019.0521.
22. Rahman M.M., Mim S.A., Islam M.R., Parvez A., Islam F., Uddin M.B. et al. Exploring the recent trends in management of dementia and frailty: focus on diagnosis and treatment. *Curr. Med. Chem.* 2022;29(32):5289–5314. DOI: 10.2174/0929867329666220408102051.
23. Peng S., Zhou J., Xiong S., Liu X., Pei M., Wang Y. et al. Construction and validation of cognitive frailty risk prediction model for elderly patients with multimorbidity in Chinese community based on non-traditional factors. *BMC Psychiatry.* 2023;23:266. DOI: 10.1186/s12888-023-04736-6.
24. Tse M.M.Y., Kwan R.Y.C., Ho S.S.M., Davidson P.M.D., Cheng P.P.P., Yeung S.S.Y. Frailty is associated with pain and cognitive function in older people in post-acute care settings. *Geriatr. Nurs.* 2020;41(5):530–535. DOI: 10.1016/j.gerinurse.2019.04.001.
25. Park J., Kim W.J. Potential imaging biomarkers of cognitive frailty. *Annals of Geriatric Medicine and Research.* 2023;27(1):3–8. DOI: 10.4235/agmr.22.014137.
26. Kocyigit S., Soysal P., Bulut E., Aydin E., Dokuzlar O. What is the relationship between frailty and orthostatic hypotension in older adults? *J. Geriatr. Cardiol.* 2019;16:272–279. DOI: 10.11909/j.issn.1671-5411.2019.03.005.
27. Mol A., Slangen R.L.N., Trappenburg M.C., Reijnierse E.M., van Wezel R.J.A., Meskers C.G.M. et al. Blood pressure drop rate after standing up is associated with frailty and number of falls in geriatric outpatients. *J. Am. Heart Ass.* 2020;9(7):014688. DOI: 10.1161/jaha.119.014688.
28. Ardolino I., Franchi C., Nobili A., Mannucci P.M., Corli O. Pain and frailty in hospitalized older adults. *Pain Therap.* 2020;9:727–740. DOI: 10.1007/s 40122-020-00202-3.
29. Collard R.M., Comijs H.C., Naarding P., Penninx B.W., Milaneschi Y., Ferrucci L. et al. Frailty as a predictor of the incidence and course of depressed mood. *J. Am. Med. Directors Ass.* 2015;16(6):509–514. DOI: 10.1016/j.jamda.2015.01.088.
30. Oyon J., Serra-Prat M., Ferrer M., Linares A., Pastor N., Limón E. et al. Psychosocial factors associated with frailty in the community-dwelling aged population with depression. A cross-sectional study. *Atención Primaria.* 2021;53(5):e102048. DOI: 10.1016/j.aprim.2021.102048.
31. Atkins J., Jylhävä J., Pedersen N.L., Magnusson P.K., Lu Y., Wang Y. et al. A genome-wide association study of the frailty index highlights brain pathways in ageing. *Aging Cell.* 2021;20(9):e13459. DOI: 10.1111/accel.13459.
32. Sathyan S., Barzilai N., Atzmon G., Milman S., Ayers E., Verghese J. Genetic insights into frailty: association of 9p21-23 locus with frailty. *Front. in Med.* 2018;5:e105. DOI: 10.3389/fmed.2018.00105.
33. McMillan J.M., Michalchuk Q., Goodarzi Z. Frailty in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Park & Related Disord.* 2021;4:e100095. DOI: 10.1016/j.prdoa.2021.100095.
34. Tenison E., Henderson E.J. Multimorbidity and frailty: tackling complexity in Parkinson's disease. *J. Parkinson's Dis.* 2020;10(s1):85–91. DOI: 10.3233/jpd-202105.
35. Abraham D.S., Nguyen T.P.P., Willis A.W. Claims-based frailty and outcomes: applying an aging measure to older adults with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2021;36(8):1871–1878. DOI: 10.1002/mds.28561.
36. Wang C.-K., Chen H.-L., Lu C.-H., Chen M.-H., Chiang P.-L., Cheb Y.-S. et al. Altered body composition of psoas and thigh muscles in relation to frailty and severity of Parkinson's disease. *Inter. J. Environ Res. Pub. Health.* 2019;16(19):e3667. DOI: 3390/ijerph16193667.
37. Jiménez-Cebrián A.M., Becerro-de-Bengoa-Vallejo R., Losa-Iglesias M.E., de Labra C., Calvo-Lobo C., Palomo-López P. et al. Kinesiophobia levels in patients with Parkinson's disease: a case-control investigation. *Inter. J. Environ Res. Pub. Health.* 2021;18(9):e4791. DOI: 10.3390/ijerph18094791.
38. Figueroa C.A., Rosen C.J. Parkinson's disease and osteoporosis: basic and clinical implications. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 2020;15(3):185–193. DOI: 10.1080/17446651.2020.1756772.
39. Lin W.-C., Huang Y.-C., Leong C.-P., Chen M.-H., Chen H.-L., Tsai N.-W. et al. Associations between cognitive functions and physical frailty in patients with Parkinson's disease. *Front. Aging Neurosci.* 2019;11:283. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00283.
40. Taguchi C.K., de Lemos Menezes P., Melo A.C.S., de Santana L.S., Conceição W.R.S., de Souza G.F. et al. Frailty syndrome and risks for falling in the elderly community. *Codas.* 2022;34(6):e20210025. DOI: 10.1590/2317-1782/20212021 025en.
41. Baba Y., Putzke J.D., Whaley N.R., Wszolek Z.K., Uitt R.J.

- Gender and the Parkinson's disease phenotype. *J. Neurol.* 2005;252(10):1201–1205. DOI: 10.1007/s00415-005-0835-7.
42. Hrytsuliak B., Ostapiak Z., Polataiko Y., Herych R., Lisovskyi B., Lapkovskyi E. et al. Dynamics of balance indicators, activities of daily living, and quality of life of elderly suffering from Parkinson's disease and frailty after proximal humerus fracture following physiotherapeutic functional training. *J. Med. Life.* 2022;15(1):98–103. DOI: 10.25122/jml-2021-0386.
43. Yokote A., Hayashi Y., Yanamoto S., Fujioka S., Higa K., Tsuboi Y. Leg muscle strength correlates with gait performance in advanced Parkinson disease. *Int. Med.* 2022;61(5):633–638. DOI: 10.2169/internalmedicine.7646-21.
44. Álvarez-Bustos A., Rodríguez-Sánchez B., Carnicero-Carreño J.A., Sepúlveda-Loyola W., Garcia-Garcia F.J., Rodríguez-Mañas L. Healthcare cost expenditures associated to frailty and sarcopenia. *BMC Geriatr.* 2022;(22):747. DOI: 10.1186/s12877-022-03439-z.
45. Cohen C.J., Benyaminov R., Rahman M., Ngu D., Reinhardt M. Frailty. *Med. Clin. North Am.* 2023;107(1):183–197. DOI: 10.1016/j.mcna.2022.04.006.
46. Spiers G.F., Kunonga T.P., Hall A., Beyer F., Boulton E., Parker S. et al. Measuring frailty in younger populations: a rapid review of evidence. *BMJ. Open.* 2021;11:e047051. DOI: 10.1136/bmjopen-2020-047051.

Информация об авторе

Гусева Ольга Владимировна – канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины; врач лечебной физкультуры, отделение физиотерапии, СибГМУ, г. Томск, gusolvl@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-8659-9832>

(✉) **Гусева Ольга Владимировна**, gusolvl@gmail.com

Поступила в редакцию 19.12.2023;
одобрена после рецензирования 05.02.2023;
принята к публикации 20.03.2024



УДК 576.385.7:576.311.347:576.344:577.171.4
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-123-132>

Роль эстрогенов в метаболизме митохондрий

Кит О.И., Франциянц Е.М., Шихлярова А.И., Нескубина И.В., Ильченко С.А.

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

РЕЗЮМЕ

В клетках центральными органеллами являются митохондрии, которые необходимы для многих фундаментальных биологических процессов. Митохондрии в процессе эволюции трансформировались в сигнальные узлы в биологических системах, способные вызывать изменения в клетке посредством секретируемых факторов и влияющие на физиологию человека и животных.

В дополнение к выполнению множества ключевых функций для клетки, митохондрии также превратились в активные центры, которые могут контролировать не только клеточные программы посредством взаимодействия с другими компартментами, например, с эндоплазматическим ретикуломом, но также воздействовать на ткани, определяя здоровье организма с помощью механизмов, которые мы только начинаем понимать.

Ключевые слова: эстрогены, митохондрии, половые различия, злокачественные новообразования

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

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

Для цитирования: Кит О.И., Франциянц Е.М., Шихлярова А.И., Нескубина И.В., Ильченко С.А. Роль эстрогенов в метаболизме митохондрий. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):123–132. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-123-132>.

The role of estrogens in mitochondrial metabolism

Kit O.I., Frantsiyants E.M., Shikhlyarova A.I., Neskubina I.V., Ilchenko S.A.

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

ABSTRACT

Central organelles in cells are mitochondria, which are essential for many fundamental biological processes. In the course of evolution, mitochondria have been transformed into signaling centers in biological systems that can cause changes in the cell via secreted factors and affect physiology of humans and animals.

Along with performing many key functions for the cell, mitochondria have also evolved into active hubs that can both control cellular programs through interaction with other compartments, such as the endoplasmic reticulum, and affect tissues, determining the health of the body via mechanisms that we are only beginning to understand.

✉ Нескубина Ирина Валерьевна, neskubina.irina@mail.ru

Keywords: estrogens, mitochondria, sex differences, malignant tumors

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

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

For citation: Kit O.I., Frantsiyants E.M., Shikhlyarova A.I., Neskubina I.V., Ilchenko S.A. The role of estrogens in mitochondrial metabolism. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):123–132. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-123-132>.

ВВЕДЕНИЕ

Половые различия в заболеваемости человека частично обусловлены количеством эндогенных половых стероидных гормонов, которые участвуют в регуляции митохондриального метаболизма. Хотя механизмы и мишени, с помощью которых эстрогены прямо или косвенно регулируют функцию митохондрий, до конца не выяснены, ясно, что эстрадиол (E2) регулирует метаболизм и морфологию митохондрий посредством ядерных и митохондриально опосредованных событий, включая стимуляцию факторов транскрипции, которые связываются с геномной и митохондриальной ДНК.

E2 и другие эстрогены, а также синтетические агонисты GPER1 регулируют митохондриальную биоэнергетику, процессы слияния и деления. Эстрогены контролируют экспрессию генов, которые, в свою очередь, регулируют митохондриальные функции: метаболизм, OXPHOS, апоптоз, UPR^{mt}, деление и слияние. Механизм этих событий включает связывание E2 и других эстрогенов с помощью рецепторов эстрогенов α (ER α) и эстрогенов β (ER β) для регуляции транскрипции ядерных генов и сигнальных каскадов. Кроме того, эстрогены активируют G-белок, относящийся к ГТФаза и функционирующих вторичных посредников во внутриклеточной сигнализации, сопряженный с рецептором GPER1, который также регулирует внутриклеточные сигнальные события, в том числе путем перекрестного взаимодействия с эндотелиальным фактором роста – EGFR [1].

ЭСТРОГЕНЫ И ИХ ФУНКЦИИ В ОРГАНИЗМЕ

Эстрон (E1) и эстриол (E3) были впервые выделены в 1930–1931 гг. из мочи беременных женщин Эдвардом А. Дойзи. Эстрадиол 2 позже был выделен доктором Дойзи из фолликулярной жидкости свиней [2]. В последующем были описаны метаболизм E2, его тканеспецифический захват, клонирование рецептора ER α , а также открытие и клонирование ER β [1].

Существуют три первичных эстрогена – E1, E2 и E3, при этом E2 считается наиболее активным, поскольку имеет самое высокое сродство к рецептору

эстрогена α (ER α) и является доминирующим эстрогеном у женщин репродуктивного возраста. Эстрогены E1 и E3 обладают более низким сродством к рецептору ER α . Гормон E2 синтезируется в яичниках, тогда как E1 – из андростендиона в коре надпочечников, а E3 в основном плацентарного происхождения, хотя каждый из них может быть синтезирован из андрогенных предшественников в зависимости от тканевой экспрессии ароматазы – CYP19 [3].

Женщины в постменопаузе с ожирением и избыточной массой тела имеют более высокий уровень циркулирующих эстрогенов, вырабатываемых жировой тканью, по сравнению с худыми женщинами [4]. Эстрогены связывают рецепторы ER α и ER β , которые представляют собой консервативные ядерные рецепторы (NR), обладающие высокой идентичностью в ДНК-связывающем и лиганд-связывающем доменах [5]. В дополнение к полноразмерным ER α и ER β каждый подтип рецепторов имеет множество вариантов сплайсинга. В митохондриях различных типов клеток были идентифицированы ER α и ER β , где они связывают мтДНК. Стало известно, что ER α также косвенно взаимодействует с ядерной ДНК посредством прямого (белок : белок) соединения с другими факторами транскрипции, ассоциированными с ДНК [6].

В настоящее время имеется большой интерес к пониманию половых различий в заболевании с целью персонализации лечения. Национальные институты здравоохранения требуют, чтобы каждая заявка на грант рассматривала «пол как биологическую переменную». Список заболеваний, демонстрирующих половые различия, слишком длинный и к ним относятся, например, гипертония [7], ишемический инсульт и инфаркт миокарда [8], а также нейродегенеративные и нервно-психические заболевания [9].

Каждое из этих заболеваний связано с митохондриальной дисфункцией. Различия в распространенности заболеваний, которые сопряжены с более высокими уровнями E2 у женщин в пременопаузе, включают сахарный диабет 1-го (СД1) и 2-го типа (СД2), при этом у женщин в пременопаузе наблюдается более низкая частота метаболических нару-

шений, тогда как у женщин в постменопаузе чаще, чем у мужчин, развиваются сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания и болезни почек [10].

Нарушения в функционировании митохондрий причастны ко многим заболеваниям, при этом известно, что дефекты в сотнях генов, вовлеченных в биологию митохондрий, вызывают патологии [11]. Эти дефекты охватывают мутации в самом митохондриальном геноме, в ядерных генах, кодирующих компоненты митохондрий, и в генах, принадлежащих к различным функциональным классам, затрагивающие механизм репликации мтДНК, деление и слияние митохондрий, окислительное фосфорилирование (OXPHOS) или биосинтез железосернистых кластеров [12, 13]. Митохондриальная дисфункция связана с резистентностью к инсулину [14] и множественными эндокринными расстройствами [15]. Существование половых различий зависит не только от эстрогенов и андрогенов, но также и от генов, кодируемых половыми хромосомами [16].

Из экспериментальных и клинических исследований стало известно, что E2 увеличивает окисление жиров, ингибирует липогенез и выполняет множество регуляторных функций в отношении клеток иммунной системы, например, В- и Т-клеток, натуральных киллеров (NK), нейтрофилов и макрофагов [17]. Более 75% аутоиммунных заболеваний чаще встречаются у женского пола. Недавние исследования показали прямую взаимосвязь экспрессии Т-клеточного ER α в развитии Т-клеточно-зависимого колита у мышей и снижении пролиферации Т-клеток [18]. Известна роль эстрогенов и ER α при системных аутоиммунных заболеваниях, где происходит поражение В- и Т-клеток [19].

Гепатоцеллюлярный рак (ГЦК) чаще встречается у мужчин, чем у женщин, поскольку эстрогены обладают защитным действием против возникновения и прогрессирования ГЦК [20]. Зависимые от пола различия в метаболизме печени охватывают экспрессию печеночных ферментов цитохрома P450, а также факторов транскрипции (TF), включая ER α , арилу-глеводородный рецептор (AHR), рецептор, активируемый пролифератором пероксисом α (PPARA), и фарнезоид-Х-рецептор (FXR), ведущий к различиям в ответах на действие лекарственных препаратов и метаболизме у мужчин и женщин [21].

Неалкогольная жировая болезнь печени чаще встречается у мужчин, чем у женщин в пременопаузе, но увеличивается у женщин в постменопаузе [22]. При медикаментозном поражении печени (ЛПП) также проявляются половые различия: 41 препарат воздействует на печень и выявляется ЛПП с преобладанием женского пола только у женщин в пре-

менопаузе. Интересно, что препараты для лечения ЛПП у женщин более выражено влияют на митохондрии, что связано с образованием реактивных метаболитов и большим потенциалом ингибирования митохондриальных транспортеров [23]. Модель иммуноопосредованного ЛПП у мышей BALB/c показала, что у самок продукция провоспалительных печеночных цитокинов (интерлейкина (IL) 6) была выше, чем у самцов, и у них гепатит протекал тяжелее. Данный факт позволяет предположить, что E2 и IL-6 могут быть ответственны за снижение защитной регуляторной функции Т-клеток [24].

Существуют три фактора, подчеркивающие глобально укоренившиеся биологические связи между митохондриями и половой принадлежностью как биологическим признаком. Во-первых, митохондрии млекопитающих наследуются по материнской линии, а это означает, что они передаются исключительно через яйцеклетку. В ходе экспериментов на животных было выдвинуто предположение, что передача митохондрий женскому и мужскому организму по-разному влияет на метаболизм и продолжительность жизни [25].

Во-вторых, недооцененным фактом является то, что стадия, ограничивающая скорость синтеза всех половых гормонов, включая эстрогены, прогестины и тестостерон, происходит в митохондриях, находящихся преимущественно в яичниках и семенниках [26]. Первые ферментативные этапы синтеза *всех* стероидных гормонов, которые также включают глюкокортикоиды и минералокортикоиды, происходят в матриксе митохондрий [27].

В-третьих, митохондрии содержат рецепторы для половых гормонов. Оба рецептора эстрогена β и рецептор андрогена (AR) перемещаются в митохондриальный матрикс, где они взаимодействуют с мтДНК и влияют на множество областей митохондриальной биологии [28, 29]. Таким образом, митохондрии половых органов обладают таким молекулярным механизмом, который способствует выработке и восприятию канонических гормонов половой дифференцировки.

Вместе с тем А. Junker и соавт. (2022) [30] показали, что устойчивые бинарные половые различия были определены в более высоком содержании митохондрий в женской моче и изолированных субпопуляциях лейкоцитов и более высокую продукцию АФК в скелетных мышцах мужчин. Другие измерения продемонстрировали непоследовательные половые различия с большими расхождениями в силе и направлении исследований, условиях эксперимента (например, метаболических субстратах) и оцениваемых тканях.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ГОРМОН-РЕГУЛИРУЮЩИЕ ФУНКЦИИ

Митохондрия представляет собой плотно упакованную динамичную органеллу бактериального и эндосимбиотического происхождения [31]. Митохондрии поддерживают жизнь, превращая метаболиты пищевого топлива в АТФ, CO_2 и H_2O , выделяя при этом тепло и обеспечивая адаптацию к стрессу для выживания. Происхождение мтДНК из ооцитов приводит к наследственным нарушениям, которые передаются по материнской линии [31]. Отцовская митохондриальная передача встречается крайне редко [32].

Митохондрии содержат собственную ДНК митохондриального генома в матрице. Митохондриальный геном наследуется по материнской линии и существует в виде кольцевой двухцепочечной ДНК, состоящей из 16 569 пар оснований у людей [33]. Поскольку митохондриальный геном кодирует небольшое количество митохондриальных генов, включая транспортные РНК, митохондриальные рибосомальные РНК и белковые субъединицы комплексов с электронно-транспортной цепью, многие митохондриальные гены кодируются в ядре. Таким образом, координация транскрипционных событий между митохондриями и ядром необходима для поддержания метаболического гомеостаза [34].

Во время производства АТФ транспорт электронов также генерирует активные формы кислорода (АФК), которые повреждают макромолекулы, включая мтДНК, белки и липиды. Эстрогены и андрогены защищают митохондрии от дегенеративных эффектов старения тканеспецифическим образом через активацию соответствующих рецепторов [35]. Реактивные формы кислорода (ROS) способствуют митохондриальному стрессу и неправильной конформации белков. Неправильно конформированные белки и агрегаты накапливаются во внутреннем пространстве митохондриальной мембраны (IMS) и митохондриальном матриксе, что приводит к активации ответа митохондриального развернутого белка (UPR^{mt}).

Известен факт регуляции $\text{E2-ER}\alpha$ посредством UPR^{mt} . Недавние исследования показывают, что клетки рака молочной железы кооптируют «митогормезис», процесс увеличения базального UPR^{mt} и снижения окислительного стресса, приводящий к усилению инвазии и метастазирования, следовательно, к худшему выживанию больных раком молочной железы с сигнатурой гена UPR^{mt} [36]. $\text{E2-ER}\alpha$ увеличивает транскрипцию сиртуина 3 (SIRT3), а SIRT3 локализуется в митохондриях, где он ослабляет АФК путем деацетилирования супероксиддисмутазы марганца (MnSOD , SOD2) и взаимодействует с таким

фактором транскрипции forkheadbox O3(FOXO3A) , чтобы активировать его транслокацию в ядро. Далее происходит активация экспрессии генов, кодирующих $\text{PGC-1}\alpha$ -корегулятор, необходимый для транскрипции, и MnSOD [37].

РЕГУЛЯЦИЯ ГОРМОНАМИ ПРОЦЕССА АПОПТОЗА В МИТОХОНДРИЯХ

Митохондрии не только производят энергию, но и являются местом синтеза всех стероидных гормонов, включая E2 в гранулезных клетках яичников [38, 39]. Установлено участие стероидных гормонов в регуляции процесса апоптоза, так E2 способен ингибировать апоптоз с помощью множества механизмов. При митохондриальном стрессе митохондрии также продуцируют и секретируют «митокины», например гуманин, чувствительный к физической нагрузке пептид, кодируемый геном MT-RNR2 в мтДНК, и фактор роста фибробластов 21 (FGF-21), который регулирует энергетический обмен [40]. Дефицит эстрогена нарушает регуляцию Ca^{2+} канала L-типа, рианодинового рецептора, саркоплазматического ретикулума Ca^{2+} -АТФазы (SERCA) и обменника Na^+ - Ca^{2+} , вызывая нарушение гомеостаза Ca^{2+} , что приводит к сердечно-сосудистым заболеваниям [41].

В другом недавнем обзоре были обобщены половые различия в скелетных мышцах человека [42]. Было обнаружено, что многие митохондриальные функциональные гены по-разному экспрессируются, а это коррелирует с известными межполовыми различиями в составе мышечных волокон у женщин, имеющих более высокий процент волокон типа I с более окислительным фенотипом [1]. Различия в экспрессии генов в скелетных мышцах мужчин и женщин частично обусловлены эпигенетическими изменениями, включая различия в метилировании ДНК, модификации гистонов и экспрессия микроРНК [42].

Активация ER и рецептора эстрогена, связанного с G-белком (GPER), сохраняет функцию митохондрий и уменьшает митофагию после повреждения (ишемия/реперфузия) посредством передачи сигналов, зависящей от митохондриальной проницаемости и активации митоген-активируемой протеинкиназы (MEK), регулируемой внеклеточным сигналом киназы (ERK), уменьшая, таким образом, апоптоз за счет сохранения целостности митохондрий. В связи с этим введение эстрогена в моделях *in vivo* перед ишемией/реперфузией уменьшает размер инфаркта и улучшает сократительную способность миокарда [43].

Были рассмотрены половые различия в митохондриях и митохондриальной функции в различных органах, в основном у грызунов [44–46]. В недавнем исследовании сообщалось, что влияние пола на экс-

прессию генов и митохондриальный метаболизм в жировой ткани зависел от линии мышей при изучении 100 инбредных линий мышей [47].

Играют ли митохондриальные ER α и ER β непосредственную роль в транскрипции генов мтДНК и функция митохондрий, зависит от типа клеток, что согласуется со специфической их локализацией. Группа исследователей установила, что ретроградная передача сигналов через активацию пути ROS-AKT в ответ на UPR^{mt} активирует ER α и увеличивает передачу сигналов ядерного респираторного фактора-1 (NRF-1) [48]. Однако остается еще много не раскрытых вопросов о защитных эффектах эстрогенов в митохондриях, которые еще предстоит полностью выяснить.

РОЛЬ ЭСТРОГЕНОВ В РЕГУЛЯЦИИ РАБОТЫ СИСТЕМЫ «ПОЛ – АНТИОКСИДАНТЫ»

Митохондриальный метаболизм неизбежно приводит к образованию АФК, которые, в свою очередь, вызывают митохондриальную дисфункцию. Известно, что E2 вызывает снижение уровня АФК и увеличивает количество антиоксидантных белков, включая супероксиддисмутазу 1 (SOD1), супероксиддисмутазу 2 (SOD2) и глутатионпероксидазу (GPx) [49]. Однако в сосудистой сети GPER модулирует АФК путем снижения NADPH-оксидазы 4 (NOX4), простагландин-эндопероксидсинтазы 2 (PTGS2) и GPx1, а также путем увеличения количества антиоксидантных белков, таких как сиртуин 3 (SIRT3) и глутатион S-трансфераза каппа 1 (GSTK1) [49]. Следовательно, как описано в нескольких исследованиях, женщины отличаются от мужчин в уровне антиоксидантов, локализованных в митохондриях, таким образом, производя меньше свободных радикалов и меньшее окислительное повреждение сердца [50].

В связи с этим в некоторых исследованиях сообщалось, что женские митохондрии вырабатывают вдвое меньше перекиси водорода, чем мужские, и имеют более высокие уровни митохондриального восстановленного глутатиона. Однако механизм, посредством которого E2 осуществляет эти эффекты, а также участие других органелл клетки еще не были полностью выяснены [51].

Другой интересной особенностью, которая может быть связана с модуляцией АФК, является участие E2 в регуляции уровней Ca²⁺. Два исследования показали, что у мышей-самок линии OVX митохондрии обладают сниженной способностью удерживать Ca²⁺, которая восстанавливается после введения E2, улучшая, таким образом, нормальные процессы сокращения и расслабления сердца [41]. Аналогичным образом в нескольких исследованиях было установлено,

что регулирование митохондриального гомеостаза имеет ключевое значение для ослабления повреждающего действия различных патологических процессов при сердечно-сосудистых заболеваниях. Определенные белки, такие как коактиватор 1 α рецептора, активируемого пролифераторомпероксисом (PGC-1 α), АМР-активируемая протеинкиназа (AMPK) и несколько генов, участвующих в цепи переноса электронов (ETC), регулируются половыми гормонами и, более конкретно, передачей сигналов эстрогена [49].

ER α и ER β были идентифицированы в митохондриях и, как сообщалось, регулируют транскрипцию мтДНК [6]. Эстрадиол 2 увеличивает передачу окислительно-восстановительных сигналов в клетках рака молочной железы MCF-7, содержащих ER α . Этот процесс считается частью онкогенного процесса при раке молочной железы и включает активацию E2 передачи сигналов AKT, что приводит к иницированию NRF-1 [52]. Эстрадиол 2 быстро увеличивал временную локализацию ER α в митохондриях в клетках MCF-7 и стимулировал прямое взаимодействие ER α -MnSOD, что было обнаружено с помощью конфокальной визуализации и экспериментов по ко-иммунопреципитации [53]. Митохондриальная локализация ER α и взаимодействие ER α -MnSOD блокировались фулвестрантом, что позволило предположить важность конформации ER α для описанных взаимодействий. Индуцированная миграция ER α в митохондрии в клетках MCF-7 считается негеномной реакцией E2 на усиление MnSOD ацетилирования K68, что приводит к ингибированию активности MnSOD. Сообщалось, что связь E2 – ER α -MnSOD блокирует взаимодействие MnSOD-SIRT3, увеличивая уровень супероксида и активируя mTORC2 [53].

Митохондрии содержат ядерные рецепторы (NR) – рецептор гормонов щитовидной железы (TR), рецептор андрогена (AR), рецептор ретиноида X (RXR), RAR, глюкокортикоидный рецептор (GR) и гамма-рецептор, активируемый пролифераторомпероксисом (PPARG, PPAR γ 2) [54]. Эстроген β был идентифицирован в митохондриях сердца человека. В недавнем исследовании сообщалось, что низкие уровни митохондриального ER β (mitoER β) были связаны с повышенным риском рецидива опухоли молочной железы [55]. Трансфекция клеток рака молочной железы MCF-7 с помощью GST-ER β с последующим GST-pulldown идентифицировала HSPA9 (белок теплового шока 70 кДа, митохондриальный; также называемый GRP75), связанный с ER β .

Масс-спектрометрия MALDI-TOF идентифицировала ER β и HSPA9 в очищенном комплексе, а исследования нокдауна и сверхэкспрессии показали,

что HSPA9 перемещает ER β в митохондрии MCF-7. Трансфекция клеток тройного негативного рака молочной железы (TNBC) MDA-MB-231 митохондриально направленным вектором экспрессии ER β снижала пролиферацию, инвазию и миграцию клеток *in vitro* и образование опухолей *in vivo*. Был определен более высокий уровень ER β в митохондриальных фракциях из эктопических тканей эндометрия по сравнению с миомой матки или контролями без поражений [56]. Учитывая неопределенность в отношении специфичности некоторых антител к ER β [57], необходимы дальнейшие исследования локализации и активности ER β в митохондриях.

Встречающиеся в природе варианты сплайсинга ER α , ER α 36 и ER α 46 являются результатом использования дифференциального промотора и сплайсинга, что приводит к укороченным формам ER α , лишенным N-концевых доменов A и B, которые составляют AF-1. Эстроген α 36 также лишен F-домена на C-конце полноразмерного ER α 66 и имеет укороченный LBD [58]. Сообщалось, что ER α 36 локализуется преимущественно в митохондриях лейомомы матки человека (UtLM) и линиях гладкомышечных клеток и взаимодействует с запретином (PHB) [59].

B.N. Radde и соавт. сообщили, что E2 (10 нМ) стимулировал базовый уровень скорости потребления кислорода (OCR) и базовое внеклеточное закисление (ECAR) в клетках рака молочной железы MCF-7 и T47D просвета A (ER α +) и активировал АТФ-связанный OCR, при этом не влияя на максимальную митохондриальную резервную способность. Авторы предполагают, что E2 не влияет на толерантность к клеточному стрессу в этих клеточных линиях [60]. Медроксипрогестерона ацетат ингибирует потенциацию E2 первичных нейронов гиппокампа крысы и митохондриальную резервную способность дыхания глии *in vitro*, однако механизмы данного явления не были раскрыты. Вместе с тем недавнее исследование показало, что нокаут ER α в CD4⁺ T-клетках снижает митохондриальную резервную способность и предполагается, что ER α регулирует митохондриальный метаболизм в T-клетках [18].

Поиск статей в PubMed, исследующих влияние эстрогенов на митохондриальную биоэнергетику, выявил относительно немного сообщений. Так, одна группа исследователей обнаружила, что избыточная экспрессия ER α в SK-N-BE(2) MYCN-амплифицированных (MNA) клетках нейробластомы (NB) подавляет рост ксенотрансплантата опухоли, блокируя многие процессы, связанные с онкогенезом NB [61]. Гликолиз (измеряемый как ECAR в биоанализаторе Seahorse), максимальная гликолитическая способность и гликолитический резерв были значительно

снижены в клетках, сверхэкспрессирующих ER α , а обработка E2 и фактором роста нервов не оказывала дополнительного влияния ни на один из этих параметров в клетках NB [61].

Точно так же исходный уровень OCR, АТФ-связанный OCR и митохондриальный биоэнергетический резерв были повышены в клетках ER α , сверхэкспрессирующих SK-N-BE (2) MNA NB, что частично опосредовано подавлением утилизации жирных кислот. Сверхэкспрессия митохондриально нацеливающей последовательности, помеченной ER β , в первичных эндометриоидных клетках человека увеличивала базальный OCR и митохондриальный резерв. Нокаун ER β снижал экспрессию транскриптов NRF1, TFAM, MT-CO1 и MT-ATP6 в эндометриоидных клетках и увеличивал антиапоптотический белок BCL-2, тем самым «спасая» клетки от митохондриального апоптоза, вызванного окислительным стрессом [56].

Исследования на самках мышей с мышечно-специфическим нокаутом Esr1 (ER α) ER α (MERKO) показали, что у мышей данной линии нарушен гомеостаз глюкозы, присутствует ожирение в сочетании с aberrантной митохондриальной морфологией, повышенным АФК, нарушением деления митохондрий, дисбалансом кальция и продукции АТФ. Эти данные указывают на ключевую роль митохондриальной функции ER α в мышцах. Было показано, что уровень ER α снижен в мышцах женщин с метаболическим синдромом. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии удалось выявить удлиненные гиперфузированные митохондрии с повышенным содержанием неактивного диамина белка 1 (DRP1), фосфорилированного по ингибиторному остатку серина (SER 637).

Авторы также наблюдали увеличение регулятора кальциневрина 1 (Rcan1) и ингибитора кальциневрина, который приводит к нарушению митофагии, повышению АФК, что вызывает воспаление и резистентность к инсулину [62]. Контакт E2-ER α также необходим для поддержания числа сателлитных клеток (мышечных стволовых клеток) в мышцах самок грызунов и человека [63]. Действительно, у мышей с нокаутом ER α (Esr1^{-/-}) наблюдается снижение окисления жирных кислот в мышцах и повышенное общее ожирение, фиксируется нарушение репликации мтДНК, митофагии, аутофагии, сбой передачи сигналов инсулина (включая утилизацию глюкозы), высокий уровень H₂O₂, супероксида, накопление липидов и воспаление. Авторы отметили важность определения способов и подбора терапевтических средств для модуляции тканеспецифических путей, регулируемых ER α , которые будут корректировать

энергетический баланс и гомеостаз глюкозы, особенно у женщин в постменопаузе [64].

Заместительная терапия с использованием E2 у самок мышей после овариэктомии улучшала активность митохондриального комплекса I (CI) и декретировала H_2O_2 в скелетных мышцах, но увеличивала опосредованную CI продукцию H_2O_2 и снижала интенсивность OXPHOS в печени. Авторы заявили, что механизм(ы) тканевой специфичности действия E2 на функцию митохондрий остается неизвестным [65]. В то же время транскриптомное профилирование выявило микроРНК, контролирующее гликолиз и окислительный метаболизм в мышечных волокнах самцов мышей [66]. Роль эстрогенов в регуляции этих микроРНК еще неизвестна.

Интересно, что исследования, изучающие miRNAs в скелетных мышцах гомозиготных близнецов с дискордантным использованием заместительной гормональной терапии (HRT), выявили miR-182, miR-233 и miR-142-3p, нацеленные на IGF-R1, FOXO3A и воспалительную сигнализацию [67]. Эта группа ученых в другом своем исследовании также идентифицировала E2-регуляцию путей мышечной энергии у женщин, использующих препараты заместительной гормонотерапии [68].

На мышцах с нокаутом ERα – MERKO было продемонстрировано изменение морфологии митохондрий, имело место удлинение митохондрий, кроме того путем выраженного подавления передачи сигналов осуществлялось нарушение процесса деления митохондрий. Фактически дефицит ERα приводит к подавлению фосфорилирования диамин-родственного белка (DRP1), ключевого фактора процесса деления митохондрий. То есть у мышей MERKO преобладает фенотип дисфункциональных митохондрий в мышцах. Очевидно, ERα необходим для поддержания функции митохондрий и защищает от связанных с митохондриями расстройств здоровья у женщин [69].

В экспериментах *in vitro* с использованием молекулярных методов определено, что E2 увеличивал уровни транскриптов мРНК MFN1, MFN2, OPA1 и DRP1, одновременно снижая FIS1 при 4-часовой обработке клеток MCF-7, и эти транскрипционные ответы ингибировались антиэстрогенным фулвестрантом (ICI 182,780). Авторы сообщили, что E2 индуцировал слияние митохондрий в клетках MCF-7, снижал экспрессию белков комплекса OXPHOS и повышал уровень АТФ.

Аналогичные результаты были зафиксированы в клетках T47D, обработанных E2, кроме того обнаружено, что избыточная экспрессия ERβ в клетках T47D увеличивает количество белков комплекса OXPHOS и снижает деление при одновременном

увеличении слияния [70]. Напротив, активация пути E2 – ERα в клетках MCF-7 увеличивала фосфорилирование DRP1 по ser616 для индукции активности DRP1, приводящей к делению митохондрий [71]. Возникла необходимость в ERα, так как нокдаун заблокировал E2и индуцировал фосфорилирование DRP1, но было ли это опосредовано негеномной активацией или активацией гена, влияющего на этот ответ, не оценивалось.

Наконец, с точки зрения старения установлено, что E2 защищает от клеточного старения и митохондриальной дисфункции, данный факт был выявлен в экспериментах с использованием клеток пупочной вены человека, клеток гладкой мускулатуры сосудов у самок мышей C57BL/6 [72]. Известна способность E2 увеличивать митохондриальную аутофагию, поддерживать митохондриальную функцию, тем самым замедляя процесс старения, однако E2 не модулирует ассоциированный с микротрубочками белок 1 легкой цепи 3 (LC3), так же как дефицит белка, связанного с аутофагией-7 (ATG7). Более того, E2-опосредованные эффекты на митохондриальную аутофагию были устранены при помощи либо Unc-51-подобной киназы-1 (Ulk1), либо Ras-родственного белка Rab-9 (Rab9).

Эти результаты показали, что E2-опосредованная митохондриальная аутофагия связана с Rab9-зависимой альтернативной аутофагией. Кроме того, E2 усиливает регуляцию сиртуина 1 (SIRT1) и активирует печеночную киназу B1 (LKB1), AMPK и Ulk1, а это указывает на то, что эффект E2 на индукцию Rab9-зависимой альтернативной аутофагии опосредован путем SIRT1/LKB1/AMPK/Ulk1. По сравнению с ложнооперированными мышами, у мышей с овариэктомией отмечены сниженная митохондриальная аутофагия и усиление митохондриальной дисфункции, а также старение артерий, все это успешно блокировалось благодаря E2 [72].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, митохондрии – это унаследованные от матери органеллы, которые обладают важнейшими тканеспецифическими функциями, включая синтез гормонов и выработку энергии, влияющие на развитие человека, его здоровье и старение. Однако свойственно ли митохондриям женщин и мужчин устойчивые биологические различия, остается до конца неясным, что представляет собой серьезный пробел в знаниях. Решение этого вопроса имеет первостепенное значение для разработки клинически специфичных показателей митохондриальной биологии и построения всеобъемлющих моделей здоровья человека, которые включают биоэнергетику.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Klinge C.M. Estrogenic control of mitochondrial function. *Redox Biol.* 2020;31:101435. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101435.
2. Simoni R.D., Hill R.L., Vaughan M. The discovery of estrone, estriol, and estradiol and the biochemical study of reproduction. The work of Edward Adelbert Doisy. *J. Biol. Chem.* 2002;277(28):e17. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)66427-6.
3. Klinge C.M., Clark B.J., Prough R.A. Dehydroepiandrosterone research: past, current, and future. *Vitam Horm.* 2018;108:1–28. DOI: 10.1016/bs.vh.2018.02.002.
4. Chen K.L., Madak-Erdogan Z. Estrogens and female liver health. *Steroids.* 2018;133:38–43. DOI: 10.1016/j.steroids.2017.10.015.
5. Gustafsson J.A. Historical review of nuclear receptors. *J. Steroid Biochemistry Mol. Biol.* 2016;157:3–6. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2015.03.004.
6. Klinge C.M. Estrogens regulate life and death in the mitochondria. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2017;49(4):307–324. DOI: 10.1007/s10863-017-9704-1.
7. Beale A.L., Kaye D.M., Marques F.Z. The role of the gut microbiome in sex differences in arterial pressure. *Biol. Sex Differ.* 2019;10(1):22. DOI: 10.1186/s13293-019-0236-8.
8. Link J.C., Reue K. Genetic basis for sex differences in obesity and lipid metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 2017;37:225–245. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071816-064827.
9. Pearce R.V., Young-Pearse T.L. Lost in translational biology: Understanding sex differences to inform studies of diseases of the nervous system. *Brain Res.* 2019;1722:146352. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.146352.
10. Shepard B.D. Sex differences in diabetes and kidney disease: mechanisms and consequences. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2019;317(2):F456–F462. DOI: 10.1152/ajprenal.00249.2019.
11. Frazier A.E., Thorburn D.R., Compton A.G. Mitochondrial energy generation disorders: genes, mechanisms, and clues to pathology. *J. Biol. Chem.* 2019;294(14):5386–5395. DOI: 10.1074/jbc.R117.809194.
12. Alston C.L., Rocha M.C., Lax N.Z., Turnbull D.M., Taylor R.W. The genetics and pathology of mitochondrial disease. *J. Pathol.* 2017;241(2):236–250. DOI: 10.1002/path.4809.
13. Rusecka J., Kaliszewska M., Bartnik E., Tońska K. Nuclear genes involved in mitochondrial diseases caused by instability of mitochondrial DNA. *J. Appl. Genet.* 2018;59(1):43–57. DOI: 10.1007/s13353-017-0424-3.
14. Gonzalez-Franquesa A., Patti M.E. Insulin resistance and mitochondrial dysfunction. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;982:465–520. DOI: 10.1007/978-3-319-55330-6_25.
15. Chow J., Rahman J., Achermann J.K., Dattani M.T., Rahman S. Mitochondrial disease and endocrine dysfunction. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017;13(2):92–104. DOI: 10.1038/nrendo.2016.151.
16. Balaton B.P., Dixon-McDougall T., Peeters S.B., Brown C.J. The eXceptional nature of the X chromosome. *Hum. Mol. Genet.* 2018;27(R2):R242–R249. DOI: 10.1093/hmg/ddy148.
17. Henstridge D.C., Abildgaard J., Lindegaard B., Febbraio M.A. Metabolic control and sex: A focus on inflammatory-linked mediators. *Br. J. Pharmacol.* 2019;176(21):4193–4207. DOI: 10.1111/bph.14642.
18. Mohammad I., Starskaia I., Nagy T., Guo J., Yatkin E., Väänänen K. et al. Estrogen receptor α contributes to T cell-mediated autoimmune inflammation by promoting T cell activation and proliferation. *Sci. Signal.* 2018;11(526):eaap9415. DOI: 10.1126/scisignal.aap9415.
19. Moulton V.R. Sex hormones in acquired immunity and autoimmune disease. *Front. Immunol.* 2018;9:2279. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02279.
20. Li Y., Xu A., Jia S., Huang J. Recent advances in the molecular mechanism of sex disparity in hepatocellular carcinoma. *Oncol. Lett.* 2019;17(5):4222–4228. DOI: 10.3892/ol.2019.10127.
21. Chen K.L., Madak-Erdogan Z. Estrogens and female liver health. *Steroids.* 2018;133:38–43. DOI: 10.1016/j.steroids.2017.10.015.
22. Skubic C., Drakulić Ž., Rozman D. Personalized therapy when tackling nonalcoholic fatty liver disease: a focus on sex, genes, and drugs. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2018;14(8):831–841. DOI: 10.1080/17425255.2018.1492552.
23. George N., Chen M., Yuen N., Hunt C.M., Suzuki A. Interplay of gender, age and drug properties on reporting frequency of drug-induced liver injury. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2018;94:101–107. DOI: 10.1016/j.yrtph.2018.01.018.
24. Cho J., Kim L., Li Z., Rose N.R., Talor M.V., Njoku D.B. Sex bias in experimental immune-mediated, drug-induced liver injury in BALB/c mice: suggested roles for Tregs, estrogen, and IL-6. *PLoS One.* 2013;8(4):e61186. DOI: 10.1371/journal.pone.0061186.
25. Marais G.A.B., Gaillard J.M., Vieira C., Plotton I., Sanlaville D., Gueyffier F. et al. Sex gap in aging and longevity: can sex chromosomes play a role? *Biol. Sex Differ.* 2018;9(1):33. DOI: 10.1186/s13293-018-0181-y.
26. Selvaraj V., Stocco D.M., Clark B.J. Current knowledge on the acute regulation of steroidogenesis. *Biol. Reprod.* 2018;99(1):13–26. DOI: 10.1093/biolre/iy102.
27. Picard M., McEwen B.S., Epel E.S., Sandi C. An energetic view of stress: Focus on mitochondria. *Front. Neuroendocrinol.* 2018;49:72–85. DOI: 10.1016/j.yfrne.2018.01.001.
28. Bajpai P., Koc E., Sonpavde G., Singh R., Singh K.K. Mitochondrial localization, import, and mitochondrial function of the androgen receptor. *J. Biol. Chem.* 2019;294(16):6621–6634. DOI: 10.1074/jbc.RA118.006727.
29. Ventura-Clapier R., Piquereau J., Veksler V., Garnier A. Estrogens, estrogen receptors effects on cardiac and skeletal muscle mitochondria. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2019;10:557. DOI: 10.3389/fendo.2019.00557.
30. Junker A., Wang J., Gouspillou G., Ehinger J. K., Elmer E., Sjövall F. et al. Human studies of mitochondrial biology demonstrate an overall lack of binary sex differences: A multivariate meta-analysis. *FASEB.* 2022;36(2):e22146. DOI: 10.1096/fj.202101628R.
31. Vafai S.B., Mootha V.K. Mitochondrial disorders as windows into an ancient organelle. *Nature.* 2012;491(7424):374–383. DOI: 10.1038/nature11707.
32. Rius R., Cowley M.J., Riley L., Puttick C., Thorburn D.R., Christodoulou J. Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans is not a common phenomenon. *Genet. Med.* 2019;21(12):2823–2826. DOI: 10.1038/s41436-019-0568-0.
33. Heuer B. Mitochondrial DNA: unraveling the “other” genome. *J. Am. Assoc. Nurse Pract.* 2021;33:673–675. DOI: 10.1097/JXX.0000000000000646.

34. Morganti C., Bonora M., Marchi S., Ferroni L., Gardin C., Wieckowski M.R. et al. Citrate mediates crosstalk between mitochondria and the nucleus to promote human mesenchymal stem cell *in vitro* osteogenesis. *Cells*. 2020;9:1034. DOI: 10.3390/cells9041034.
35. López-Lluch G. Mitochondrial activity and dynamics changes regarding metabolism in ageing and obesity. *Mech. Ageing Dev.* 2017;162:108–121. DOI: 10.1016/j.mad.2016.12.005.
36. Kenny T.C., Craig A.J., Villanueva A., Germain D. Mito-hormesis primes tumor invasion and metastasis. *Cell Rep.* 2019;27(8):2292–2303.e6. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.04.095.
37. Lejri I., Grimm A., Eckert A. Mitochondria, estrogen and female brain aging. *Front. Aging Neurosci.* 2018;10:124. DOI: 10.3389/fnagi.2018.00124.
38. Amsterdam A., Keren-Tal I., Aharoni D., Dantes A., Land-Bracha A., Rimon E. et al. Steroidogenesis and apoptosis in the mammalian ovary. *Steroids*. 2003;68(10–13):861–867. DOI: 10.1016/j.steroids.2003.09.003.
39. Midzak A., Papadopoulos V. Adrenal mitochondria and steroidogenesis: from individual proteins to functional protein assemblies. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2016;7:106. DOI: 10.3389/fendo.2016.00106.
40. Picard M., McEwen B.S., Epel E.S., Sandi C. An energetic view of stress: Focus on mitochondria. *Front. Neuroendocrinol.* 2018;49:72–85. DOI: 10.1016/j.yfrne.2018.01.001.
41. Jiao L., Machuki J.O., Wu Q., Shi M., Fu L., Adekunle A.O. et al. Estrogen and calcium handling proteins: new discoveries and mechanisms in cardiovascular diseases. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2020;318(4):H820–H829. DOI: 10.1152/ajpheart.00734.2019.
42. Landen S., Voisin S., Craig J.M., McGee S.L., Lamon S., Einnon N. Sex-dependent genetic and epigenetic adaptation to endurance exercise. *Epigenetics*. 2019;14(6):523–535. DOI: 10.1080/15592294.2019.1603961.
43. Mahmoodzadeh S., Dworatzek E. The role of 17 β -estradiol and estrogen receptors in regulation of Ca²⁺ channels and mitochondrial function in cardiomyocytes. *Front. Endocrinol.* 2019;10:310. DOI: 10.3389/fendo.2019.00310.
44. Frantsiyants E.M., Neskubina I.V., Shikhlyarova A.I., Yengibaryan M.A., Vashchenko L.N., Surikova E.I. et al. Content of apoptosis factors and self-organization processes in the mitochondria of heart cells in female mice C57BL/6 under growth of melanoma B16/F10 linked with comorbid pathology. *Cardiometry*. 2021;18:121–130.
45. Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Каплиева И.В., Сурикова Е.И., Черярина Н.Д., Бандовкина В.А. и др. Половые различия в содержании стероидных гормонов в митохондриях клеток сердца на этапах развития меланомы B16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2021;11(3):40–47.
46. Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Каплиева И.В., Шихлярова А.И., Сурикова Е.И., Черярина Н.Д. и др. Содержание нейростероидов в митохондриях клеток коры головного мозга при развитии меланомы B16/F10 на фоне хронической нейрогенной боли. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2021;11(4):48–55.
47. Norheim F., Hasin-Brumshtein Y., Vergnes L., Chella Krishnan K., Pan C., Seldin M.M. et al. Gene-by-sex interactions in mitochondrial functions and cardio-metabolic traits. *Cell Metab.* 2019;29(4):932–949. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.12.013.
48. Gomez M., Germain D. Cross talk between SOD1 and the mitochondrial UPR in cancer and neurodegeneration. *Mol. Cell Neurosci.* 2019;98:12–18. DOI: 10.1016/j.mcn.2019.04.003.
49. Lynch S., Boyett J.E., Smith M.R., Giordano-Mooga S. Sex hormone regulation of proteins modulating mitochondrial metabolism, dynamics and inter-organellar cross talk in cardiovascular disease. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021;8:610516. DOI: 10.3389/fcell.2020.610516.
50. Guajardo-Correa E., Silva-Agüero J.F., Calle X., Chiong M., Henríquez M., García-Rivas G. et al. Estrogen signaling as a bridge between the nucleus and mitochondria in cardiovascular diseases. *Front. Cell Dev. Biol.* 2022;10:968373. DOI: 10.3389/fcell.2022.968373.
51. Iorga A., Cunningham C.M., Moazeni S., Ruffenach G., Umar S., Eghbali M. The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy. *Biol. Sex Differ.* 2017;8(1):33. DOI: 10.1186/s13293-017-0152-8.
52. Okoh V.O., Garba N.A., Penney R.B., Das J., Deoraj A., Singh K.P. et al. Redox signalling to nuclear regulatory proteins by reactive oxygen species contributes to oestrogen-induced growth of breast cancer cells. *Br. J. Cancer*. 2015;112(10):1687–1702. DOI: 10.1038/bjc.2014.586.
53. Lone M.U., Baghel K.S., Kanchan R.K., Shrivastava R., Malik S.A., Tewari B.N. et al. Physical interaction of estrogen receptor with MnSOD: implication in mitochondrial O₂-up-regulation and mTORC2 potentiation in estrogen-responsive breast cancer cells. *Oncogene*. 2017;36(13):1829–1839. DOI: 10.1038/onc.2016.346.
54. Psarra A.M., Sekeris C.E. Glucocorticoid receptors and other nuclear transcription factors in mitochondria and possible functions. *Biochim. Biophys. Acta*. 2009;1787(5):431–436. DOI: 10.1016/j.bbabi.2008.11.011.
55. Song I.S., Jeong Y.J., Jeong S.H., Kim J.E., Han J., Kim T.H. et al. Modulation of mitochondrial ER β expression inhibits triple-negative breast cancer tumor progression by activating mitochondrial function. *Cell Physiol. Biochem*. 2019;52(3):468–485. DOI: 10.33594/0000000034.
56. Liao T.L., Li Yu.K., Zeng K.R., Wang Y.P., Chang H.I., Lin Y.F. et al. Mitochondrial translocation of estrogen receptor β confer resistance to oxidative stroke-induced apoptosis, and contributes to the pathogenesis of endometriosis. *Free Radic. Biol. Med.* 2019;134:359–373. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.022.
57. Nelson A.W., Groen A.J., Miller J.L., Warren A.Y., Holmes K.A., Tarulli G.A. et al. Comprehensive assessment of estrogen receptor beta antibodies in cancer cell line models and tissue reveals critical limitations in reagent specificity. *Mol. Cell Endocrinol.* 2017;440:138–150. DOI: 10.1016/j.mce.2016.11.016.
58. Wang Z.-Y., Yin L. Estrogen receptor alpha-36 (ER- α 36): a new player in human breast cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015;418:193–206. DOI: 10.1016/j.mce.2015.04.017.
59. Yu L., Das P., Vall A.J., Yan Y., Gao X., Sifre M.I. et al. Bisphenol A induces human uterine leiomyoma cell proliferation

- through membrane-associated ER α 36 via nongenomic signaling pathways. *Mol. Cell Endocrinol.* 2019;484:59–68. DOI: 10.1016/j.mce.2019.01.001.
60. Radde B.N., Ivanova M.M., May H.H., Alizade-Rad N., Piell K., Van Hues P. et al. Klin see nuclear respiratory factor-1 and bioenergetics in tamoxifen-resistant breast cancer cells. *Exp. Cell Res.* 2016;347(1):222–231. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.08.006.
61. Dzieran J., Rodriguez Garcia A., Westermarck U.K., Henley A.B., Eyre Sánchez E., Träger C. et al. MYCN-amplified neuroblastoma maintains an aggressive and undifferentiated phenotype by deregulation of estrogen and NGF signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115(6):e1229–e1238. DOI: 10.1073/pnas.1710901115.
62. Ribas V., Drew B.G., Zhou Z., Phun J., Kalajian N.Y., Soleymani T. et al. Skeletal muscle action of estrogen receptor α is critical for the maintenance of mitochondrial function and metabolic homeostasis in females. *Sci. Transl. Med.* 2016;8(334):334ra54. DOI: 10.1126/scitranslmed.aad3815.
63. Collins B.C., Arpke R.W., Larson A.A., Baumann C.W., Xie N. et al. Estrogen regulates the satellite cell compartment in females. *Cell Rep.* 2019;28(2):368–381. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.06.025.
64. Hevener A.L., Zhou Z., Moore T.M., Drew B.G., Ribas V. The impact of ER α action on muscle metabolism and insulin sensitivity – strong enough for a man, made for a woman. *Mol. Metab.* 2018;15:20–34. DOI: 10.1016/j.molmet.2018.06.013.
65. Torres M.J., Ryan T.E., Lin C.T., Zeczycki T.N., Neuffer P.D. Impact of 17 β -estradiol on complex I kinetics and H₂O₂ production in liver and skeletal muscle mitochondria. *J. Biol. Chem.* 2018;293(43):16889–16898. DOI: 10.1074/jbc.RA118.005148.
66. Chemello F., Grespi F., Zulian A., Cancellara P., Hebert-Chatelein E., Martini P. et al. Transcriptomic analysis of single isolated myofibers identifies miR-27a-3p and miR-142-3p as regulators of metabolism in skeletal muscle. *Cell Rep.* 2019;26(13):3784–3797.e8. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.02.105.
67. Kangas R., Törmäkangas T., Fey V., Pursiheimo J., Miinalainen I., Alen M. et al. Aging and serum exomiR content in women-effects of estrogenic hormone replacement therapy. *Sci. Rep.* 2017;7:42702. DOI: 10.1038/srep42702.
68. Laakkonen E.K., Soliymani R., Lalowski M. Estrogen regulates muscle bioenergetic signaling. *Aging (Albany NY).* 2018;10(2):160–161. DOI: 10.18632/aging.101380.
69. Yoh K., Ikeda K., Horie K., Inoue S. Roles of estrogen, estrogen receptors, and estrogen-related receptors in skeletal muscle: regulation of mitochondrial function. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(3):1853. DOI: 10.3390/ijms24031853.
70. Sastre-Serra J., Nadal-Serrano M., Pons D.G., Roca P., Oliver J. The over-expression of ERbeta modifies estradiol effects on mitochondrial dynamics in breast cancer cell line. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2013;45(7):1509–1515. DOI: 10.1016/j.biocel.2013.04.007.
71. Oo P.S., Yamaguchi Y., Sawaguchi A., Tin HtweKyaw M., Chojookhuu N., Noor Ali M. et al. Estrogen regulates mitochondrial morphology through phosphorylation of dynamin-related protein 1 in MCF7 human breast cancer cells. *Acta Histochem. Cytochem.* 2018;51(1):21–31. DOI: 10.1267/ahc.17034.
72. Sasaki Y., Ikeda Y., Uchikado Y., Akasaki Y., Sadoshima J., Ohishi M. Estrogen plays a crucial role in rab9-dependent mitochondrial autophagy, delaying arterial senescence. *J. Am. Heart Assoc.* 2021;10(7):e019310. DOI: 10.1161/JAHA.120.019310.

Вклад авторов

Кит О.И. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Франциянц Е.М. – разработка концепции и дизайна. Шихлярова А.И., Ильченко С.А. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Нескубина И.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Кит Олег Иванович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, генеральный директор НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>

Франциянц Елена Михайловна – д-р биол. наук, профессор, зам. генерального директора по науке, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Шихлярова Алла Ивановна – д-р биол. наук, профессор, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, shikhliarova.a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>.

Нескубина Ирина Валерьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, neskubina.irina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

Ильченко Сергей Александрович – канд. мед. наук, врач-онколог, отделение абдоминальной онкологии № 1, зам. генерального директора по образовательной деятельности, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, ilchenkosergei@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0796-3307>

(✉) Нескубина Ирина Валерьевна, neskubina.irina@mail.ru

Поступила в редакцию 17.08.2023;
одобрена после рецензирования 10.10.2023;
принята к публикации 02.11.2023

УДК 616.832-004.2-092:616.62-008.22-008.87
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-133-141>

Микробиота мочевых путей у пациентов с нейрогенной дисфункцией тазовых органов при рассеянном склерозе

Лузанова Е.И.¹, Карпова М.И.¹, Абрамовских О.С.¹, Четвернина Е.А.¹, Куприянов С.В.^{1,2}

¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет (ЮУГМУ)
Россия, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

² Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, Томск, пр. Ленина, 36

РЕЗЮМЕ

Рассеянный склероз (РС) является хроническим прогрессирующим заболеванием центральной нервной системы, распространенным среди лиц молодого возраста. Частый симптом болезни – это нейрогенная дисфункция тазовых органов. Молодым людям с диагнозом РС зачастую приходится одновременно принимать решения, связанные с лечением и планированием семьи.

Возможность реализации репродуктивных планов тесно связана с урологическими осложнениями заболевания, высоким риском инфекционных процессов мочеполовой системы, сексуальной дисфункцией. Кроме того, многие препараты, изменяющие течение РС, играют значительную роль в увеличении вероятности инфекционных осложнений. В связи с чем актуальной проблемой являются вопросы профилактики инфекций при РС. Эффективная персонализированная профилактика урогенитальных инфекций возможна при четком представлении о составе микробиоты.

Методы секвенирования ДНК позволили изменить классические представления о том, что здоровая моча стерильна. Были сформированы представления о бессимптомной бактериурии у здоровых людей, и в последние годы появляются сведения о геноитуробиоме пациентов с неврологическими заболеваниями. Расширение знаний о составе микроорганизмов мочеполовой системы неврологических пациентов необходимо для формирования потенциала здоровьесберегающих технологий.

Цель обзора: обобщение известных к настоящему времени сведений о микробиоценозе нижних мочевых путей и влагалища при нейрогенной дисфункции тазовых органов, в том числе при РС, представление данных о связи близко расположенных биотопов и влиянии терапии РС на риски инфекций мочеполовой сферы.

Ключевые слова: рассеянный склероз, нейрогенная дисфункция мочеиспускания, вагиноз, микробиота

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 23-25-10076.

Для цитирования: Лузанова Е.И., Карпова М.И., Абрамовских О.С., Четвернина Е.А., Куприянов С.В. Микробиота мочевых путей у пациентов с нейрогенной дисфункцией тазовых органов при рассеянном склерозе. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):133–141. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-133-141>.

✉ Лузанова Екатерина Игоревна, estrochikova@yandex.ru

Urinary tract microbiota in patients with multiple sclerosis and neurogenic pelvic dysfunction

Luzanova E.I.¹, Karpova M.I.¹, Abramovskikh O.S.¹, Chetvernina E.A.¹, Kupriyanov S.V.^{1,2}

South Ural State Medical University

64, Vorovskogo Str., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation

National Research Tomsk State University

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

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is a chronic progressive disease of the central nervous system common among young people. Neurogenic bladder often is a common symptom of the disease. Young people with MS often have to make treatment and family planning decisions at the same time.

The possibility of realizing reproductive plans is closely related to urological complications of the disease, high risk of urinary tract infections, and sexual dysfunction. In addition, disease modifying therapies for MS play a significant role in increasing the likelihood of infectious complications. Therefore, the issue of infection prevention in MS is critical. Effective personalized prevention of urogenital infections is possible with a clear understanding of the microbiota composition.

DNA sequencing methods have changed the conventional idea that normal urine is sterile and gave rise to the concepts of asymptomatic bacteriuria in healthy people. Moreover, data on the genitourinome of patients with neurological diseases have recently emerged. Extended knowledge about the microbiology in the genitourinary system of neurological patients is necessary to unleash the capacity of health-preserving technologies.

The aim of the review was to integrate currently available data concerning the microbiocenosis of the lower urinary tract and vagina with underlying neurogenic pelvic dysfunction, including MS, as well as to present data on the association between closely located biotopes and the effect of MS therapy on the risks of developing genitourinary infections.

Keywords: multiple sclerosis, neurogenic bladder, vaginosis, microbiota

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

For citation: Luzanova E.I., Karpova M.I., Abramovskikh O.S., Chetvernina E.A., Kupriyanov S.V. Urinary tract microbiota in patients with multiple sclerosis and neurogenic pelvic dysfunction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):133–141. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-133-141>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время окружающая среда и ее взаимодействие с генетическими факторами считаются основой для развития аутоиммунных процессов в организме человека. Состав микробиоты кишечника и ось «кишечник – мозг» все чаще рассматриваются как условие для развития иммуноопосредованных патологических состояний нервной системы, в том числе и рассеянного склероза (РС). В современном мире эта концепция имеет важное значение, поскольку микробный дисбиоз является следствием так называемой западной диеты, широкого применения антибиотиков и соблюдения чрезмерных санитарных условий.

Долгое время внимание ученых было сосредоточено на изучении исключительно микробиоты кишечника у пациентов с РС. В последнее время появляются результаты исследования и других локусов

организма-хозяина. Так показано, что микроорганизмы ротовой полости могут влиять на уровень воспаления при РС, тем самым внося вклад в механизмы течения заболевания [1]. Следует отметить, что данные по составу и функционированию других биотопов скудны или отсутствуют. При этом высказываются предположения о существовании тесной связи между соседними локусами. Вероятно, что изменения состава и функциональной активности микробиоты в одной локации могут приводить к возникновению отклонений в близко расположенных областях.

Нарушение функции кишечника и мочевого пузыря является частью разнообразной клинической картины РС и регистрируется у 50–90% пациентов [2]. В среднем через 6 лет после дебюта заболевания диагностируются инфекции мочевых путей (ИМП): нижних (от 13 до 74%) и 8% верхних (от 0 до 25%), а в структуре смертности хроническая почечная недо-

статочность и уросепсис – одни из ведущих причин гибели пациентов с РС. При этом обструктивный и смешанный варианты дисфункции микции являются наиболее угрожаемыми по развитию инфекционно-воспалительных процессов и встречаются при РС достоверно чаще.

Целью данного обзора является обобщение современных данных о составе микробиоты урогенитального тракта у пациентов с нейрогенной дисфункцией мочеиспускания, в особенности при РС, и обсуждение рисков инфекционных заболеваний мочеполовой системы. Поиск информации проводился по следующим ключевым словам: рассеянный склероз, микробиота мочи, вагинит, нейрогенная дисфункция мочевого пузыря, инфекции нижних мочевых путей, multiple sclerosis, urinary microbiota, vaginitis, neurogenic bladder dysfunction, lower urinary tract infections. Были использованы базы данных PubMed, elibrary.ru. Всего была найдена 251 публикация (клинические исследования, метаанализы, рандомизированные контролируемые исследования, систематические обзоры) за последние 15 лет. Было отобрано 46 статей, соответствующих изучаемой проблеме.

МИКРОБИОТА НИЖНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Долгое время на основании результатов культивирования моча считалась стерильной, а наличие в ней бактерий связывали с воспалительной реакцией и ИМП. Современные высокочувствительные диагностические тесты установили, что мочевые пути здорового человека на всем своем протяжении нестерильны. С 2010 г. начало формироваться новое представление о бессимптомной бактериурии (ББ) благодаря работам D.E. Nelson и соавт. [3] и группы российских ученых под руководством М.И. Коган [4]. Полученные ими данные о наличии в моче здоровых мужчин и женщин бактерий были подтверждены Н. Siddiqui и соавт. в 2011 г. методом метагеномного секвенирования [5].

А. J. Wolfe и соавт. выполнили работу с образцами мочи, взятыми разными способами у здоровых женщин. Наличие бактерий в этих образцах оценивали с помощью посева, световой микроскопии и секвенирования гена *16S* рРНК. Образцы мочи, выделенные из мочеиспускательного канала при самостоятельном опорожнении, содержали смесь бактерий мочевыводящих путей и половых путей. Микроорганизмы, идентифицированные в параллельных образцах мочи, собранные с использованием трансуретрального катетера и методом надлобковой аспирации, были сходными и дополнительно содержали некультивируемые бактерии, что позво-

лило автором сделать вывод о нестерильности мочевого пузыря [6].

В последующие годы появились новые сведения о микробиоте мочи в норме и при ряде заболеваний и состояний: гиперактивном мочевом пузыре [7], недержании мочи [8], хроническом простатите [9], интерстициальном цистите [10, 11], онкологическом поражении мочевого пузыря и предстательной железы [12–14], уролитиазе [15]. Методами геномики удалось выявить существование микробного сообщества мочевого пузыря, которое не определялось с помощью стандартного культурального метода.

Таким образом, все люди в норме имеют бактериурию, а учитывая тот факт, что в мочевых путях обнаружены не только бактерии, но и другие микроорганизмы (вирусы, грибы), более оправданно в настоящее время применять не термин «бактериурия», а понятие «микробиом мочевых путей». Нормобиом мочи различается в зависимости от пола. У мужчин значительно выше относительное содержание бактерий рода *Corynebacterium*, а у женщин – представителей рода *Lactobacillus*. Более того, учитывая высокую значимость микробиома, некоторые ученые даже предлагают использовать термин «дисбиоз мочевых путей» вместо «инфекция мочевых путей» [16].

Несмотря на то, что большое количество исследований посвящено составу микробиома мочевого пузыря [17–19], отсутствуют данные о колонизации верхних мочевых путей, что обусловлено очевидными техническими сложностями для изучения. Высказываются предположения, что микроорганизмы присутствуют в мочевых путях на всем их протяжении [6]. Это открытие имеет решающее значение. Чрезмерные и неоправданные попытки санации урогенитального тракта по поводу ББ ведет к устойчивости к противомикробным препаратам, что приводит к неадекватному лечению ИМП, увеличению заболеваемости и смертности.

ТРАНСЛОКАЦИОННЫЙ МЕХАНИЗМ МИГРАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

В настоящее время все больше исследователей предпринимают попытки изучения микробного биоценоза мочеполовых путей как у здоровых лиц, так и у пациентов с ИМП в контексте взаимосвязи с микробиотой толстого кишечника. Такой подход имеет цели детализации этиопатогенеза инфекционных заболеваний урогенитального тракта. Кроме того, предполагается, что аноректальные проблемы (в частности, запоры), могут выполнять роль триггеров развития инфекционного процесса мочевых путей [20]. Принимая во внимание, что ряд неврологических заболеваний, в том числе РС, в структуре

клинической картины имеет дисфункцию тазовых органов, то зачастую нарушение мочеиспускания сочетается с нарушением опорожнения кишечника.

Попытки изучения транслокационного механизма миграции микроорганизмов из толстого кишечника в органы мочеполовой системы привели к выводу, что уропатогенные кишечные палочки успешно колонизируют мочевыводящие пути. Так, здоровые женщины, которые не имели эпизодов ИМП, в моче содержали фекальные изоляты *Escherichia coli*, которые в целом были тесно связаны по геномному паттерну с *E. coli* и фекальными изолятами, выделенными также от пациенток с ИМП [21]. При изучении случаев ИМП, вызванной *Klebsiella pneumoniae*, также были получены сведения о происхождении данного микроорганизма из толстого кишечника [22].

Ю.Л. Набока и соавт. представили данные о значимых коэффициентах корреляции между микроорганизмами, выделенными из мочи и толстого кишечника, косвенно подтверждающие транслокационный механизм [23]. Однако известно, что здоровый микробиом мочи характеризуется преобладанием бактерий рода *Lactobacillus* у женщин и *Corynebacterium* у мужчин. У мужчин микроорганизмы рода *Corynebacterium* являются распространенными представителями флоры кожных покровов, а у женщин влагалище колонизировано различными видами из рода *Lactobacillus*, что, вероятно, свидетельствует о существовании транслокационных механизмов миграции между этими локусами. Таким образом, в настоящее время обсуждается существование фекально-перинеально-уретрального пути передачи флоры в мочеполовой тракт [24].

МИКРОБИОТА ПРИ НЕЙРОГЕННОЙ ДИСФУНКЦИИ НИЖНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Данные о микробиоме мочевых путей у неврологических больных, имеющих в структуре клинической картины нейрогенный мочевой пузырь, скудные и касаются небольшой группы пациентов с травматическим поражением спинного мозга. Перекрестное исследование 27 человек со спинальной травмой и симптомами нейрогенной дисфункции нижних мочевыводящих путей изучило микробный состав мочи в сравнении со здоровыми добровольцами методом секвенирования 16S рДНК и метапротеомического анализа. Следует отметить, что 19 пациентов использовали разные методы отведения мочи (периодическая катетеризация, уретральный катетер Фолея).

В первую десятку бактериальных таксонов, доминирующих по численности и вариабельности в образцах мочи, вошли *Lactobacillales*, *Enterobacteriales*,

Actinomycetales, *Bacillales*, *Clostridiales*, *Bacteroidales*, *Burkholderiales*, *Pseudomonadales*, *Bifidobacteriales* и *Coriobacteriales*. При этом *Lactobacillales* и *Enterobacteriales* были двумя наиболее многочисленными и изменчивыми таксономическими группами [25]. Было обнаружено явное преобладание представителей рода *Lactobacillus* в моче у здоровых женщин контрольной группы. При этом наблюдалось прогрессивное снижение обилия представителей нормальной вагинальной микрофлоры у женщин с нейрогенной дисфункцией мочеиспускания при любом типе опорожнения мочевого пузыря (самостоятельное или с использованием катетера). Вероятно, что увеличение времени использования катетера более 3 мес и нарастание тяжести нейрогенной дисфункции влияют на способность *Lactobacillus* колонизировать мочевыводящие пути [25].

Альтернативное объяснение этого явления может быть связано с близостью наружной уретры к вагинальному микробиоценозу, поэтому бактерии рода *Lactobacillus* рассматриваются как «загрязнители» мочевыводящих путей. Однако принимая во внимание работу A.J. Wolfe и соавт., которые показали присутствие представителей *Lactobacillus* в моче, собранной как трансуретральными катетерами, так и при надлобковом заборе, взятом непосредственно из мочевого пузыря, это предположение выглядит маловероятным [6]. Бактерии рода *Lactobacillus* продуцируют молочную кислоту и, тем самым, осуществляют контроль роста вирулентных бактерий, которые не могут выжить в более кислой среде. Предполагается, что присутствие *Lactobacillus* в уретре и (или мочевом) пузыре может выполнять протективную функцию как у женщин, так и мужчин. Так, Q. Dong и соавт. показали присутствие микроорганизмов рода *Lactobacillus* в чистых образцах мочи здоровых мужчин [26].

Эта гипотеза имеет критическое значение для лиц с нейрогенной дисфункцией мочевого пузыря. Необходимость в использовании технических средств реабилитации увеличивает риск развития ИМП, а на фоне дисбиоза мочевыводящих путей формируется благоприятная среда для роста патогенных микроорганизмов. Таким образом, представители рода *Lactobacillus* рассматриваются как комменсальные микроорганизмы, отражающие состояние эубиоза, преимущественно у женщин, чем у мужчин. Микробиом группы риска по развитию ИМП может характеризоваться снижением или явным отсутствием бактерий рода *Lactobacillus*. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что клиническая цель «стерильной» безмикробной мочи может быть неоптимальной для пациента.

Микробиологическая картина при нейрогенной дисфункции мочеиспускания изменяется в зависимости от способа отведения мочи. Так, на фоне использования катетера помимо значимого снижения представленности рода *Lactobacillus* описано преобладание других микроорганизмов из семейства Lactobacillales: бактерий рода *Aerococcus* и *Enterococcus*. Два вида аэрококков: *A. urinae* и *A. sanguinicola*, могут вызывать ИМП. Кроме того, доля энтеробактерий в микробиоте мочи пациентов с нейрогенной дисфункцией нижних мочевыводящих путей растет с увеличением длительности симптомов.

Схожие данные о составе микробиоты мочи при нейрогенной дисфункции, вызванной позвоночно-спинномозговой травмой, или *spina bifida*, были получены в работе Е.С. Филипповой и соавт. [27]. Авторы отметили корреляцию между результатами исследования мочи культуральным методом и данными 16S рНК секвенирования. Как и в более ранних работах, уробиом этих пациентов состоял из многообразия порядка *Enterobacterales*. Наиболее часто встречающимися микроорганизмами были представители родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Lactobacillus* и *Enterococcus*.

Использование метагеномного секвенирования позволило идентифицировать микроорганизмы, которые невозможно обнаружить в посевах мочи. У ряда больных в моче были определены до 21 родов представителей семейств Cellulomonad (*Cellulomonas* spp.), Prevotellaceae (*Prevotella melaninogenica*, *Prevotella* spp.), Flavobacteriaceae, Bacillales Family X. Incertae Sedis, Gemella (*Gemella asaccharolytica*), Carnobacteriaceae (*Carnobacterium* spp.), Veillonellaceae (*Veillonella* spp.), Peptoniphilaceae (*Parvimonas* spp.), Sphingomonadaceae (*Sphingomonas* spp.), Pseudoalteromonadaceae (*Pseudoalteromonas* spp.), Moraxellaceae (*Acinetobacter* spp.), Vibrionaceae (*Vibrio* spp.).

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ УРОДИНАМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И УРОБИОМ

Механизмы, лежащие в основе взаимодействия мочевого пузыря и микрофлоры, разнообразны и являются предметом научных дискуссий. Один из них – это нарушение кровоснабжения стенки мочевого пузыря вследствие высокого внутрипузырного давления. На фоне ишемии тканей создаются благоприятные условия для колонизации слизистой представителями кишечной микрофлоры. Кроме того, нарушение трофики стенки органа приводит к гистологическим изменениям детрузора: уменьшается

объем мышечных волокон, на их месте развивается соединительная ткань. Следствием таких трансформаций является снижение пластичности мочевого пузыря и усиление ишемии [27, 28].

Еще одна проблема нейрогенной дисфункции нижних мочевыводящих путей – это высокий риск формирования пузырно-мочеточникового рефлюкса на фоне высокого внутрипузырного давления. Подобное нарушение уродинамики является доказанным фактором риска ИМП у пациентов с нейрогенным мочевым пузырем [27, 29]. Поэтому в основе профилактики ИМП у пациента с неврологическим заболеванием лежат коррекция уродинамики, контроль детрузорной гиперактивности, предотвращение пузырно-мочеточникового рефлюкса, выбор оптимального способа отведения мочи. Место пробиотиков в предотвращении ИМП продолжает обсуждаться. Связано это с недостаточными знаниями о составе и функциях микробиоты мочевыводящих путей и отсутствием клинических исследований, которые продемонстрировали бы доказанную эффективность такого превентивного подхода.

Один из современных способов, позволяющих учесть все превентивные цели, это детрузорстабилизирующая терапия ботулотоксином типа А. В пилотном проекте Е.С. Филиппова и соавт. на фоне ботулинотерапии мочевого пузыря при нейрогенной дисфункции наблюдали изменение качественного состава микробиома мочи. Авторами была отмечена тенденция к восстановлению зубиоза: у трех из четырех женщин наблюдалось увеличение представителей Lactobacillaceae и уменьшение бактерий семейства Enterobacteriaceae [27].

МИКРОБИОТА НИЖНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ И РАССЕЯННЫЙ СКЛЕРОЗ

Многие неврологические заболевания имеют в клинической картине нарушение функции тазовых органов. Однако в опубликованных работах наиболее подробно были изучены микробиологические изменения мочи при спинальной травме и врожденной патологии развития позвоночника.

Известно, что при РС в моче наиболее часто встречаются *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*. Эти данные получены в работах с использованием культуральных методов диагностики. Нами не были найдены данные об исследованиях с применением методик, позволяющих определять некультивируемые бактерии из мочи пациентов с РС и нейрогенной дисфункцией. Известно, что для РС характерна высокая распространенность ИМП и частота рецидивов [30].

Так, при проспективном анализе 798 клинических случаев РС у каждого третьего человека с первично прогрессирующим РС в анамнезе была урогенитальная инфекция, каждый пятый пациент с РРС сталкивался с вагинитом или инфекцией мочевых путей, 40% пациентов со вторично прогрессирующим РС имели опыт ИМП или инфекционное заболевание влагалища [31]. Однако четкие представления о составе микробиоценоза нижних мочевых путей пациентов с РС в настоящее время не сформированы.

Следует отметить, что ИМП могут провоцировать усиление клинической активности заболевания, приводя к обострению РС [32]. Кроме того, зачастую в клинической практике до сих пор встречается неоправданное применение фармакологического лечения ББ, хотя в настоящее время эксперты подчеркивают, что такой подход не имеет доказательств клинической эффективности. Поскольку лечение ББ вызывает значительный рост более устойчивых штаммов бактерий, оно рекомендуется в исключительных случаях при рецидивирующих острых ИМП, перед проведением манипуляций по лечению ИМП, при беременности или у пациентов, нуждающихся в иммуносупрессии [32].

Инфицирование нижних мочевых путей полирезистентной микрофлорой, рецидивирующий характер ИМП, нерациональное использование антибиотиков создают еще одну проблему – антибиотикорезистентность. Кроме того, ИМП в этой группе пациентов ассоциируются с высокой частотой госпитализаций и высоким уровнем смертности. В отличие от других неврологических пациентов, люди с РС представляют особый контингент, который имеет множество факторов риска развития инфекций: постоянное иммуномодулирующее лечение, эпизоды высокодозной терапии глюкокортикостероидами обострений заболевания, очаговое поражение спинного мозга и сопутствующая дисфункция тазовых органов, что зачастую приводит к необходимости катетеризации мочевого пузыря.

Пациенты с РС пожизненно принимают лечение, направленное на модификацию работы иммунной системы, так называемые препараты, изменяющие течение РС (ПИТРС). В России зарегистрировано порядка 11 лекарственных соединений, они имеют разный механизм действия и степень влияния на иммунитет. К ПИТРС в России относятся: глатирамера ацетат (ГА), интерферон β -1b и β -1a, терифлуномид (ТФН), диметилфумарат (ДМФ), финголимод, нализумаб (НАТ), окрелизумаб, алемтузумаб, клатрибин и др. Вероятность воздействия ПИТРС на микробиоту нижних мочевых путей остается предметом дискуссии.

В 2020 г. J. Hellgren и соавт. предположили, что при использовании ритуксимаба, препарата, незарегистрированного в России для лечения РС, возможно увеличение риска развития ИМП [33]. C.G. Chisari и соавт. подтвердили данные о том, что применение ритуксимаба может повышать заболеваемость ИМП при РС [34]. Но в этих исследованиях не изучалось влияние продолжительности применения ритуксимаба на частоту ИМП. Позже М.А. Mesgarof и соавт. показали, что частота ИМП возрастает при увеличении времени использования ритуксимаба [31].

Относительно применения ПИТРС и риске ИМП в настоящее время существует противоречивая точка зрения. Было замечено, что ИМП значительно чаще встречались у пациентов, получающих лечение препаратом алемтузумаб. В двух клинических исследованиях частота возникновения урогенитальных инфекций была выше при использовании алемтузумаба по сравнению с интерфероном β -1a и несколько ниже (но не статистически значимо) в другом исследовании [31, 35].

В некоторых работах было показано, что лечение интерфероном β -1b, с одной стороны, может увеличивать частоту ИМП [32, 36]. С другой стороны, экспертный консенсус 2021 г., посвященный инфекционным осложнениям на фоне терапии ПИТРС, утверждает, что интерфероны не увеличивают риск ИМП у пациентов с РС, как и большинство других ПИТРС: ГА, ТФН, ДМФ, НАТ, финголимод, клатрибин и окрелизумаб [30]. Однако в более позднем исследовании М.А. Mesgarof и соавт. получили данные о значимом влиянии терапии интерферона β -1b и ее длительности на вероятность развития ИМП, в свою очередь интерферон β -1a не увеличивал риск ИМП [31].

В 2021 г. В.А. Срее и соавт. провели рандомизированное клиническое исследование эффективности и безопасности финголимода для лечения РС, в качестве препарата сравнения был выбран ГА [37]. В своей публикации авторы отметили ИМП как нежелательное явление терапии в группе ГА. Кроме того, М.А. Mesgarof и соавт. также установили, что воздействие ГА увеличивало частоту ИМП, но продолжительность его применения не оказывала существенного влияния на этот риск [31].

МИКРОБИОТА ВЛАГАЛИЩА И РАССЕЯННЫЙ СКЛЕРОЗ

РС сам по себе не оказывает неблагоприятного влияния на фертильность, вынашивание плода или роды, однако беременность таким пациентам необходимо тщательно планировать. На принятие решения о возможности вынашивания беременности влияет применение иммуноотропной терапии, течение

заболевания и сопутствующие состояние, в частности нейроурологические нарушения, повышающие риски ИМП.

Состав биотопа влагалища является малоизученным вопросом у людей с РС. Нам не встретились исследования, посвященные изучению количественного и качественного микробиологического состава влагалища при РС. Однако аналогично концепции подверженности людей с РС инфекционным заболеваниям, существует проблема увеличения частоты бактериальных вагинитов у женщин с РС. На это указывают некоторые исследования и описания клинических случаев инфекционных вагинитов у женщин, принимавших ПИТРС [31].

Длительная наблюдательная программа за пациентами, принимающими НАТ в качестве ПИТРС, выявила, что наиболее частыми нежелательными явлениями терапии являются инфекции, из них в 0,3% случаев это развитие ИМП [38]. G.M. Makris и соавт. отмечают, что рецидивирующий вагинит следует рассматривать как возможный побочный эффект, возникающий при длительном лечении НАТ [39]. Они описали клинический случай пациентки с ремиттирующим РС, страдавшей персистирующими гинекологическими инфекциями, при культуральном исследовании вагинального секрета были выявлены патогенные микроорганизмы. Эта женщина в течение трех лет получала лечение НАТ. Хроническое течение инфекционно-воспалительного процесса привело к неоднократному использованию как местных, так и системных антибактериальных и противогрибковых препаратов.

Ранее ряд авторов также называли НАТ фактором риска развития вагинита у женщин с РС [40, 41]. Тем не менее исследование М.А. Mesgarof и соавт. не выявило связи между лечением РС данным моноклональным антителом и развитием вагинитов [31].

Использование ритуксимаба в качестве анти-В-клеточной терапии РС также может сопровождаться субоптимальным состоянием флоры влагалища с исчезновением лактобактерий и повышением риска инфекционных осложнений [42].

J.M. Lee и соавт., описывая нежелательные явления терапии финголимодом, в 2015 г. пришли к выводу, что вагинит является побочным эффектом приема данного препарата [43]. Наблюдение М.А. Mesgarof и соавт. также свидетельствует о том, что финголимод увеличивает риск вагинита вне зависимости от длительности терапии [31]. Однако более поздние работы получили противоречивые данные: так, в ряде исследований не было отмечено увеличение частоты инфекционных заболеваний влагалища [44, 45].

В современной литературе практически нет данных о том, что ГА является фактором риска

развития вагинита за исключением исследования М.А. Mesgarof и соавт., которое показало, что продолжительная терапия ГА может способствовать инфекционному процессу во влагалище [31].

Изучение связи между типом течения РС и частотой инфекционно-воспалительных заболеваний влагалища установило, что наиболее часто вагинит имел место при РРС, однако достоверных различий достигнуто не было [31].

Следует отметить, что большинство исследований имело ряд ограничений, связанных с количеством пациентов, применяемыми методами, влиянием сопутствующих факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные представления о микробиоте урогенитального тракта у пациентов с нейрогенной дисфункцией мочеиспускания допускают наличие бессимптомной бактериурии с выраженным снижением резидентов нормальной флоры. Нарушение функции мочеиспускания и его длительность, а также способ отведения мочи – признанные факторы риска развития ИМП, однако о влиянии других условий однозначного мнения не сформировано. Остается множество нерешенных вопросов о генитоуробиоме пациентов с РС.

Эта категория неврологических больных является группой риска по развитию инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовой сферы. Наличие вероятной транслокации микроорганизмов между локусами, взаимосвязи функционального состояния мочевого пузыря и состава микробиома может стать основой новых превентивных и терапевтических стратегий для решения проблемы ИМП, сохранения репродуктивного здоровья и планирования семьи. В настоящее время необходимы дальнейшие исследования урогенитального микробиоценоза у пациентов с РС для расширения фундаментальных знаний и улучшения качества оказания медицинской помощи.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Zangeneh Z., Abdi-Ali A., Khamooshian K., Alvandi A., Abiri R. Bacterial variation in the oral microbiota in multiple sclerosis patients. *PLoS One*. 2021;16(11):e0260384. DOI: 10.1371/journal.pone.0260384.
2. Phé V., Chartier-Kastler E., Panicker J.N. Management of neurogenic bladder in patients with multiple sclerosis. *Nat. Rev. Urol.* 2016;13(5):275–288. DOI: 10.1038/nrurol.2016.53.
3. Nelson D.E., Van Der Pol B., Dong Q., Revanna K.V., Fan B., Easwaran S. et al. Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *PLoS One*. 2010;5(11):e14116. DOI: 10.1371/journal.pone.0014116.
4. Набока Ю.Л., Гудима И.А., Коган М.И., Черницкая М.Л. Микробный спектр мочи молодых здоровых женщин. *Урология*. 2010;(5):7–10.

5. Siddiqui H., Nederbragt A.J., Lagesen K., Jeansson S.L., Jakobsen K.S. Assessing diversity of the female urine microbiota by high throughput sequencing of 16S rDNA amplicons. *BMC Microbiol.* 2011;11:244. DOI: 10.1186/1471-2180-11-244.
6. Wolfe A.J., Toh E., Shibata N., Rong R., Kenton K., Fitzgerald M. et al. Evidence of uncultivated bacteria in the adult female bladder. *J. Clin. Microbiol.* 2012;50(4):1376–1383. DOI: 10.1128/JCM.05852-11.
7. Karstens L., Asquith M., Davin S., Stauffer P., Fair D., Gregory W.T. et al. Does the urinary microbiome play a role in urgency urinary incontinence and its severity? *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2016;6:78. DOI: 10.3389/fcimb.2016.00078.
8. Govender Y., Gabriel I., Minassian V., Fichorova R. The current evidence on the association between the urinary microbiome and urinary incontinence in women. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019;9:133. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00133.
9. Коган М.И., Набока Ю.Л., Исмаилов Р.С. Микробиота секрета простаты: сравнительный анализ хронического простатита категорий II и IIIA. *Урология.* 2020;(2):16–22. DOI: 10.18565/urology.2020.2.16-22.
10. Meriwether K.V., Lei Z., Singh R., Gaskins J., Hobson D.T.G., Jala V. The Vaginal and Urinary Microbiomes in Premenopausal Women With Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome as Compared to Unaffected Controls: A Pilot Cross-Sectional Study. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2019;9:92. DOI: 10.3389/fcimb.2019.0009215.
11. Abernethy M.G., Rosenfeld A., White J.R., Mueller M.G., Lewicky-Gaupp C., Kenton K. Urinary microbiome and tokine levels in women with interstitial cystitis. *Obstet. Gynecol.* 2017;129(3):500–506. DOI: 10.1097/AOG.000000000000189216.
12. Bučević Popović V., Šitum M., Chow C.T., Chan L.S., Roje B., Terzić J. The urinary microbiome associated with bladder cancer. *Sci. Rep.* 2018;8(1):12157. DOI: 10.1038/s41598-018-29054-w.
13. Wu P., Zhang G., Zhao J., Chen J., Chen Y., Huang W. et al. Profiling the urinary microbiota in male patients with bladder cancer in China. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2018;8:167. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00167.
14. Коган М.И., Набока Ю.Л., Рыжкин А.В., Васильев О.Н. Микробиота/микробиом мочи и рак мочевого пузыря. *Онкоурология.* 2020;16(2):97–103. DOI: 10.17650/1726-9776-2020-16-2-97-103.
15. Mehta M., Goldfarb D.S., Nazzari L. The role of the microbiome in kidney stone formation. *Int. J. Surg.* 2016;36:607–612. DOI: 10.1016/j.ijssu.2016.11.024.
16. Finucane T.E. «Urinary tract infection» – requiem for a heavy-weight. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2017;65(8):1650–1655. DOI: 10.1111/jgs.14907.
17. Curtiss N., Balachandran A., Krska L., Peppiatt-Wildman C., Wildman S., Duckett J. Age, menopausal status and the bladder microbiome. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2018;228:126–129. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2018.06.011.
18. Komesu Y.M., Amundsen C.L., Richter H.E., Erickson S.W., Ackenbom M.F., Andy U.U. et al. Refractory urgency urinary incontinence treatment in women: impact of age on outcomes and complications. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018;218(1):111.e1–111.e9. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.10.006.
19. Nicolle L.E., Gupta K., Bradley S.F., Colgan R., DeMuri G.P., Drekonja D. et al. Clinical practice guideline for the management of asymptomatic bacteriuria: 2019 update by the infectious diseases society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2019;68(10):e83–e110. DOI: 10.1093/cid/ciy1121.
20. Averbek M.A., Iacovelli V., Panicker J., Schurch B., Agro E.F. Urodynamics in patients with multiple sclerosis: A consensus statement from a urodynamic experts working group. *Neuro-urol. Urodyn.* 2020;39(1):73–82. DOI: 10.1002/nau.24230.
21. Вялкова А.А., Гриценко В.А. Инфекция мочевой системы у детей: современные аспекты этиологической диагностики и лечения. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2017;62(1):99–108. DOI: 10.21508/1027-40652017-62-1-99-108.
22. Pan Y.J., Lin T.L., Chen C.T., Chen Y.-Y., Hsieh P.-F., Hsu C.-R. et al. Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella* spp. *Sci. Rep.* 2015;5:15573. DOI: 10.1038/srep15573.
23. Набока Ю.Л., Коган М.И., Гудима И.А., Митусова Е.В., Джалагония К.Т., Иванов С.Н. Существует ли взаимосвязь между микробиотой мочи, влагалища и кишечника при инфекции верхних мочевых путей? *Вестник урологии.* 2019;7(1):38–45. DOI: 10.21886/2308-6424-2019-7-1-38-45.
24. Nielsen K.L., Stegger M., Kiil K., Godfrey P.A., Feldgarden M., Lilje B. et al. Whole-genome comparison of urinary pathogenic *Escherichia coli* and faecal isolates of UTI patients and healthy controls. *Int. J. Med. Microbiol.* 2017;307(8):497–507. DOI: 10.1016/j.ijmm.2017.09.007.
25. Fouts D.E., Pieper R., Szpakowski S., Pohl H., Knoblach S., Suh M.-J. et al. Integrated next-generation sequencing of 16S rDNA and metaproteomics differentiate the healthy urine microbiome from asymptomatic bacteriuria in neuro-pathic bladder associated with spinal cord injury. *J. Transl. Med.* 2012;10:174. DOI: 10.1186/1479-5876-10-174.
26. Dong Q., Nelson D.E., Toh E., Diao L., Gao X., Fortenberry J.D. et al. The microbial communities in male first catch urine are highly similar to those in paired urethral swab specimens. *PLoS One.* 2011;6(5):e19709. DOI: 10.1371/journal.pone.0019709.
27. Филиппова Е.С., Баженов И.В., Зырянов А.В. Влияет ли ботулинотерапия на микробиом мочи больных нейрогенным мочевым пузырём? Результаты метагеномного секвенирования. *Вестник урологии.* 2020;8(3):85–96. DOI: 10.21886/2308-6424-2020-8-3-85-96.
28. Lapidus J., Diokno A.C., Silber S.J., Lowe B.S. Clean, intermittent self-catheterization in the treatment of urinary tract disease. *J. Urol.* 1972;107(3):458–461. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)61055-3.
29. Vasudeva P., Madersbacher H. Factors implicated in pathogenesis of urinary tract infections in neurogenic bladders: some revered, few forgotten, others ignored. *Neuro-urol. Urodyn.* 2014;33(1):95–100. DOI: 10.1002/nau.22378.
30. Moiola L., Barcella V., Benatti S., Capobianco M., Capra R., Cinque P. et al. The risk of infection in patients with multiple sclerosis treated with disease-modifying therapies: A Delphi consensus statement. *Mult. Scler.* 2021;27(3):331–346. DOI: 10.1177/1352458520952311.
31. Mesgarof M.A., Fattahi M.R., Hemmati Z., Iranmehr A., Azizi H., Rahimi S. Genitourinary infectious complications in

- patients with multiple sclerosis and their association with disease modifying therapies. *Translat Res. Urol.* 2022;4(2):98–103. DOI: 10.22034/tru.2022.346350.1114.
32. De Medeiros Junior W.L.G., Demore C.C., Mazaro L.P., de Souza M.F.N., Parolin L.F., Melo L.H. et al. Urinary tract infection in patients with multiple sclerosis: an overview. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;46:102462. DOI: 10.1016/j.msard.2020.102462.
 33. Hellgren J., Risedal A., Källén K. Rituximab in multiple sclerosis at general hospital level. *Acta Neurol. Scand.* 2020;141(6):491–499. DOI: 10.1111/ane.13225.
 34. Chisari C.G., Sgarlata E., Arena S., Toscano S., Luca M., Patti F. Rituximab for the treatment of multiple sclerosis: a review. *J. Neurol.* 2022;269(1):159–183. DOI: 10.1007/s00415-020-10362-z.
 35. Coles A.J., Twyman C.L., Arnold D.L., Cohen J.A., Confavreux C., Fox E.J. et al. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: A randomised controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2012;380(9856):1829–1839. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61768-1.
 36. Reder A.T., Oger J.F., Kappos L., O'Connor P., Rametta M. Shortterm and long-term safety and tolerability of interferon β -1b in multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2014;3(3):294–302. DOI: 10.1016/j.msard.2013.11.005.
 37. Cree B.A., Goldman M.D., Corboy J.R., Singer B.A., Fox E.J., Arnold D.L. et al. Efficacy and safety of 2 fingolimod doses vs glatiramer acetate for the treatment of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized clinical trial. *JAMA Neurol.* 2021;78(1):48–60. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.2950.
 38. Butzkueven H., Kappos L., Wiendl H., Trojano M., Spelman T., Chang I. et al. Long-term safety and effectiveness of natalizumab treatment in clinical practice: 10 years of real-world data from the Tysabri Observational Program (TOP). *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2020;91(6):660–668. DOI: 10.1136/jnnp-2019-322326.
 39. Makris G.M., Mene J., Fotiou A., Xyla V., Battista M.J., Sergentanis T.N. Gynecological adverse effects of natalizumab administration: Case report and review of the literature. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2018;25:46–49. DOI: 10.1016/j.msard.2018.07.024.
 40. Rommer P., Zettl U., Kieseier B., Hartung H., Menge T., Frohman E. et al. Requirement for safety monitoring for approved multiple sclerosis therapies: an overview. *Clin. Exp. Immunol.* 2014;175(3):397–407. DOI: 10.1111/cei.12206.
 41. Brimelow R.E. Modifying therapies for the treatment of relapse-remitting multiple sclerosis. *Br. J. Healthc. Manag.* 2017;23(10):468–476.
 42. Filikci Z., Jensen R.M., Sellebjerg F.T. Inflammatory vaginitis associated with long-term rituximab treatment in a patient with multiple sclerosis. *BMJ Case Rep.* 2022;15(11):e250425. DOI: 10.1136/bcr-2022-250425.
 43. Lee J.M., Han M.H. Patient experience and practice trends in multiple sclerosis – clinical utility of fingolimod. *Patient Prefer Adherence.* 2015;9:685–693. DOI: 10.2147/PPA.S57354.
 44. Rafiee Zadeh A., Askari M., Azadani N.N., Ataei A., Ghadimi K., Tavoosi N. et al. Mechanism and adverse effects of multiple sclerosis drugs: a review article. Part 1. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 2019;1(4):95–104.
 45. Roman C., Menning K. Treatment and disease management of multiple sclerosis patients: A review for nurse practitioners. *J. Am. Assoc. Nurse Pract.* 2017;29(10):629–638. DOI: 10.1002/2327-6924.12514.

Вклад авторов

Лузанова Е.И. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Карпова М.И., Абрамовских О.С. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Четвернина Е.А., Куприянов С.В. – разработка концепции и дизайна.

Информация об авторах

Лузанова Екатерина Игоревна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры нервных болезней, ЮУГМУ, г. Челябинск, estrochikova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1652-2925>

Карпова Мария Ильинична – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой нервных болезней, ЮУГМУ, г. Челябинск, kmi_2008@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5848-7235>

Абрамовских Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики, ЮУГМУ, г. Челябинск, abramoschel@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7086-5657>

Четвернина Елена Андреевна – ст. преподаватель, кафедра клинической лабораторной диагностики, ЮУГМУ, г. Челябинск, elena45r@mail.ru

Куприянов Семён Вадимович – канд. биол. наук, специалист, отдел научной работы, преподаватель, кафедра биохимии имени Р.И. Лифшица, ЮУГМУ, г. Челябинск; мл. науч. сотрудник, лаборатория экологии, генетики и охраны окружающей среды, НИТГУ, г. Томск, pfft@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8141-5547>

(✉) Лузанова Екатерина Игоревна, estrochikova@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.12.2023;
одобрена после рецензирования 22.12.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616-091.817-097:577.27
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-142-150>

Пироптоз и его терапевтический потенциал

Одинцова И.А., Чирский В.С., Слуцкая Д.Р., Андреева Е.А., Березовская Т.И.

Военно-медицинская академия (ВМА) им. С.М. Кирова
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6ж

РЕЗЮМЕ

В обзоре рассмотрены современные сведения о пироптозе – форме запрограммированной гибели клеток, связанной с инфицированием различными патогенами. При этом образуются специфические молекулярные комплексы – инфламмосомы, происходит активация каспаз и выработка цитокинов, опосредующих воспаление.

Рассмотрены механизмы активации пироптоза, включающие канонический и неканонический пути, а также методы его выявления в клетках. Обосновывается актуальность исследования роли пироптоза в патологических процессах в разных тканях. Акцентируется внимание на терапевтическом потенциале пироптоза, в том числе при лечении сепсиса. Пироптоз вовлечен в вызванные сепсисом повреждения тканей разных органов, поэтому регулирование этой формы клеточной гибели может служить основой для разработки инновационных методов лечения.

Ключевые слова: клеточная гибель, пироптоз, гасдермины, инфламмосома, каспазы, терапия, сепсис

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке исследовательского проекта «Раневой сепсис: диагностика форм клеточной гибели» (программа «Приоритет 2030»).

Для цитирования: Одинцова И.А., Чирский В.С., Слуцкая Д.Р., Андреева Е.А., Березовская Т.И. Пироптоз и его терапевтический потенциал. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):142–150. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-142-150>.

Pyroptosis and its therapeutic potential

Odintsova I.A., Chirsky V.S., Slutskaya D.R., Andreeva E.A., Berezovskaya T.I.

S.M. Kirov Military Medical Academy
6g, Akademika Lebedeva Str., Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

ABSTRACT

The review examines present data on pyroptosis – a type of programmed cell death associated with infection with various pathogens. During pyroptosis, specific molecular complexes, inflammasomes, are formed, caspases are activated, and proinflammatory cytokines are produced.

We consider the mechanisms of pyroptosis activation, including canonical and non-canonical pathways, as well as methods for its detection in cells. The review substantiates the relevance of studying the role of pyroptosis in pathological processes in different tissues. We focus on the therapeutic potential of pyroptosis, including its role in

the treatment of sepsis. Pyroptosis is involved in sepsis-induced tissue damage in various organs, so regulation of this type of cell death can serve as the basis for the development of innovative treatment methods.

Keywords: cell death, pyroptosis, gasdermins, inflammasome, caspases, therapy, sepsis

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

Source of financing. The study was supported by the research project “Wound sepsis: diagnosing forms of cell death” (Priority 2030 program).

For citation: Odintsova I.A., Chirsky V.S., Slutskaya D.R., Andreeva E.A., Berezovskaya T.I. Pyroptosis and its therapeutic potential. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):142–150. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-142-150>.

ВВЕДЕНИЕ

Жизнедеятельность клеток включает в себя ряд ключевых процессов – пролиферацию, дифференцировку, адаптацию, реактивные изменения и др. Терминальной фазой жизненного цикла клетки является гибель, которая осуществляется одновременным или последовательным вовлечением определенных биомолекул. Первые упоминания в научной литературе о гибели клеток принадлежат немецкому исследователю К. Фогту, описавшему смерть эмбриональных клеток хорды в 1842 г. [1]. С тех пор представления о гибели клеток существенно расширились. Пристальное внимание на исследование форм гибели клеток ученые обратили лишь во второй половине XX в., и это способствовало созданию международного номенклатурного комитета по клеточной гибели (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD).

Гибель клеток происходит как в нормальных (физиологических) условиях, так и при патологическом гистогенезе. Она является одним из фундаментальных цитофизиологических процессов во всех живых организмах и наблюдается в течение эмбрионального развития, в ходе нормального функционирования тканей и органов, старения, при протекании иммунных (в том числе аутоиммунных) реакций, необратимых реактивных изменениях и разнообразных патологических процессах. На протяжении длительного времени основным способом гибели клеток специалисты считали непрограммируемую клеточную гибель – некроз (некробиоз). Позднее обнаружили апоптоз, а с недавних пор – аутофагическую гибель, нетоз, этот, энтофитическую гибель, ферроптоз, митотическую катастрофу, смерть через терминальную дифференцировку и др. [2–7].

Одной из недавно выявленных форм провоспалительной формы гибели клетки является пироптоз, который инициируется не только в лейкоцитах и макрофагах, но и в иных клетках и оказывает влияние на течение как нормального, так и патологического гистогенеза [8–10]. В последние годы обнаружена

его роль в патогенезе ряда заболеваний и обсуждаются возможности терапевтического воздействия на данный процесс [7, 11, 12].

ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Термин «пироптоз» образован от греческих корней руго – огонь, лихорадка и ptosis – падение. Пироптоз впервые был описан в конце XX в. А. Zychlinsky и соавт. [13], которые выявили гибель макрофагов, инфицированных *Shigella flexneri*. В 1996 г. была опубликована статья D.M. Monack и соавт. с описанием гибели макрофагов, инфицированных *Salmonella enterica* (серотип *Typhimurium* – *S. typhimurium*) [14]. Из-за некоторого сходства морфологических проявлений и отсутствия характерных дифференцированных биомаркеров, обнаруженных позднее, эту форму клеточной гибели тогда приняли за апоптоз.

Впоследствии были выявлены как сходства, так и отличия в механизмах пироптоза и апоптоза, что внесло определенную ясность в трактовку полученных фактов [15]. Дальнейшие исследования показали, что эта вызванная бактериями гибель клеток зависит от фермента каспаза-1 [16]. Подтверждением факта важности каспазы-1 явилась работа S.M. Man и T.-D. Kanneganti [17], в которой установлено, что бактерии *S. flexneri* не могут индуцировать пироптоз макрофагов, в которых имеется нокаут этого фермента. В 2001 г. В.Т. Cookson и М.А. Brennan [18], обнаружив эту форму запрограммированной клеточной гибели в макрофагах, инфицированных *S. typhimurium*, назвали ее «пироптоз» (pyroptosis).

В 2002 г. были открыты особые молекулярные внутриклеточные протеиновые комплексы – инфламмосомы – и было выяснено, что одним из их компонентов является каспаза-1 [19, 20]. Дальнейшие исследования инфламмосом показали, что эти структуры имеют важнейшее значение в развитии пироптоза. В 2008 г. S.L. Fink и соавт. [21] обнаружили, что при пироптозе фрагментируется ДНК и

повреждается плазматическая мембрана, что способствовало освобождению внутриклеточного содержимого, инициирующим воспаление. Одним из самых распространенных экспериментальных животных, на которых проведено изучение пироптоза, являются лабораторные мыши. В 2011 г. в эксперименте на мышах N. Kaayagaki и соавт. [22] выяснили, что каспаза-11 может индуцировать гибель макрофагов мыши, и этот процесс подобен пироптозу, опосредуемому каспазой-1 у человека. В отличие от пироптоза, в котором участвует каспаза-1 (так называемый канонический путь пироптоза), авторы обозначили каспаза-11-зависимый пироптоз как неканонический. Неканоническим также называют пироптоз, в котором участвуют каспаза-4 и -5 человека.

МЕХАНИЗМЫ ПИРОПТОЗА

Основное значение пироптоза состоит в индукции воспаления, которое защищает организм от бактериальной инфекции [23]. Вероятно, по этой причине лучше всего данный феномен изучен в клетках, основная функция которых – защитная (например, лейкоциты и макрофаги). Установлено, что пироптоз ингибирует внутриклеточную репликацию микроорганизмов и активирует иммунные клетки для уничтожения патогенов [24, 25]. Активация пироптоза возникает в ответ на широкий спектр воздействий, в первую очередь – на инфицирование (контаминацию) патогенными микроорганизмами. По механизму различают пироптоз канонический и неканонический. Различия между ними не являются существенными, так как оба пути завершаются формированием трансмембранных гасдерминовых пор в плазматической мембране и нарушением водно-солевого гомеостаза цитоплазмы.

Вследствие образования гасдерминовых пор в клетке нарушается водный и ионный баланс, в конечном итоге приводящий к ее разрушению [23]. С открытием семейства белков гасдерминов, которое у человека включает шесть белков, объем исследований пироптоза существенно расширился. Все гасдермины (за исключением гасдерминового белка пейвакина) играют различную роль в пироптозе [26, 27]. Наиболее изученным в настоящее время является гасдермин D [23]. Он имеет два домена: N-концевой домен и C-концевой домен (GsdmD-N и GsdmD-C соответственно), соединенных пептидным линкером.

Трансмембранные поры способен образовывать только N-концевой домен, который считается эффекторным [23, 28–30]. Расщепление гасдермина D на два домена в цитоплазме осуществляет у человека либо каспаза-1 (канонический путь пироптоза), либо каспазы-4 и 5 человека и каспаза-11 у мышей

(неканонический путь пироптоза) [31, 32]. GsdmD-N, встраиваясь в плазматическую мембрану, избирательно связывается с ее липидами и образует трансмембранную пору, через которую высвобождается клеточное содержимое, в том числе провоспалительные цитокины и так называемые сигналы опасности (сигналы тревоги) [23, 33–37]. Имеются данные о том, что GsdmD-N может не только перфорировать плазматическую мембрану, но и участвует в активации предшественников некоторых цитокинов, таких как интерлейкин (ИЛ) 18 и ИЛ-1β [31, 32].

Каспазы представляют собой семейство эволюционно консервативных цистеиновых протеаз [38, 39], которые подразделяются на две основные группы – каспазы-I (каспазы 1, 4, 5, 13, 14) и каспазы-II (каспазы 2, 3, 6, 10). Среди субстратов каспазы-1 есть предшественники цитокинов – ИЛ-1β, ИЛ-18 и ИЛ-33 [7, 40, 41].

Канонический путь пироптоза развивается при воздействии на клетку микробных сигналов (PAMPs – молекулярные паттерны, ассоциированные с патогеном) и так называемых сигналов опасности, называемых также сигналами тревоги (DAMPs – молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением). К PAMPs относятся, например, бактериальные, вирусные, грибковые субстанции. DAMPs высвобождаются из поврежденных клеток во внеклеточный матрикс и служат мощными провоспалительными факторами [42]. В роли DAMPs могут выступать фрагменты поврежденных клеток – ДНК, АТФ, РНК, белки теплового шока, жирные кислоты и др. В отдельную группу активаторов пироптоза предложено выделить метаболические нарушения, названные «молекулярными свойствами, изменяющими гомеостаз» (HAMPs) [43–45]. Неканонический путь пироптоза инициируется внутриклеточными липополисахаридами (LPS) грамотрицательных бактерий [23].

Ключевыми сенсорами PAMPs, DAMPs и HAMPs являются клеточные рецепторы, которые называют паттерн-распознающими рецепторами и обозначают английской аббревиатурой PRRs. К ним относятся, в частности, toll-подобные (TLR), NOD-подобные (NLR), RIG-1-подобные (RLR) рецепторы [11]. Наиболее разнообразны toll-подобные рецепторы, которые располагаются как на поверхности клетки, так и в цитоплазме и представлены на клетках разных дифференсов. Известными лигандами TLR являются различные бактериальные и грибковые компоненты, включая липополисахарид для TLR4, флагеллин для TLR5 и т.д. [46]. Продукты некротизированных клеток, белки теплового шока HSP60 и HSP70 являются лигандами TLR2 и TLR4 [46]. Известно, что HSP60

человека воздействует на TLR4 для последующей стимуляции продукции фактора некроза опухоли альфа (TNF α) и NO [47]. Механизм действия TLR заключается в передаче сигнала в ядро клетки и активации транскрипционного фактора (NF- κ B), приводящего к продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и других медиаторов воспаления) [46, 48–50].

Активация PRRs вследствие взаимодействия с патогеном вызывает сборку инфламмасом, необходимых не только для осуществления пироптоза, но и для выработки активных форм провоспалительных цитокинов [7, 23]. Основными компонентами инфламмасом являются PRRs, ASC (особый спектоподобный белок) и прокаспазы-1 [23]. Образование инфламмасом в конечном итоге приводит к созреванию (активации) каспазы-1 (канонический путь) или каспазы-4, -5 (у людей) и каспазы-11 (у мышей) (неканонический путь). Эти ферменты расщепляют белок гасдермин D с высвобождением его N-концевого домена.

Анализ литературы свидетельствует, что именно инфламмасы играют ключевую роль в развитии пироптоза. В настоящее время идентифицировано более 20 разновидностей инфламмасом. Их молекулярная структура, механизмы активации, особенности функционирования и способы регуляции подробно изложены в современных обзорах Е.Е. Гараниной и соавт. (2020) и В.В. Климова и соавт. (2023) [7, 11]. При этом подчеркивается, что механизмы активации компонентов и сборки инфламмасом нуждаются в уточнении и их изучение должно быть продолжено.

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ПИРОПТОЗА В КЛЕТКАХ

Известно, что клеточная гибель регулируется разными молекулярными механизмами, реализация которых сопровождается различными изменениями на морфологическом уровне [51]. При пироптозе происходит активация каспазы-1-зависимой нуклеазы, что приводит к конденсации хромосом [52]. Наблюдается усиленное порообразование в плазматической мембране, но не происходит нарушения целостности мембраны митохондрий, что может быть выявлено при электронной микроскопии [53]. Для детекции пироптоза могут использоваться красители с низкой молекулярной массой, например пропидия иодид и этидия бромид [42]. В норме плазматическая мембрана для этих красителей непроницаема, а при пироптозе эти красители проникают через поврежденную плазматическую мембрану и обнаруживаются в цитоплазме.

Выявить пироптоз можно также с помощью окрашивания препаратов аннексином V, но оно не дает возможности однозначно отличить пироптоз от апоптоза [42]. Для выявления клеточной гибели по механизму пироптоза целесообразно использовать такие методы, как проточная цитофлуориметрия, иммунофлуоресцентное окрашивание белков семейства гасдерминов; определение лактатдегидрогеназы во внеклеточной среде вестерн-блоттингом. В работе Т.Ф. Сергеевой и соавт. (2015) предлагаются различные методы детекции активации каспаз и фрагментации ДНК [54]. В частности, среди используемых методов изучения активации каспаз *in vitro* авторы [54] упоминают иммуногистохимию, иммуноферментный анализ, проточную цитофлуориметрию, флуоресцентный имиджинг, флуоресцентную спектроскопию, FRET/FLIM-имиджинг без детального пояснения.

Характеризуя предложенные исследователями методы выявления пироптоза, следует отметить, что многие из них не являются строго специфичными для данной формы клеточной гибели и следует продолжать поиски в данном направлении с целью обнаружения более точных признаков дифференциации.

ПАТОЛОГИЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПИРОПТОЗА

В процессе изучения пироптоза выяснилось, что этот феномен имеет двоякое значение и может играть как положительную, так и отрицательную роль [42, 51, 55, 56]. Положительное значение пироптоза связывают с возможностью освобождения провоспалительных цитокинов из клеток, их продуцирующих (макрофаги и нейтрофильные гранулоциты), через трансмембранные гасдерминовые поры плазматической мембраны. Олигомеризация N-концевых доменов гасдермина приводит к образованию пор, набуханию клеток и высвобождению цитоплазматического содержимого, включая ИЛ-1 β , ИЛ-33 и ИЛ-18, которые вызывают воспаление, связанное с инфламмасомами. Сохранившие жизнеспособность бактерии распознаются и элиминируются иммунными клетками.

Показано, что активированный гасдермин может индуцировать образование трансмембранных пор не только в плазматической мембране клеток человека, но и в мембранах клеток бактерий, вызывая гибель таких микроорганизмов, как *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* [34]. Следовательно, на ранней стадии инфекции пироптоз выполняет защитную функцию. Несмотря на то, что пироптоз первоначально рассматривался как исключительно патологическая форма клеточной гибели, дальнейшие исследования пока-

зали, что он является защитным механизмом организма, способствующим элиминации патогенов.

Наряду с положительным эффектом пироптоза следует учитывать и его роль в развитии чрезмерно выраженного воспаления и иных патологических состояний. Открытие инфламмасом, медиаторов пироптоза и получение экспериментального подтверждения того, что они являются регуляторами секреции провоспалительных цитокинов, позволили обосновать ведущую роль инфламмаса в развитии многих заболеваний [7]. Исследования показали, что, несмотря на то, что пироптоз может защитить организм от микробных агентов, нарушение его регуляции приводит к развитию аутоиммунных и аутовоспалительных состояний [57, 58].

Известно, что чрезмерный провоспалительный ответ или иммуносупрессия могут привести к дисфункции органа или развитию вторичной инфекции в процессе развития сепсиса [59]. Хотя ИЛ-1 β , ИЛ-18 и ИЛ-33 являются единственными известными провоспалительными цитокинами, генерируемыми непосредственно в результате активации инфламмасы, активация инфламмасы *in vivo* может опосредованно приводить к выработке множества других провоспалительных цитокинов, включая TNF α и ИЛ-6, что вызывает так называемый цитокиновый шторм и повреждение тканей жизненно важных органов [60].

Х. Zheng и соавт. [61] подчеркивают, что чрезмерная активация пироптоза неизбежно вызывает неконтролируемое воспаление, которое значительно ускоряет возникновение и развитие сепсиса и является неблагоприятным прогностическим признаком. Показано, что пироптоз вовлечен в септические повреждения разных клеток: нейронов и астроцитов головного мозга [62], эпителиоцитов канальцев почек [63], гепатоцитов [64]. Повышенная концентрация ИЛ-18 в сыворотке крови указывает на высокую степень тяжести сепсиса и коррелирует с плохим прогнозом его исхода [65, 66].

Повреждение органов, вызванное гиперактивацией пироптоза, было продемонстрировано во многих исследованиях. А. Sarkar и соавт. (2006) полагают, что при сепсисе пироптоз может способствовать развитию другой формы программируемой клеточной гибели – апоптоза, тем самым усугубляя воспаление и клинические проявления полиорганной дисфункции [67]. Имеются указания на то, что пироптоз тесно связан с атеросклерозом и диабетической нефропатией [31]. Сердечно-сосудистые заболевания, особенно атеросклероз и инфаркт миокарда, часто сопровождаются гибелью клеток и острым/хроническим воспалением. В исследовании L. Wang и соавт. (2021)

выявлено, что экзосомы, полученные из моноцитов, могут содержать комплекс TXNIP-NLRP3 и транспортировать его в макрофаги соединительной ткани миокарда, впоследствии способствуя выработке ими ИЛ-1 β и ИЛ-18 и усугубляя местное воспаление [68].

Все большее число исследований посвящено изучению роли и молекулярных механизмов пироптоза при вызванной сепсисом патологии миокарда (обозначаемой в англоязычной литературе аббревиатурой SIMD), которая является разрушительным осложнением сепсиса со смертностью более 50%. Небольшая молекула под названием PSSM1443 может снижать концентрацию активной каспазы-1, ИЛ-1 β и ИЛ-18 у мышей с SIMD, нарушая взаимодействие TXNIP-NLRP3 [68]. Это указывает на то, что ингибирование активации инфламмасы NLRP3 полезно для лечения данной сердечной патологии.

Провоспалительные каспазы участвуют в пироптозе эндотелиоцитов, каспаза-11 участвует в патогенезе вызванного сепсисом повреждения легких. В эксперименте у мышей с каспазой-11 наблюдалось снижение воспаления и повреждения легких в течение 12 ч по сравнению с мышами контрольной группы, что указывает на участие данной каспазы в патогенезе септического повреждения легких [69].

М. Kalbitz и соавт. (2016) обнаружили, что количество инфламмаса NLRP3 и концентрация ИЛ-1 β были значительно повышены в кардиомиоцитах левого желудочка у мышей с экспериментально вызванным перитонитом [70]. На молекулярном уровне ИЛ-1 β созревает посредством активации инфламмасы NLRP3, которая может в дальнейшем вызывать атрофию, ухудшать сократительную способность и расслабление кардиомиоцитов [71]. Анализ литературы позволяет сделать вывод, что в настоящее время большое внимание уделяется изучению болезней, ассоциированных с инфламмасами [7, 9, 42]. В литературе есть сведения о роли пироптоза в опухолевом процессе: индукция пироптоза в опухолевых клетках сопровождается активацией как врожденного, так и приобретенного иммунитета [42]. При этом происходит лизис опухолевой клетки и высвобождение ее содержимого в межклеточное пространство, а локальное воспаление сопровождается выработкой ИЛ-1 β и ИЛ-18 нейтрофильными гранулоцитами и макрофагами, что способствует привлечению клеток иммунной системы в область первичной опухоли.

Крайне актуальной задачей является поиск эффективных способов устранения неблагоприятного эффекта пироптоза при развитии патологических состояний. Имеются сведения о том, что пироптоз можно усиливать или, наоборот, подавлять введением некоторых веществ. Так, в эксперименте с введе-

нием глутамина пироптоз гепатоцитов усиливался в течение 24 ч после экспериментального моделирования сепсиса, однако через 72 ч наблюдался противоположный эффект – подавление пироптоза [64]. Авторы статьи делают заключение, что регулирование гибели клеток по механизму пироптоза может служить основой для разработки методов лечения некоторых заболеваний.

На основе изучения инфламасом и пироптоза разными исследовательскими коллективами разрабатываются инновационные терапевтические подходы [9, 55]. В последние годы рассматривается возможность использования пироптоза в качестве потенциальной стратегии лечения опухолей и разработки новых противоопухолевых лекарственных препаратов [72]. Предполагается, что активация пироптоза в опухолевых клетках может быть оправданной в терапии злокачественных новообразований [42].

Недавние исследования показали, что CD8⁺ Т-лимфоциты способны подавлять рост опухоли, индуцируя пироптоз и ферроптоз. R. Tang и соавт. (2020) делают вывод, что пироптоз наряду с некроптозом и ферроптозом представляет собой потенциально новый механизм иммуногенной гибели клеток [73]. В настоящее время для лечения ряда воспалительных заболеваний разрабатываются перспективные ингибиторы гасдермина D [23]. Имеются сведения об эффективности лекарственных средств, являющихся ингибиторами инфламасом, для лечения некоторых заболеваний [7]. Одним из них является рилонацепт, способный связывать ИЛ-1 α и 1 β . С. Liu и соавт. (2021) обнаружили, что пептид Gly-Pro-Ala (GPA) может значительно ослаблять повреждения легочной ткани у мышей [74]. Эксперименты *in vitro* показали, что пептид GPA может защищать альвеолярный макрофаг от каспаза-1-зависимого пироптоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ современной научной литературы свидетельствует о значительном интересе к изучению молекулярных механизмов пироптоза и его терапевтическому потенциалу. К настоящему времени выяснены основные проявления этой формы запрограммированной клеточной гибели, интенсивно изучаются паттерн-распознающие клеточные рецепторы, структура и значение различных типов инфламасом, белки семейства гасдерминов. При этом многие вопросы остаются малоисследованными, а имеющиеся ответы на них носят противоречивый характер.

Достаточно хорошо изучено явление пироптоза в иммунокомпетентных клетках, нейтрофильных

гранулоцитах и макрофагах. Гораздо меньше внимания уделено иным клеткам, особенно это касается представителей основных клеточных дифференциров в составе тканей жизненно важных органов. Требуют совершенствования методы детекции пироптоза в экспериментальных и клинических условиях. Продуктивное решение этих вопросов возможно лишь на основе взаимодействия специалистов разного профиля – морфологов, молекулярных биологов, биохимиков, физиологов, патологоанатомов, микробиологов, клиницистов и др.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Деев Р.В., Васин И.В. Гибель клеток и тканей: учебное пособие. Рязань: РИОРязГМУ, 2018:48.
2. Долгушин И.И., Савочкина А.Ю., Курносенко И.В., Долгушина В.Ф., Савельева А.А., Самусева И.В. и др. Участие внеклеточных ДНК-ловушек в защитных и патологических реакциях организма. *Российский иммунологический журнал*. 2015;9(2):164–170.
3. Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представления о клеточной гибели. *Гены и клетки*. 2018;XIII(1):6–19.
4. Jorgensen I., Rayamajhi M., Miao E.A. Programmed cell death as a defence against infection. *Nature Reviews Immunology*. 2017;17(3):151–164. DOI: 10.1038/nri.2016.147.
5. Chen T., Li Y., Sun R., Hu H., Liu Y., Herrmann M. et al. Receptor-mediated NETosis on neutrophils. *Front. Immunol.* 2021;12:7752–7767. DOI: 10.3389/fimmu.2021.775267.
6. Одинцова И.А., Миргородская О.Е., Русакова С.Э., Горбулич А.В., Гололобов В.Г. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: структура и биологическая роль. *Гены и клетки*. 2022;17(4):63–74. DOI: 10.23868/gc352562.
7. Климов В.В., Загрешенко Д.С., Уразова О.И., Климов А.В., Найдина О.А., Цыплина Е.Ю. и др. Инфламасома как ранний патофизиологический феномен воспалительного процесса при болезнях кожи и других патологиях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):111–121. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-2-111-121.
8. Dong T., Liao D., Liu X., Lei X. Using small molecules to dissect non-apoptotic programmed cell death: necroptosis, ferroptosis, and pyroptosis. *Chem. Bio. Chem.* 2015;16(18):2557–2561. DOI: 10.1002/cbic.201500422.
9. Zhaolin Z., Guohua L., Shiyuan W., Zuo W. Role of pyroptosis in cardiovascular disease. *Cell Prolif.* 2019;52(2):e12563. DOI: 10.1111/cpr.12563.
10. Al Mamun A., Wu Y., Jia Ch., Munir F., Sathy K.J., Sarker T. et al. Role of pyroptosis in liver diseases. *Int. Immunopharmacol.* 2020;84:106489. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106489.
11. Гаранина Е.Е., Мартынова Е.В., Иванов К.Я., Ризванов А.А., Хайбуллина С.Ф. Инфламасомы: роль в патогенезе заболеваний и терапевтический потенциал. *Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки*. 2020;162(1):80–111. DOI: 10.26907/2542-064X.2020.1.80-111.
12. Nakazawa D., Kudo T. Novel therapeutic strategy based on neutrophil subset and its function in autoimmune disease.

- Front. Pharmacol.* 2021;12:6848–6886. DOI: 10.3389/fphar.2021.684886.
13. Zychlinsky A., Prevost M.C., Sansonetti P.J. Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*. 1992;358(6382):167–169. DOI: 10.1038/358167a0.
 14. Monack D.M., Raupach B., Hromockyj A.E., Falkow S. Salmonella typhimurium invasion induces apoptosis in infected macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996;93(18):9833–9838. DOI: 10.1073/pnas.93.18.9833.
 15. Loveless R., Bloomquist R., Teng Y. Pyroptosis at the forefront of anticancer immunity. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2021;40(1):264. DOI: 10.1186/s13046-021-02065-8.
 16. Hilbi H., Moss J.E., Hersh D., Chen Y., Arondel J., Banerjee S. et al. Shigella-induced apoptosis is dependent on caspase-1 which binds to IpaB. *J. Biol. Chem.* 1998;273(49):32895–32900. DOI: 10.1074/jbc.273.49.32895.
 17. Man S.M., Kanneganti T.-D. Gasdermin D: the long-awaited executioner of pyroptosis. *Cell Res.* 2015;25(11):1183–1184. DOI: 10.1038/cr.2015.124.
 18. Cookson B.T., Brennan M.A. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol.* 2001;9(3):113–114. DOI: 10.1016/s0966-842x(00)01936-3.
 19. Pan Y., Cai W., Huang J., Cheng A., Wang M., Yin Z. et al. Pyroptosis in development, inflammation and disease. *Front. Immunol.* 2022;13:991044. DOI: 10.3389/fimmu.2022.991044.
 20. Martinon F., Burns K., Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β . *Mol. Cell.* 2002;10(2):417–426. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00599-3.
 21. Fink S.L., Bergsbaken T., Cookson B.T. Anthrax lethal toxin and Salmonella elicit the common cell death pathway of caspase-1-dependent pyroptosis via distinct mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(11):4312–4317. DOI: 10.1073/pnas.0707370105.
 22. Kayagaki N., Warming S., Lamkanfi M., Vande Walle L., Louie S., Dong J. et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*. 2011;479(7371):117–121. DOI: 10.1038/nature10558.
 23. Burdette B.E., Esparza A.N., Zhu H., Wang S. Gasdermin D in pyroptosis. *Acta Pharm. Sin. B.* 2021;11(9):2768–2782. DOI: 10.1016/j.apsb.2021.02.006.
 24. Miao E.A., Leaf I.A., Treuting P.M., Mao D.P., Dors M., Sarkar A. et al. Caspase-1-induced pyroptosis is an innate immune effector mechanism against intracellular bacteria. *Nature Immunology*. 2010;11(12):1136–1142. DOI: 10.1038/ni.1960.
 25. Aachoui Y., Leaf I.A., Hagar J.A., Fontana M.F., Campos C.G., Zak D.E. et al. Caspase-11 protects against bacteria that escape the vacuole. *Science*. 2013;339(6122):975–978. DOI: 10.1126/science.1230751.
 26. Feng S., Fox D., Man S.M. Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death. *J. Mol. Biol.* 2018;430(18):3068–3080. DOI: 10.1016/j.jmb.2018.07.002.
 27. Du T., Gao J., Li P., Wang Yu., Qi Q., Liu X. et al. Pyroptosis, metabolism, and tumor immune microenvironment. *Clin. Transl. Med.* 2021;11(8):e492. DOI: 10.1002/ctm.2492.
 28. Thornberry N.A. Interleukin-1 β converting enzyme. *Methods Enzymol.* 1994;244:615–631. DOI: 10.1016/0076-6879(94)44045-x.
 29. He W.T., Wan H., Hu L., Chen P., Wang X., Huang Z. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. *Cell Res.* 2015;25(12):1285–1298. DOI: 10.1038/cr.2015.139.
 30. Kayagaki N., Stowe I.B., Lee B.L., O'Rourke K., Anderson K., Warming S. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*. 2015;526(7575):666–671. DOI: 10.1038/nature15541.
 31. Fang Y., Tian Sh., Pan Y., Li W., Wang Q., Tang Y. et al. Pyroptosis: a new frontier in cancer. *Biomed. Pharmacother.* 2020;121:109595. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109595.
 32. Wei X., Xie F., Zhou X., Wu Y., Yan H., Liu T. et al. Role of pyroptosis in inflammation and cancer. *Cell Mol. Immunol.* 2022;19(9):971–992. DOI: 10.1038/s41423-022-00905-x.
 33. Ding J., Wang K., Liu W., She Y., Sun Q., Shi J., Sun H. et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family. *Nature*. 2016;535(7610):111–116. DOI: 10.1038/nature18590.
 34. Liu X., Zhang Z., Ruan J., Pan Y., Magupalli V.G., Wu H. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature*. 2016;535(7610):153–158. DOI: 10.1038/nature18629.
 35. Heilig R., Dick M.S., Sborgi L., Meunier E., Hiller S., Broz P. The Gasdermin-D pore acts as a conduit for IL-1 β secretion in mice. *Eur. J. Immunol.* 2018;48(4):584–592. DOI: 10.1002/eji.201747404.
 36. Evavold C.L., Ruan J., Tan Y., Xia S., Wu H., Kagan J.C. The pore-forming protein Gasdermin D regulates Interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity*. 2018;48(1):35–44. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.11.013.
 37. Xiao J., Wang C., Yao J.C., Alippe Y., Xu C., Kress D. et al. Gasdermin D mediates the pathogenesis of neonatal-onset multisystem inflammatory disease in mice. *PLoS Biol.* 2018;16(11):e3000047. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000047.
 38. Saeki N., Kim D.H., Usui T., Aoyagi K., Tatsuta T., Aoki K. et al. GASDERMIN, suppressed frequently in gastric cancer, is a target of LMO1 in TGF- β -dependent apoptotic signalling. *Oncogene*. 2007;26(45):6488–6498. DOI: 10.1038/sj.onc.1210475.
 39. Ruan J., Xia S., Liu X., Lieberman J., Wu H. Cryo-EM structure of the gasdermin A3 membrane pore. *Nature*. 2018;557(7703):62–67. DOI: 10.1038/s41586-018-0058-6.
 40. Ghayur T., Banerjee S., Hugunin M., Butler D., Herzog L., Carter A. et al. Caspase-1 processes IFN- γ -inducing factor and regulates LPS-induced IFN- γ production. *Nature*. 1997;386:619–623. DOI: 10.1038/386619a0.
 41. Gu Y., Kuida K., Tsutsui H., Ku G., Hsiao K., Fleming M.A. et al. Activation of interferon-gamma inducing factor mediated by interleukin-1 β converting enzyme. *Science*. 1997;275(5297):206–209. DOI: 10.1126/science.275.5297.206.
 42. Вартанян А.А., Косоруков В.С. Пироптоз – воспалительная форма клеточной гибели. *Клиническая онкогематология*. 2020;13(2):129–135. DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-2-129-135.
 43. Gao W., Yang J., Liu W., Wang Y., Shao F. Site-specific phosphorylation and microtubule dynamics control Pyrin in

- flammasome activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(33):E4857–E4866. DOI: 10.1073/pnas.1601700113.
44. Park Y.H., Wood G., Kastner D.L., Chae J.J. Pyrin inflammasome activation and RhoA signaling in the autoinflammatory diseases FMF and HIDS. *Nature Immunology*. 2016;17(8):914–921. DOI: 10.1038/ni.3457.
 45. Liston A., Masters S.L. Homeostasis-altering molecular processes as mechanisms of inflammasome activation. *Nat. Rev. Immunol.* 2017;17(3):208–214. DOI: 10.1038/nri.2016.151.
 46. Климентова Э.А., Сучков И.А., Егоров А.А., Калинин Р.Е. Маркеры апоптоза и пролиферации клеток при воспалительно-фибропролиферативных заболеваниях сосудистой стенки. *Современные технологии в медицине*. 2020;12(4):119–128. DOI: 10.17691/stm2020.12.4.13.
 47. Anthoney N., Foldi I., Hidalgo A. Toll and toll-like receptor signalling in development. *Development*. 2018;145(9):dev156018. DOI: 10.1242/dev.156018.
 48. Feng G., Zheng K., Cao T., Zhang J., Lian M., Huang D. et al. Repeated stimulation by LPS promotes the senescence of DPSCs via TLR4/MyD88-NF- κ B-p53/p21 signaling. *Cytotechnology*. 2018;70(3):1023–1035. DOI: 10.1007/s10616-017-0180-6.
 49. Wu K., Zhang H., Fu Y., Zhu Y., Kong L., Chen L. et al. TLR4/MyD88 signaling determines the metastatic potential of breast cancer cells. *Mol. Med. Rep.* 2018;18(3):3411–3420. DOI: 10.3892/mmr.2018.9326.
 50. Dishon S., Schumacher-Klinger A., Gilon C., Hoffman A., Nussbaum G. Myristoylation confers oral bioavailability and improves the bioactivity of c(MyD 4-4), a cyclic peptide inhibitor of MyD88. *Mol. Pharm.* 2019;16(4):1516–1522. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b01180.
 51. Кудрявцева В.А., Кузьмин Е.А., Моисеева А.В., Обельщикова М.С., Сеницына П.А., Филистович Т.И. и др. Молекулярные и морфологические маркеры гибели нейронов при острых нарушениях мозгового кровообращения. *Сеченовский вестник*. 2022;13(4):18–26. DOI: 10.47093/2218-7332.2022.13.4.18-32.
 52. McKenzie B.A., Mamik M.K., Saito L.B., Boghazian R., Monaco M.C., Major E.O. et al. Caspase-1 inhibition prevents glial inflammasome activation and pyroptosis in models of multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018;115(26):E6065–E6074. DOI: 10.1073/pnas.
 53. Rolls A., Shechter R., London A., Ziv Y., Ronen A., Levy R. et al. Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis. *Nat. Cell Biol.* 2007;9(9):1081–2008. DOI: 10.1038/ncb1629.
 54. Сергеева Т.Ф., Ширманова М.В., Загайнова Е.В., Лукьянов К.А. Современные методы исследования апоптотической гибели клеток (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2015;7(3):172–182. DOI: 10.17691/stm2015.7.3.21.
 55. Liu L., Sun B. Neutrophil pyroptosis: new perspectives on sepsis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2019;76(11):2031–2042. DOI: 10.1007/s00018-019-03060-1.
 56. Ouyang X., Zhou J., Lin L., Zhang Z., Luo S., Hu D. Pyroptosis, inflammasome and gasdermins in tumor immunity. *Innate Immun.* 2023;29(1-2):3–13. DOI: 10.1177/17534259221143216.
 57. Frank D., Vince J.E. Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk. *Cell Death Differ.* 2019;26(1):99–114. DOI: 10.1038/s41418-018-0212-6.
 58. Bertheloot D., Latz E., Franklin B.S. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cell Mol. Immunol.* 2021;18(5):1106–1121. DOI: 10.1038/s41423-020-00630-3.
 59. Kaukonen K.-M., Bailey M., Pilcher D., Cooper D.J., Bello-mo R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2015;372(17):1629–1638. DOI: 10.1056/NEJMoa1415236.
 60. Wei Y., Yang L., Pandeya A., Cui J., Zhang Y., Li Z. Pyroptosis-induced inflammation and tissue damage. *J. Mol. Biol.* 2022;434(4):167301. DOI: 10.1016/j.jmb.2021.167301.
 61. Zheng X., Chen W., Gong F., Chen Y., Chen E. The role and mechanism of pyroptosis and potential therapeutic targets in sepsis: a review. *Front. Immunol.* 2021;12:711939. DOI: 10.3389/fimmu.2021.711939.
 62. Sun Y.-B., Zhao H., Mu D.-L., Zhang W., Cui J., Wu L. et al. Dexmedetomidine inhibits astrocyte pyroptosis and subsequently protects the brain in *in vitro* and *in vivo* models of sepsis. *Cell Death Dis.* 2019;10(3):167. DOI: 10.1038/s41419-019-1416-5.
 63. Li T., Sun H., Li Y., Su L., Jiang J., Liu Y. et al. Downregulation of macrophage migration inhibitory factor attenuates NLRP3 inflammasome mediated pyroptosis in sepsis-induced AKI. *Cell Death Discov.* 2022;8(1):61. DOI: 10.1038/s41420-022-00859-z.
 64. Pai M.H., Wu J.M., Yang P.J., Lee P.C., Huang C.C., Yeh S.L. et al. Antecedent dietary glutamine supplementation benefits modulation of liver pyroptosis in mice with polymicrobial sepsis. *Nutrients*. 2020;12(4):1086. DOI: 10.3390/nu12041086.
 65. Mierzychala-Pasierb M., Krzystek-Korpacka M., Lesnik P., Adamik B., Placzkowska S., Serek P. et al. Interleukin-18 serum levels in sepsis: correlation with disease severity and inflammatory markers. *Cytokine*. 2019;120:22–27. DOI: 10.1016/j.cyto.2019.04.003.
 66. Wu Q., Xiao Z., Pu Y., Zhou J., Wang D., Huang Z. et al. TnI and IL-18 levels are associated with prognosis of sepsis. *Postgraduate Medical Journal*. 2019;95(1123):240–244. DOI: 10.1136/postgradmedj-2018-136371.
 67. Sarkar A., Hall M.W., Exline M., Hart J., Knatz N., Gattson N.T. et al. Caspase-1 regulates *Escherichia coli* sepsis and splenic B cell apoptosis independently of interleukin-1 β and interleukin-18. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006;174(9):1003–1010. DOI: 10.1164/rccm.200604-546OC.
 68. Wang L., Zhao H., Xu H., Liu X., Chen X., Peng Q. et al. Targeting the TXNIP-NLRP3 interaction with PSSM1443 to suppress inflammation in sepsis-induced myocardial dysfunction. *J. Cell Physiol.* 2021;236(6):4625–4639. DOI: 10.1002/jcp.30186.
 69. Cheng K.T., Xiong S., Ye Z., Hong Z., Di A., Tsang K.M. et al. Caspase-11-mediated endothelial pyroptosis underlies endotoxemia-induced lung injury. *J. Clin. Invest.* 2017;127(11):4124–4135. DOI: 10.1172/JCI94495.
 70. Kalbitz M., Fattahi F., Grailer J.J., Jajou L., Malan E.A., Zetoune F.S. et al. Complement-induced activation of the cardiac NLRP3 inflammasome in sepsis. *FASEB J.* 2016;30(12):3997–4006. DOI: 10.1096/fj.201600728R.

71. Busch K., Kny M., Huang N., Klassert T.E., Stock M., Hahn A. et al. Inhibition of the NLRP3/IL-1beta axis protects against sepsis-induced cardiomyopathy. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2021;12(6):1653–1668. DOI: 10.1002/jcsm.12763.
72. Yu P., Zhang X., Liu N., Tang L., Peng C., Chen X. Pyroptosis: mechanisms and diseases. *Signal Transduct. Target Ther.* 2021;6(1):128. DOI: 10.1038/s41392-021-00507-5.
73. Tang R., Xu J., Zhang B., Liu J., Liang C., Hua J. et al. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity. *J. Hematol. Oncol.* 2020;13(1):110. DOI: 10.1186/s13045-020-00946-7.
74. Liu C., Cai B., Li D., Yao Y. Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1 facilitates alveolar macrophage pyroptosis in sepsis-induced acute lung injury through NEK7-mediated NLRP3 inflammasome activation. *Innate Immun.* 2021;27(6):437–447. DOI: 10.1177/17534259211035426.

Вклад авторов

Одинцова И.А. – разработка концепции и дизайна, написание текста рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Чирский В.С. – написание текста рукописи, редактирование рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи. Слуцкая Д.Р. – поиск и анализ литературы по теме механизмов пироптоза. Андреева Е.А. – поиск и анализ литературы по теме патологии пироптоза. Березовская Т.И. – поиск и анализ литературы по теме методов выявления пироптоза.

Информация об авторах

Одинцова Ирина Алексеевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии с курсом эмбриологии, ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, odintsova-irina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0143-7402>

Чирский Вадим Семёнович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии, ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, v_chirsky@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3215-3901>

Слуцкая Дина Радиковна – канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры гистологии с курсом эмбриологии, ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, dina_hanieva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3910-2621>

Андреева Елена Анатольевна – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии, ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, toggg@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1973-9211>

Березовская Татьяна Ионовна – преподаватель, кафедра гистологии с курсом эмбриологии, ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, lapi2@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0009-1591-9152>

(✉) **Слуцкая Дина Радиковна**, dina_hanieva@mail.ru

Поступила в редакцию 23.09.2023;
одобрена после рецензирования 01.11.2023;
принята к публикации 02.11.2023

УДК 57.088.6:599.824

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-151-161>

Низшие обезьяны как модельный объект изучения метаболического синдрома

Орлов С.В.^{1,2}, Успенский Ю.П.³, Фоминых Ю.А.^{3,4}, Колесник Ю.А.^{1,2}, Панченко А.В.^{1,2}

¹ Курчатowskiй комплекс медицинской приматологии «Национальный исследовательский центр (НИЦ) «Курчатowskiй институт»

Россия, 354376, г. Сочи, Адлерский р-н, с. Весёлое, ул. Мира, стр. 177

² Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ)

Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9

³ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ)

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

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. В.А. Алмазова

Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

РЕЗЮМЕ

Цель работы – обобщение результатов исследований по изучению метаболического синдрома на низших обезьянах, проведение сравнительной характеристики с человеком.

Осуществлен поиск полнотекстовых публикаций в базах данных PubMed, Scopus по ключевым словам: nonhuman primate, monkey, obesity, diabetes mellitus, metabolic syndrome, insulin, atherosclerosis, hypertension. Отобраны статьи, описывающие эксперименты с участием следующих видов обезьян: яванские макаки (*Macaca fascicularis*), макаки-резус (*Macaca mulatta*), павианы (*Papio sp.*), африканские зеленые мартышки (*Cercopithecus aethiops*), обыкновенные игрунки (*Callithrix jacchus*).

Развитие различных критериев метаболического синдрома показано у всех рассмотренных видов обезьян. При этом имеется много сходных с людьми черт: у макак с ожирением, инсулинорезистентностью и сахарным диабетом 2-го типа выявляются повышение уровня общего холестерина, триглицеридов и свободных жирных кислот, снижение концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности. Предвестником нарушения углеводного метаболизма являются ожирение и инсулинорезистентность, по мере прогрессирования которой также увеличивается артериальное давление. В развитии метаболического синдрома немаловажным является сходство между людьми и обезьянами генетических и средовых факторов.

Возможность использовать обезьян в качестве биомодели человека остается незаменимым ресурсом для изучения патогенеза, оценки эффективности и безопасности новых терапевтических стратегий, направленных на клинически важные метаболические заболевания, включая ожирение, дислипидемию, атеросклероз, сахарный диабет 2-го типа и прочие состояния, ассоциированные с метаболической дисфункцией.

Ключевые слова: обезьяны, модель, метаболический синдром, ожирение, сахарный диабет, артериальная гипертензия

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках реализации программы мегагрантов Правительства РФ по соглашению от 30.06.2022 № 075-15-2022-1110 и тематического плана Курчатowskiго комплекса медицинской приматологии.

✉ Панченко Андрей Владимирович, ando_pan@mail.ru

Для цитирования: Орлов С.В., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., Колесник Ю.А., Панченко А.В. Низшие обезьяны как модельный объект изучения метаболического синдрома. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):151–161. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-151-161>.

Monkeys excluding apes as a model for studies on metabolic syndrome

Orlov S.V.^{1,2}, Uspensky Yu.P.³, Fominykh Yu.A.^{3,4}, Kolesnik Yu.A.^{1,2}, Panchenko A.V.^{1,2}

¹ Kurchatov Complex for Medical Primatology, National Research Center Kurchatov Institute
177, Mira Str., Vesyoloe Village, Adler District, Sochi, Krasnoyarsk Region, 354376, Russian Federation

² Saint Petersburg State University
7/9, Universitetskaya Embankment, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

³ Saint Petersburg State Pediatric Medical University
2, Litovskaya Str., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation

⁴ Almazov National Medical Research Center
2, Akkuratova Str., Saint Petersburg 197341, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To summarize the results of research on metabolic syndrome in monkeys excluding apes and to conduct a comparison with humans.

A search for full-text publications in PubMed and Scopus databases was carried out using the following keywords: nonhuman primate, monkey, obesity, diabetes mellitus, metabolic syndrome, insulin, atherosclerosis, hypertension. Articles were selected that describe studies involving the following monkey species: cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*), rhesus macaques (*Macaca mulatta*), baboons (*Papio* sp.), grivets (*Cercopithecus aethiops*), and common marmosets (*Callithrix jacchus*).

The development of various metabolic syndrome criteria was demonstrated in all monkey species reviewed. Many similarities with humans were revealed: macaques with obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus demonstrated an increase in total cholesterol, triglycerides, and free fatty acids and a decrease in the concentration of high-density lipoprotein cholesterol. Obesity and insulin resistance were precursors to impaired carbohydrate metabolism. Blood pressure increased along with the progression of insulin resistance. The similarity of genetic and environmental risk factors between humans and monkeys is important in the development of metabolic syndrome.

The reviewed data suggest that the use of monkeys in biomedical research remains an indispensable resource for the study of pathogenesis and assessment of the efficacy and safety of new therapeutic strategies targeting clinically important metabolic diseases, including obesity, dyslipidemia, atherosclerosis, type 2 diabetes mellitus, and, possibly, other conditions associated with metabolic syndrome.

Keywords: monkeys, model, metabolic syndrome, obesity, diabetes mellitus, arterial hypertension

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

Source of financing. The work was conducted as part of the megagrant program of the Government of the Russian Federation under Agreement No. 075-15-2022-1110 of 30.06.2022 and the roadmap of the Kurchatov Complex for Medical Primatology.

For citation: Orlov S.V., Uspensky Yu.P., Fominykh Yu.A., Kolesnik Yu.A., Panchenko A.V. Monkeys excluding apes as a model for studies on metabolic syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):151–161. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-151-161>.

ВВЕДЕНИЕ

Метаболический синдром (МС) представляет собой симптомокомплекс, объединяющий ряд метаболических нарушений: резистентность к инсулину, центральное ожирение, атерогенную дислипидемию

и артериальную гипертензию. Исторически G. Reaven в 1988 г. был предложен термин «синдром X», который позже получил название «МС» для дифференцировки с синдромом X в кардиологии [1]. Первое формализованное определение МС было предложено в 1998 г., оно неоднократно уточнялось, а в настоящее

время выделяют основные диагностические критерии МС (окружность талии или индекс массы тела) и дополнительные (уровень глюкозы натощак, нарушение толерантности к глюкозе, уровень гликированного гемоглобина, уровень холестерина липопротеидов невысокой плотности и артериальное давление) [2, 3].

Российские эксперты при диагностике МС используют критерии, принятые Всероссийским научным обществом кардиологов, согласно которым основным критерием МС является абдоминальное ожирение (окружность талии). Дополнительные критерии (наличие двух и более) включают артериальную гипертензию, повышение уровня триглицеридов (ТГЦ) и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП), снижение уровня холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), гипергликемию натощак, нарушение толерантности к глюкозе [4]. При этом МС не считается самостоятельной нозологической единицей. Патогенез МС включает множество генетических и приобретенных состояний, которые попадают под определение резистентности к инсулину и системного хронического слабовыраженного воспаления. МС в значительной степени связан с повышенным риском развития сахарного диабета 2-го типа (СД2) и сердечно-сосудистых заболеваний [5]. Распространенность МС колеблется от 20 до 25% у взрослого населения и от 0 до 19,2% у детей, у больных СД2 достигает 80% [6]. С возрастом увеличивается вероятность развития метаболических нарушений [7].

Широкое распространение МС и важное клиническое значение обуславливают активное изучение патофизиологических механизмов и патоморфологических проявлений МС. Создано большое число экспериментальных моделей на различных видах животных. СД и ожирение моделируются с помощью высококалорийных диет, химических веществ, модификации генетического аппарата клетки и др. [8, 9]. Особое место среди животных, используемых для изучения патогенеза МС, занимают обезьяны, входящие наряду с человеком в отряд приматов. Это обусловлено близким генетическим родством с человеком и похожими физиологическими изменениями, связанными с ожирением и метаболическими нарушениями, сходными продолжительностью жизни и старением [10, 11].

Модель на лабораторных приматах следует рассматривать как важный трансляционный мост между базовыми исследованиями на моделях у грызунов и клиническими исследованиями у людей. Ранее в подотряд обезьян включали широконосых (*Platyrrhina*), или обезьян Нового Света, и узконосых (*Catarrhina*), или обезьян Старого Света, к которым относят человекообразных (*Hominoidea*), включающих и людей. В последнее время приматов класси-

фицируют на подотряды мокроносых (*Strepsirrhini*) и сухоносых (*Haplorhini*), к последнему относят долгопятов и собственно обезьян [12]. В англоязычной литературе принято использовать термин *Nonhuman Primates*, что следует переводить как «приматы кроме человека», соответственно таксономии отряда, и важно учитывать при анализе научной информации.

Однако возможно ли обобщать столь разнообразный отряд при описании его как биомодели человека? Вероятно, но с определенными ограничениями. Так, показано, что окружность талии положительно коррелирует с систолическим и диастолическим артериальным давлением, уровнем глюкозы, резистентностью к инсулину у шимпанзе обоего пола. Масса тела коррелирует с систолическим и диастолическим артериальным давлением у самок шимпанзе и с уровнем триглицеридов у самцов шимпанзе. При этом окружность талии в большей степени связана с метаболическими факторами риска, нежели масса тела, особенно у самок шимпанзе [13]. В популяциях стареющих взрослых шимпанзе, содержащихся в неволе, был описан СД2 на основании стойкой гипергликемии натощак, наличия глюкозурии и возраста начала заболевания.

Однако кардиальная патология у человека и шимпанзе различается по данным гистопатологических исследований пораженного сердца шимпанзе: внезапная смерть у шимпанзе (а также у горилл и орангутанов) обычно ассоциируется с диффузным интерстициальным фиброзом миокарда неизвестной этиологии, в то время как у человека большинство сердечных заболеваний, как известно, связано с атеросклеротическим поражением коронарных артерий. Типичный инфаркт миокарда у человека, вызванный тромбозом коронарной артерии, у этих видов обезьян встречается редко, несмотря на «человекоподобные» профили липидов крови, потенциально связанные с высоким коронарным риском. Напротив, «сердечные приступы» у шимпанзе, вероятно, связаны с аритмиями, вызванными вышеупомянутым миокардиальным фиброзом [14].

Человекообразные обезьяны в настоящее время практически не используются в биомедицинских исследованиях по этическим соображениям [15]. Поэтому больший интерес представляют другие виды подотряда сухоносых. У обезьян наблюдается развитие различных возрастных заболеваний, включая сердечно-сосудистые, нарушение метаболизма глюкозы, перераспределение и общее увеличение количества жира [16]. У многих видов обезьян описано развитие СД и ожирения. Среди представителей Старого Света СД развивается у яванских макак (*Macaca fascicularis*), макак-резус (*Macaca mulatta*), пави-

анов (*Papio* sp.), африканских зеленых мартышек (*Cercopithecus aethiops*) [17]. Среди обезьян Нового Света СД описан у обыкновенных игрунок (*Callithrix jacchus*), беличьих обезьян (*Saimiri sciureus*), капуцинов (*Cebus apella*) и тамаринов (*Saquinus* sp.) [18, 19]. Тучные яванские макаки [14] и обыкновенные игрунки обладают рядом метаболических параметров, подобных тем, которые определяют МС у людей [18]. Ниже будет приведено обобщение данных о критериях МС у разных видов низших обезьян.

ОЖИРЕНИЕ, ДИСЛИПИДЕМИЯ

Ожирение может быть вызвано у обезьян при содержании их на гиперкалорийной диете, а также часто наблюдается спонтанно, особенно у макак-резус, яванских макак, африканских зеленых мартышек и беличьих обезьян [20]. Характеристика самцов обезьян среднего возраста со спонтанным ожирением была впервые приведена Hamilton и соавт. в начале 1970-х гг. Такие макаки-резус характеризовались гиперинсулинемией, гиперлипидемией, а при длительном или выраженном ожирении наблюдалось развитие инсулин-зависимого СД. Показано, что масса тела не является достоверным показателем определения степени выраженности ожирения, а измерение количества жира в организме животного лучше всего коррелировало с окружностью талии ($r = 0,981$) и толщиной кожной складки на передней грудной стенке ($r = 0,912$). «Очень тучные» макаки-резус обоих полов имеют значительное повышение уровня инсулина в сыворотке крови натощак и повышенные значения инсулина после глюкозной нагрузки, резистентность к инсулину [21].

В другом исследовании у макак-резус окружность талии коррелировала наилучшим образом с содержанием жира в теле ($r = 0,90$). Также наблюдались сильная линейная зависимость между окружностью талии и уровнем инсулина в плазме ($r = 0,66$), нарушением толерантности к глюкозе ($r = -0,53$), но не с уровнем глюкозы крови, фракциями липопротеидов или свободными жирными кислотами [22]. Характер распределения абдоминального жира в теле человека, страдающего ожирением, аналогичен [21].

Поскольку ожирение играет ключевую роль в прогрессировании инсулинорезистентности, метаболического синдрома и СД2, измерение содержания жира в организме животных имеет важное значение [23]. С ожирением связано повышение уровня лептина в крови у яванских макак, макак-резус, а также у павианов. Концентрации лептина часто повышены при СД2 у макак-резус и яванских, значительно коррелируют с массой тела ($r = 0,72$). Причем уровень лептина увеличивался у макак по мере нарастания

резистентности к инсулину и ожирения, но несколько снижался по мере развития СД2 и ассоциированной потери жира [17].

Уровни лептина положительно, а адипонектина отрицательно коррелируют с концентрацией инсулина и процентным содержанием жира в организме [14]. При исследовании популяции зеленых африканских мартышек из 98 самцов и 157 небеременных самок объем талии коррелировал с увеличением концентрации в крови триглицеридов. При этом самки имели более высокую концентрацию триглицеридов, чем самцы, высокий риск центрального ожирения и неблагоприятный липидный профиль [24]. У обезьян с СД с относительной инсулинопенией отмечаются повышенные уровни холестерина и триглицеридов, что связано с нарушением активности липопротеинлипазы, которая является инсулинозависимым ферментом и играет важную роль в катаболизме богатых триглицеридами липопротеидов очень низкой плотности, в меньшей степени липопротеидов низкой плотности. Кроме того, при СД2 увеличивается содержание свободных жирных кислот [17].

Развитие ожирения сопровождается неспецифическим тканевым поражением в виде липидоза и гликогеноза печени, жировой инфильтрации многих органов [25]. В многочисленных работах по изучению атерогенеза у обезьян под воздействием высокожировой гиперхолестериновой диеты были продемонстрированы изменения липидного профиля, аналогичные таковым у человека. Были установлены и значительные индивидуальные различия в развитии дислипидемии и атеросклероза, в частности у некоторых особей практически не наблюдалось атеросклеротических изменений, несмотря на выраженную гиперхолестеринемию [26]. Описан «фатальный синдром голодания» тучных макак, который проявляется внезапной смертью без предшествующих признаков болезни, часто следует за короткими периодами анорексии или потери массы тела на 20–30% в течение периода от нескольких дней до 2 нед. Патогенез данного синдрома полностью не изучен [27].

Павианы рассматриваются в качестве модельного объекта изучения генетики ожирения, в частности проводится генотипирование и фенотипическая характеристика колонии павианов (более 16 тыс. особей прослежено в семи поколениях) Юго-Западного национального приматологического центра США [28]. С увеличением массы у животных отмечалось увеличение жировых отложений, окружности талии и концентрации лептина в крови. Анализ состава тела, проведенный биоимпедансным методом, показал, что при достижении самками павианов 20 кг (средний вес взрослой особи 19 кг), а самцами 38 кг

(средний вес взрослой особи 31 кг), количество жира в теле составляет 20%. Многие показатели углеводного обмена и ожирения (масса тела, инсулин, глюкоза, С-пептид, триглицериды, адипонектин) в значительной степени имеют наследственную природу [28, 29].

ГИПЕРГЛИКЕМИЯ НАТОЩАК, НАРУШЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ, СД₂

Как и у людей, у макак-резус, яванских макак, павианов имеется связь СД 2-го типа с возрастом и массой тела в основном из-за ожирения. Около 30% яванских макак старше 15 лет имеют базальную и (или) постпрандиальную гиперинсулинемию [17]. У макак-резус чувствительность к инсулину снижается с возрастом [30]. Однако только ожирения недостаточно для прогнозирования развития СД₂, который является прогрессирующим заболеванием у макак. Изначально оно характеризуется нормальной толерантностью к глюкозе и резистентностью к инсулину с компенсаторной гиперинсулинемией. У всех обезьян с прогрессирующим развитием СД₂ было ожирение, но некоторые обезьяны с ожирением сохраняли нормальную толерантность к глюкозе [31].

Яванские и макаки-резус в течение длительного времени до развития явного СД имеют инсулинорезистентность и гиперинсулинемию [32]. Впоследствии происходит отложение амилоида и уменьшение количества β -клеток в островках поджелудочной железы. Секретция инсулина не может поддерживаться на повышенном уровне, концентрация циркулирующего инсулина снижается, развивается нарушение толерантности к глюкозе. Механизмы идентичны таковым у людей [33]. По мере прогрессирования ожирения, резистентности к инсулину и развития СД₂ постпрандиальные концентрации глюкозы повышаются раньше, чем концентрация глюкозы натощак [17]. Увеличивается гликирование за счет неферментативного присоединения глюкозы к аминокислотным группам белков. Как у людей, у обезьян с гипергликемией увеличивается содержание в крови

фруктозамина (продукт гликирования альбумина) и гликированного гемоглобина [10, 34].

Наконец, при истощении эндокринной функции поджелудочной железы у животных с СД₂ может быть повышен уровень инсулина натощак, но при этом они не могут адекватно реагировать на введение глюкозы, происходит повышение уровня глюкозы натощак. Ограничение калорийности диеты и применение пероральных сахароснижающих препаратов в течение некоторого времени являются эффективными методами лечения, но со временем часто требуется введение экзогенного инсулина [35]. Африканские зеленые мартышки подвержены развитию ожирения, СД при содержании вне воли. Особенно риску центрального ожирения и неблагоприятного липидного профиля подвержены самки. Самки с повышенным уровнем гликированного гемоглобина имели нарушение толерантности к глюкозе, но не резистентности к инсулину, и центральное ожирение. Был обнаружен сильный наследственный паттерн, свидетельствующий о наличии моногенной формы диабета, например такой, как сахарный диабет MODY, или митохондриальный диабет [36].

Важным вопросом остается определение референтных значений биохимических показателей для всех видов обезьян (табл. 1–3), используемых в биомедицинских исследованиях. Например, на концентрацию глюкозы в крови могут влиять статус животного перед взятием крови, сама процедура (стресс, седация, наркоз), обращение с пробами крови (длительность и температура хранения, бактериальная контаминация) и надежность используемого метода определения. В таблицах приведены данные, отражающие различия и частичную регистрацию показателей в разных исследованиях. У обезьян концентрация глюкозы натощак ниже на 20–30 мг/дл (пересчет: 1,1–1,7 ммоль/л), чем у людей, а концентрация глюкозы натощак в диапазоне 100–126 мг/дл (пересчет: 5,6–7,0 ммоль/л) явно свидетельствует о диабете [17, 34]. Концентрация глюкозы натощак отличается в зависимости от стадии развития нарушения углеводного обмена и значительно повышается при явном СД₂.

Таблица 1

Некоторые антропометрические и биохимические показатели обезьян *M. mulatta* с метаболическими нарушениями

Диета	Число и характеристика животных	Глюкоза натощак, ммоль/л	HbA1c	ХС, ммоль/л	ТГЦ, ммоль/л	Инсулин, μ У/мл	Окружность талии, см	Ссылка
Стандартная*	4 самца с ожирением	$3,5 \pm 0,2$	—	$3,67 \pm 0,34$	$0,99 \pm 0,17$	$164,7 \pm 37,9^{**}$	$74,9 \pm 5,4$	[21]
	4 самки с ожирением	$3,3 \pm 0,2$	—	$4,09 \pm 0,23$	$0,91 \pm 0,02$	$109,7 \pm 16,3^{**}$	$58,4 \pm 3,1$	
	3 самца без ожирения	$3,2 \pm 0,2$	—	$2,61 \pm 0,36$	$0,42 \pm 0,05$	$26,2 \pm 11,8^{**}$	$36,5 \pm 1,6$	
	3 самки без ожирения	$2,9 \pm 0,1$	—	$3,49 \pm 0,62$	$0,52 \pm 0,08$	$48,2 \pm 11,5^{**}$	$36,3 \pm 4,2$	
Стандартная	18 самцов с МС	$4,46 \pm 0,21$	—	$3,31 \pm 0,19$	$1,04 \pm 0,15$	$58,9 \pm 15,8$	$52,14 \pm 2,35$	[37]
	17 контрольных самцов	$3,90 \pm 0,10$	—	$3,50 \pm 0,16$	$0,58 \pm 0,05$	$18,5 \pm 3,6$	$41,97 \pm 2,49$	

Оконсание табл. 1

Диета	Число и характеристика животных	Глюкоза натощак, ммоль/л	HbA1c	ХС, ммоль/л	ТГЦ, ммоль/л	Инсулин, $\mu\text{U}/\text{мл}$	Окружность талии, см	Ссылка
Стандартная***	Стадия «полного здоровья». 12 самцов, 3,0–8,9 лет	$3,7 \pm 0,1$	–	–	–	$42,0 \pm 3,0$	– (4–16% жира от массы тела)	[31]
	Стадия «выраженной гиперинсулинемии». 6 самцов, 14,3–19,6 лет, с ожирением	$4,4 \pm 0,2$	–	–	–	$415,0 \pm 84,2$	– (25–44% жира от массы тела)	
	Стадия «явного диабета». 7 самцов, 14,8–21,3 лет, с ожирением	$10,8 \pm 1,1$	–	–	–	$45,0 \pm 5,1$	– (18–30% жира от массы тела)	

* масса тела у тучных самцов превышала на 207% и у самок на 173% массу тела животных без ожирения. ** пересчитано из $\mu\text{моль/л}$ ($1 \mu\text{моль/л} = 0,144 \mu\text{U/мл}$). *** среди 42 самцов возрастом 3–28 лет, весом 5,0–31,7 кг (28 исходно с ожирением) были выделены восемь стадий нарушения углеводно-жирового обмена от полностью «здоровых» до фазы «явного диабета», последняя характеризовалась потерей веса и выраженной глюкозурией.

Таблица 2

Некоторые антропометрические и биохимические показатели обезьян *M. fascicularis* с метаболическими нарушениями

Диета	Число и характеристика животных	Глюкоза натощак, ммоль/л	HbA1c, %	ХС, ммоль/л	ТГЦ, ммоль/л	Инсулин, $\mu\text{U/мл}$	Окружность талии, см	Ссылка
С высоким содержанием углеводов и низким содержанием холестерина	Контроль – 7 самцов и 5 самок	$3,06 \pm 0,13^*$	–	$3,52 \pm 0,18^*$	$2,22 \pm 0,31^*$	$12,8 \pm 2,2$	–	[17]
	5 самцов и 3 самки с гиперинсулинемией	$3,83 \pm 0,25^*$	–	$3,65 \pm 0,33^*$	$1,76 \pm 0,16^*$	$56,5 \pm 10,4$	–	
	3 самца и 7 самок с нарушением толерантности к глюкозе	$3,44 \pm 0,22^*$	–	$3,91 \pm 0,77^*$	$1,89 \pm 0,33^*$	$15,1 \pm 1,6$	–	
	4 самца, 1 самка с гиперинсулинемией и нарушением толерантности к глюкозе**	$4,95 \pm 0,57^*$	–	$3,36 \pm 0,52$	$5,69 \pm 1,71^*$	$62,7 \pm 13,5$	–	
Стандартная	24 контрольных самца	$3,19 \pm 0,09^*$	$3,8 \pm 0,3$	$2,77 \pm 0,1^*$	$0,80 \pm 0,10^*$	$11,4 \pm 0,9$	–	[17]
	17 самцов и 8 самок с СД2	$14,44 \pm 1,21^*$	$10,7 \pm 1,4$	$4,24 \pm 0,39^*$	$9,13 \pm 1,24^*$	$90,6 \pm 18,5$	–	

* пересчитано из мг/дл (глюкоза: $1 \text{ ммоль/л} = 18,018 \text{ мг/дл}$; ХС: $1 \text{ ммоль/л} = 38,66 \text{ мг/дл}$, ТГЦ: $1 \text{ ммоль/л} = 88,5 \text{ мг/дл}$). ** животные этой группы имели ожирение с превышением на 40% средней массы тела животных других групп.

Таблица 3

Некоторые антропометрические и биохимические показатели обезьян *Cercopithecus aethiops* с метаболическими нарушениями

Диета	Число и характеристика животных	Глюкоза натощак, ммоль/л	HbA1c, %	ХС, ммоль/л	ТГЦ, ммоль/л	Инсулин, $\mu\text{U/мл}$	Окружность талии, см	Ссылка
Стандартная	157 самок, общая популяция	$3,35 \pm 0,13^*$	$5,48 \pm 0,15$	$3,96 \pm 0,07^*$	$1,00 \pm 0,05^*$	$27,7 \pm 1,7$	$37,8 \pm 0,39$	[24]
	Контроль, 4 самки	$3,36 \pm 0,26^*$	$5,27 \pm 0,19$	–	$1,27 \pm 0,27^*$	$20,8 \pm 5,2$	$38,37 \pm 0,36$	
	Нарушение толерантности к глюкозе, 3 самки	$5,81 \pm 0,41^*$	$8,30 \pm 0,40$	–	$3,05 \pm 1,04^*$	$26,5 \pm 2,8$	$43,33 \pm 2,17$	

* пересчитано из мг/дл (глюкоза: $1 \text{ ммоль/л} = 18,018 \text{ мг/дл}$; ХС: $1 \text{ ммоль/л} = 38,66 \text{ мг/дл}$, ТГЦ: $1 \text{ ммоль/л} = 88,5 \text{ мг/дл}$).

АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ, СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ПАТОЛОГИЯ

Диагностика спонтанной артериальной гипертензии проблематична у обезьян. Бодрствующих животных необходимо фиксировать во время процедуры,

что является стрессогенным фактором, повышающим артериальное давление. Использование седативных препаратов, как правило, сопровождается изменением артериального давления. А применение телеметрических систем ограничено необходимостью хирургической имплантации и сроком эксплуа-

тации самой системы [38]. Спонтанная артериальная гипертензия развивается у макак-резус, африканских зеленых мартишек [39]. При моделировании гипертензии у павианов двумя способами, спустя 13 мес, показано увеличение вдвое количества жировых полосок в абдоминальном отделе аорты, подвздошно-бедренной артерии, плечевой артерии и коронарных артериях вне зависимости от уровня липидов плазмы крови [40].

Поражения магистральных сосудов являются основной смерти людей с СД2, связаны с прогрессированием атеросклероза, ведущего к ишемической болезни сердца и инсульту [41]. Атеросклеротические проявления значительно чаще наблюдаются у обезьян со спонтанным или индуцированным химически диабетом [26]. У яванских макак при прогрессировании от инсулинорезистентности до СД2 наблюдается увеличение артериального давления и маркеров воспаления [19]. Макаки-резус являются одной из многих животных моделей диабетической периферической нейропатии и ретинопатии [42]. В преддиабетической гиперинсулинемической фазе описано расширение клубочков, гломерулосклероз и утолщение базальной мембраны клубочков с гипертрофией [43]. У яванских макак с выраженными дислипидемией, СД и протеинурией выявлены диастолическая дисфункция левого желудочка с сохранением фракции выброса и снижение кардиального резерва в тесте с добутином, что свидетельствует о высоком трансляционном потенциале этой модели в отношении людей [44]. Это позволяет рассматривать обезьян как модель для изучения роли инсулинорезистентности в развитии и прогрессировании диабетических сосудистых заболеваний.

МОДЕЛИРОВАНИЕ МС

В исследовании китайского коллектива [37] проведен скрининг среди 408 взрослых самцов *Macaca mulatta* из трех питомников Китая. В соответствии с принятыми у людей [3] были выделены следующие критерии предрасположенности к МС (наличие трех из пяти): 1) артериальное давление $\geq 120/75$ мм рт. ст.; 2) окружность талии ≥ 37 см; 3) глюкоза плазмы натощак $\geq 3,8$ ммоль/л; 4) триглицериды плазмы натощак $\geq 0,45$ ммоль/л, а также выше 80-го перцентиля; 5) ХС-ЛПВП $\leq 1,10$ ммоль/л или ниже 20-го перцентиля. В соответствии со способом отбора, животные, предрасположенные к МС, имели значительно более высокое артериальное давление, уровень глюкозы плазмы натощак, окружность талии и массу тела, чем у контрольных. При этом не было различий между этими группами в отношении уровня ТГЦ, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, общего ХС или инсулина [37].

Проведя наблюдения за животными с предрасположенностью, авторы исследования предложили следующие критерии установления диагноза МС (наличие ≥ 3 из пяти): 1) объем талии ≥ 40 см и отношение окружности талии к окружности бедер $\geq 0,9$; 2) глюкоза плазмы натощак $\geq 4,40$ ммоль/л; 3) триглицериды плазмы натощак $\geq 0,90$ ммоль/л; 4) ХС-ЛПВП $\leq 1,55$ ммоль/л; 5) артериальное давление $\geq 130/80$ мм рт. ст. Данным критериям удовлетворяли 18 обезьян, среди которых у одной, четырех и 13 сочетались пять, четыре и три критерия МС. Двумя превалирующими критериями были увеличение окружности талии (94%) и артериальная гипертензия (73%). Остальные критерии встречались в различных по частоте сочетаниях [37]. Подобная закономерность аналогична картине, наблюдаемой у людей [45].

МОДЕЛИРОВАНИЕ СД

Исторически наиболее распространенными методами индукции диабета были частичная или тотальная панкреатэктомия или введение аллоксана, который вызывает быструю и полную потерю β -клеток, и вскоре после этого развивается гипергликемия. Основным фактором, сдерживающим использование аллоксана, является сопутствующее повреждение почек, надпочечников, щитовидной железы, гипофиза и печени [25]. Более специфическим токсином в отношении β -клеток является стрептозотоцин, антибиотик, полученный из *Streptomyces aromogenes*.

У обезьян введение стрептозотоцина приводит к выраженной гипергликемии и дислипидемии, которые обладают некоторым сходством как с СД1, так и СД2, однако, изменения островков поджелудочной железы более характерны для СД1 [25]. Степень повреждения островков Лангерганса варьирует, некоторым обезьянам требуется более одной дозы стрептозотоцина для развития гипергликемии. У животных не развивается инсулинорезистентность, если нет сочетания с ожирением или старшим возрастом, дозы инсулина для коррекции составляют 1,0–5,0 ЕД/кг массы тела в сутки [46]. Уровень холестерина и триглицеридов в плазме повышается незначительно при адекватном контроле гипергликемии [47].

ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие метаболических нарушений у обезьян имеет много сходных с людьми черт. Яванские макаки с ожирением, инсулинорезистентностью и СД2 имеют такие же изменения в липидном спектре, как и пациенты с СД2: повышение общего холестерина, триглицеридов и свободных жирных кислот,

снижение концентрации ХС-ЛПВП [17]. СД2 является прогрессирующим заболеванием, как и у людей [31]. По мере прогрессирования инсулинорезистентности также увеличивается артериальное давление. Важное значение отводится ассоциации МС и системного воспаления. С-реактивный белок, синтезируемый печенью при воспалительной реакции острой фазы, коррелирует с резистентностью к инсулину и ожирением, а также повышенным риском развития СД2 и связанных с ним сердечно-сосудистых заболеваний [48].

У яванских макаков увеличение С-реактивного белка носит ступенчатый характер при сопоставлении контрольных, инсулинорезистентных и животных с СД2 [17]. У африканских зеленых мартишек с высоким риском МС происходит постоянная активация иммунитета, связанная с повышением провоспалительного цитокина интерлейкина 6 и опосредованная резидентными грамотрицательными микробными сообществами, формирующимися в висцеральной жировой ткани как у худых особей, так и при ожирении [49].

Кроме совпадения патогенетических характеристик в развитии МС немаловажным является сходство генетических и средовых факторов. Поскольку такие факторы сложно контролировать в клинической практике, модели метаболических нарушений у обезьян становятся уникальными в контексте изучения влияния факторов генетических и окружающей среды (диета, стресс) на развитие ожирения, СД, МС. В условиях контролируемых колоний животных с известной родословной становится возможным изучение ген-средовых взаимодействий [24, 50].

На массу тела у павианов сильное действие оказывает наследственность ($h^2 = 0,9$). Очевидно, имеется набор генов, сцепленных с резистентностью к инсулину, которые влияют на фенотипы, связанные с ожирением, что подтверждает общность генетической основы развития резистентности к инсулину и ожирения [51]. Экспрессия мРНК транспортера глюкозы 4 находится под значительным генетическим влиянием и коррелирует с уровнем инсулина плазмы и массой тела. Это указывает на общность генетической регуляции этих фенотипических признаков [28]. Важным средовым фактором, оказывающим влияние на углеводный обмен, ожирение, является диета. При ограничении калорийности питания у макаков отмечается благоприятное влияние: снижение уровня глюкозы и инсулина, повышение чувствительности к инсулину [52].

При содержании обезьян в неволе рутинной практикой является предоставление корма *ad libitum*. Обезьяны в группах имеют определенную социаль-

ную иерархию (например, доминирующая или подчиненная роль), определяющую различия в пищевом поведении. Имеет значение и состав корма. Во многих стандартных кормах (Purina, Teklad и др.) в качестве весомого источника белка используются соевые бобы, содержащие изофлавоны (генистеин, даидзеин и др.). Изофлавоны относятся к растительным фитоэстрогенным соединениям, оказывающим эстрогенный или антиэстрогенный эффект, влияя на гормональные и метаболические параметры животных. Для обезьян не установлен адекватный уровень потребления изофлавонов [53].

Еще одним средовым фактором является стрессогенность условий содержания обезьян в неволе. Так, африканские зеленые мартишки (*Chlorocebus aethiops*) и красные африканские обезьяны (*Erythrocebus patas*) при содержании в условиях относительно социальной скученности значительно хуже справлялись с глюкозной нагрузкой по сравнению с их собратьями, содержащимися в менее скученных группах [17]. Для обезьян, которые живут большими группами, подобный фактор может не иметь важного значения. Для таких видов (например, макаки-резус) более стрессогенным являются повторные реорганизации сложившейся социальной группы.

Приматологические модели МС являются более адекватными по сравнению с грызунами. Например, ядерные рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом, имеют различия в уровне экспрессии и связывании с регуляторными элементами в промоторе аполипопротеина А1 у грызунов и обезьян, что приводит к противоположным эффектам агонистов PPAR α на продукцию ApoA1 и метаболизм ЛПВП [54]. Таким образом, приматологические модели внесли значимый вклад в формирование понимания фундаментальных основ развития МС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возможность использовать обезьян в качестве биомодели человека остается незаменимым ресурсом для изучения патогенеза, оценки эффективности и безопасности новых терапевтических стратегий, направленных на клинически важные метаболические заболевания, включая ожирение, дислипидемию, атеросклероз, СД2 и прочие состояния, ассоциированные с метаболической дисфункцией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cheng T.O. Cardiac syndrome X versus metabolic syndrome X. *Int. J. Cardiol.* 2007;119(2):137–138. DOI: 10.1016/j.ijcard.2006.06.062.
2. Dobrowolski P., Prejbisz A., Kuryłowicz A., Baska A., Burchardt P., Chlebus K. et al. Metabolic syndrome – a new

- definition and management guidelines. A joint position paper by the Polish Society of Hypertension, Polish Society for the Treatment of Obesity, Polish Lipid Association, Polish Association for Study of Liver, Polish Society of Family Medicine, Polish Society of Lifestyle Medicine, Division of Prevention and Epidemiology Polish Cardiac Society, "Club 30" Polish Cardiac Society, and Division of Metabolic and Bariatric Surgery Society of Polish Surgeons. *Arch. Med. Sci.* 2022;18(5):1133–1156. DOI: 10.5114/aoms/152921.
3. Alberti K.G.M.M., Eckel R.H., Grundy S.M., Zimmet P.Z., Cleeman J.I., Donato K.A. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120(16):1640–1645. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644.
 4. McCracken E., Monaghan M., Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clinics in Dermatology.* 2018;36(1):14–20. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2017.09.004.
 5. Иванов С.В., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А. Метаболический синдром: от человекообразного примата до человека. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2017;143(7):135–140.
 6. Belete R., Ataro Z., Abdu A., Sheleme M. Global prevalence of metabolic syndrome among patients with type I diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology & Metabolic Syndrome.* 2021;13(1):25. DOI: 10.1186/s13098-021-00641-8.
 7. Ladabaum U., Mannalithara A., Myer P.A., Singh G. Obesity, abdominal obesity, physical activity, and caloric intake in US adults: 1988 to 2010. *Am. J. Med.* 2014;127(8):717–727.e12. DOI: 10.1016/j.amjmed.2014.02.026.
 8. Kennedy A.J., Ellacott K.L.J., King V.L., Hasty A.H. Mouse models of the metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms.* 2010;3(3–4):156–166. DOI: 10.1242/dmm.003467.
 9. Romero-Nava R., García N., Aguayo-Cerón K.A., Sánchez Muñoz F., Huang F., Hong E. et al. Modifications in GPR21 and GPR82 genes expression as a consequence of metabolic syndrome etiology. *J. Recept. Signal Transduct Res.* 2021;41(1):38–44. DOI: 10.1080/10799893.2020.1784228.
 10. Wagner J.D., Bagdade J.D., Litwak K.N., Zhang L., Bell-Farrow A.D., Wang Z.Q. et al. Increased glycation of plasma lipoproteins in diabetic cynomolgus monkeys. *Lab. Anim. Sci.* 1996;46(1):31–35.
 11. Pound L.D., Kievit P., Grove K.L. The nonhuman primate as a model for type 2 diabetes. *Curr Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2014;21(2):89–94. DOI: 10.1097/MED.0000000000000043.
 12. Mammal Diversity Database. Zenodo. 2023 [Internet, cited 24 July 2023]. URL: <https://zenodo.org/record/4139722>. DOI: 10.5281/ZENODO.4139722.
 13. Andrade M.C., Higgins P.B., Mattern V.L., Garza M.A.D.L., Brasky K.M., Voruganti V.S. et al. Morphometric variables related to metabolic profile in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Comp. Med.* 2011;61(5):457–461.
 14. Chen Y., Ogawa H., Narita H., Ohtoh K., Yoshida T., Yoshikawa Y. Ratio of leptin to adiponectin as an obesity index of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Exp. Anim.* 2003;52(2):137–143. DOI: 10.1538/expanim.52.137.
 15. Aguilera B., Perez Gomez J., DeGrazia D. Should biomedical research with great apes be restricted? A systematic review of reasons. *BMC Med. Ethics.* 2021;22(1):15. DOI: 10.1186/s12910-021-00580-z.
 16. Chiou K.L., Montague M.J., Goldman E.A., Watowich M.M., Sams S.N., Song J. et al. Rhesus macaques as a tractable physiological model of human ageing. *Philos. Trans. R Soc. Lond. B, Biol. Sci.* 2020;375(1811):20190612. DOI: 10.1098/rstb.2019.0612.
 17. Wagner J.D., Kavanagh K., Ward G.M., Auerbach B.J., Harwood H.J., Kaplan J.R. Old world nonhuman primate models of type 2 diabetes mellitus. *ILAR Journal.* 2006;47(3):259–271. DOI: 10.1093/ilar.47.3.259.
 18. Tardif S.D., Mansfield K.G., Ratnam R., Ross C.N., Ziegler T.E. The marmoset as a model of aging and age-related diseases. *ILAR Journal.* 2011;52(1):54–65. DOI: 10.1093/ilar.52.1.54.
 19. Harwood H.J., Listrani P., Wagner J.D. Nonhuman primates and other animal models in diabetes research. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2012;6(3):503–514.
 20. Vaughan K.L., Mattison J.A. Obesity and aging in humans and nonhuman primates: A mini-review. *Gerontology.* 2016;62(6):611–617. DOI: 10.1159/000445800.
 21. Kemnitz J.W., Goy R.W., Flitsch T.J., Lohmiller J.J., Robinson J.A. Obesity in male and female rhesus monkeys: Fat distribution, glucoregulation, and serum androgen level. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1989;69(2):287–293. DOI: 10.1210/jcem-69-2-287.
 22. Bodkin N.L., Hannah J.S., Ortmeyer H.K., Hansen B.C. Central obesity in rhesus monkeys: association with hyperinsulinemia, insulin resistance and hypertriglyceridemia? *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 1993;17(1):53–61.
 23. Cefalu W.T., Wagner J.D. Aging and atherosclerosis in human and nonhuman primates. *AGE.* 1997;20(1):15–28. DOI: 10.1007/s11357-997-0002-4.
 24. Kavanagh K., Fairbanks L.A., Bailey J.N., Jorgensen M.J., Wilson M., Zhang L. et al. Characterization and heritability of obesity and associated risk factors in vervet monkeys. *Obesity.* 2007;15(7):1666–1674. DOI: 10.1038/oby.2007.199.
 25. Wagner J.D., Cann J.A., Zhang L., Harwood H.J. Diabetes and obesity research using nonhuman primates. In: Nonhuman primates in biomedical research. Elsevier, 2012:699–732. DOI: 10.1016/B978-0-12-381366-4.00014-6.
 26. Shelton K.A., Clarkson T.B., Kaplan J.R. Nonhuman primate models of atherosclerosis. In: Nonhuman primates in biomedical research. Elsevier, 2012:385–411. DOI: 10.1016/B978-0-12-381366-4.00008-0.
 27. Donnelly T.M. Diagnosis: Fatal fasting syndrome of obese macaques. *Lab. Anim.* 2003;32(7):24–25. DOI: 10.1038/lab0803-24.
 28. Cox L.A., Comuzzie A.G., Havill L.M., Karere G.M., Spradling K.D., Mahaney M.C. et al. Baboons as a model to study genetics and epigenetics of human disease. *ILAR J.* 2013;54(2):106–21. DOI: 10.1093/ilar/ilt038.
 29. Tejero M.E., Voruganti V.S., Rodríguez-Sánchez I.P., Proffitt J.M., Blangero J., Cox L.A. et al. Genetics of varia-

- tion in adiponectin in pedigreed baboons: evidence for pleiotropic effects on adipocyte volume and serum adiponectin. *Heredity (Edinb.)*. 2008;100(4):382–389. DOI: 10.1038/sj.hdy.6801089.
30. Tigno X.T., Gerzanich G., Hansen B.C. Age-related changes in metabolic parameters of nonhuman primates. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2004;59(11):1081–1088. DOI: 10.1093/gerona/59.11.1081.
 31. Hansen B.C., Bodkin N.L. Heterogeneity of insulin responses: phases leading to Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in the rhesus monkey. *Diabetologia*. 1986;29(10):713–719. DOI: 10.1007/BF00870281.
 32. Bodkin N.L. The rhesus monkey (*Macaca mulatta*): A unique and valuable model for the study of spontaneous diabetes mellitus and associated conditions. In: Sima A.F., Shafir E., editors. *Animal models in diabetes: A primer*. Singapore: Taylor & Francis, Inc., 2000:309–325.
 33. Kahn S.E., Prigeon R.L., Schwartz R.S., Fujimoto W.Y., Knopp R.H., Brunzell J.D. et al. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and islet β -cell function as explanations for metabolic diversity. *J. Nutr.* 2001;131(2):354S–360S. DOI: 10.1093/jn/131.2.354S.
 34. Cefalu W.T., Wagner J.D., Bell-Farrow A.D. Role of glycated proteins in detecting and monitoring diabetes in cynomolgus monkeys. *Lab. Anim. Sci.* 1993;43(1):73–77.
 35. Hansen B.C. Investigation and treatment of type 2 diabetes in nonhuman primates. In: Joost H.G., Al-Hasani H., Schürmann A., editors. *Animal models in diabetes research*. Totowa, NJ: Humana Press; 2012:177–185. DOI: 10.1007/978-1-62703-068-7_11.
 36. Cann J.A., Kavanagh K., Jorgensen M.J., Mohanan S., Howard T.D., Gray S.B. et al. Clinicopathologic characterization of naturally occurring diabetes mellitus in vervet monkeys. *Vet. Pathol.* 2010;47(4):713–718. DOI: 10.1177/0300985810370011.
 37. Zhang X., Zhang R., Raab S., Zheng W., Wang J., Liu N. et al. Rhesus macaques develop metabolic syndrome with reversible vascular dysfunction responsive to pioglitazone. *Circulation*. 2011;124(1):77–86. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.990333.
 38. Mitchell A.Z., McMahon C., Beck T.W., Sarazan R.D. Sensitivity of two noninvasive blood pressure measurement techniques compared to telemetry in cynomolgus monkeys and beagle dogs. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2010;62(1):54–63. DOI: 10.1016/j.vascn.2010.04.005.
 39. Vemuri R., Ruggiero A., Whitfield J.M., Dugan G.O., Cline J.M., Block M.R. et al. Hypertension promotes microbial translocation and dysbiotic shifts in the fecal microbiome of nonhuman primates. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2022;322(3):H474–485. DOI: 10.1152/ajpheart.00530.2021.
 40. McGill H.C., Carey K.D., McMahon C.A., Martinez Y.N., Cooper T.E., Mott G.E. et al. Effects of two forms of hypertension on atherosclerosis in the hyperlipidemic baboon. *Arteriosclerosis*. 1985;5(5):481–493. DOI: 10.1161/01.ATV.5.5.481.
 41. Danaei G., Lawes C.M.M., Vander Hoorn S., Murray C.J.L., Ezzati M. Global and regional mortality from ischaemic heart disease and stroke attributable to higher-than-optimum blood glucose concentration: comparative risk assessment. *Lancet*. 2006;368(9548):1651–1659. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)69700-6.
 42. Simmons H.A. Age-associated pathology in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Vet. Pathol.* 2016;53(2):399–416. DOI: 10.1177/0300985815620628.
 43. Cusumano A.M., Bodkin N.L., Hansen B.C., Iotti R., Owens J., Klotman P.E. et al. Glomerular hypertrophy is associated with hyperinsulinemia and precedes overt diabetes in aging rhesus monkeys. *Am. J. Kidney Dis.* 2002;40(5):1075–1085. DOI: 10.1053/ajkd.2002.36348.
 44. Wikstrom J., Liu Y., Whatling C., Gan L.M., Konings P., Mao B. et al. Diastolic dysfunction and impaired cardiac output reserve in dysmetabolic nonhuman primate with proteinuria. *J. Diabetes Complications*. 2021;35(4):107881. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2021.107881.
 45. Franco O.H., Massaro J.M., Civil J., Cobain M.R., O'Malley B., D'Agostino R.B. Trajectories of entering the metabolic syndrome: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2009;120(20):1943–1950. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.855817.
 46. Saisho Y., Butler A.E., Manesso E., Galasso R., Zhang L., Gurlo T. et al. Relationship between fractional pancreatic beta cell area and fasting plasma glucose concentration in monkeys. *Diabetologia*. 2010;53(1):111–114. DOI: 10.1007/s00125-009-1552-z.
 47. Wagner J.D., Cline J.M., Shadoan M.K., Bullock B.C., Rankin S.E., Cefalu W.T. Naturally occurring and experimental diabetes in cynomolgus monkeys: a comparison of carbohydrate and lipid metabolism and islet pathology. *Toxicol. Pathol.* 2001;29(1):142–148. DOI: 10.1080/019262301301418955.
 48. Lau D.C.W., Dhillon B., Yan H., Szmitko P.E., Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005;288(5):H2031–H2041. DOI: 10.1152/ajpheart.01058.2004.
 49. Ruggiero A.D., Vemuri R., DeStephanis D., Brock A., Block M.R., Chou J. et al. Visceral adipose microbial and inflammatory signatures in metabolically healthy and unhealthy nonhuman primates. *Obesity (Silver Spring)*. 2023;31(10):2543–2556. DOI: 10.1002/oby.23870.
 50. Comuzzie A.G., Cole S.A., Martin L., Carey K.D., Mahaney M.C., Blangero J. et al. The baboon as a nonhuman primate model for the study of the genetics of obesity. *Obes. Res.* 2003;11(1):75–80. DOI: 10.1038/oby.2003.12.
 51. Cai G., Cole S.A., Tejero M.E., Proffitt J.M., Freeland-Graves J.H., Blangero J. et al. , Comuzzie A.G. Pleiotropic effects of genes for insulin resistance on adiposity in baboons. *Obes. Res.* 2004;12(11):1766–1772. DOI: 10.1038/oby.2004.219.
 52. Kemnitz J.W. Calorie restriction and aging in nonhuman primates. *ILAR J.* 2011;52(1):66–77.
 53. Power M.L., Toddes B., Koutsos L. Nutrient requirements and dietary husbandry principles for captive nonhuman primates. In: *Nonhuman primates in biomedical research*. Elsevier; 2012:269–286. DOI: 10.1016/B978-0-12-381365-7.00010-8.
 54. Willson T.M., Brown P.J., Sternbach D.D., Henke B.R. The PPARs: From orphan receptors to drug discovery. *J. Med. Chem.* 2000;43(4):527–550. DOI: 10.1021/jm990554g.

Вклад авторов

Орлов С.В., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., Панченко А.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Панченко А.В., Колесник Ю.А. – составление черновика рукописи. Все авторы осуществляли критический пересмотр, внесение замечаний и утвердили окончательный вариант рукописи для публикации.

Информация об авторах

Орлов Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, член.-корр. РАН, СПбГУ; науч. руководитель, Курчатовский комплекс медицинской приматологии, НИЦ «Курчатовский институт», г. Сочи, Orloff-sv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6080-8042>

Успенский Юрий Павлович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии им. профессора В.А. Вальдмана, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург, uspenskiy65@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6434-1267>

Фоминых Юлия Александровна – д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской терапии им. профессора В.А. Вальдмана, СПбГПМУ; зам. декана по учебной и методической работе, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, jaf@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2436-3813>.

Колесник Юлия Анатольевна – науч. сотрудник, СПбГУ; лаборатория патологической анатомии, Курчатовский комплекс медицинской приматологии, НИЦ «Курчатовский институт», г. Сочи, j.kolesnick2010@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9440-5145>

Панченко Андрей Владимирович – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной биологии, Курчатовский комплекс медицинской приматологии, НИЦ «Курчатовский институт», г. Сочи, ando_pan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5346-7646>

(✉) **Панченко Андрей Владимирович**, ando_pan@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2023;
одобрена после рецензирования 20.10.2023;
принята к публикации 02.11.2023

УДК 616-006-071.1:543.51

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-162-182>

Прецизионная медицина в онкологии: роль и перспективы масс-спектрометрии

**Хмелевская Е.С.¹, Перина Е.А.¹, Буйко Е.Е.¹, Уфандеев А.А.¹, Кайдаш О.А.¹,
Иванов В.В.¹, Байков А.Н.¹, Парочкина Е.В.², Удуд Е.В.¹**

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

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)
Россия, 117303, г. Москва, ул. Керченская, 1А/1

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – анализ накопленных данных о применении методов масс-спектрометрии в диагностике, лечении и прогнозировании течения онкологических заболеваний с позиций прецизионной медицины.

На сегодняшний день не существует общепризнанных методов ранней диагностики рака, так как патологические изменения на начальных стадиях развития обладают низкой молекулярной специфичностью, а существующие методы известны своей ограниченной чувствительностью. Однако именно возможность как можно более ранней диагностики является важным, если не определяющим, фактором адекватного выбора стратегии терапии онкологических заболеваний и ее успешного применения.

В этом контексте высокотехнологические подходы к профилированию молекулярного ландшафта тканей, использующие в своей основе метод масс-спектрометрии, имеют большой потенциал к развитию и применению в области онкологии. Современная масс-спектрометрия становится незаменимым инструментом в проведении фундаментальных и прикладных исследований за счет своей чувствительности, специфичности и точности, обеспечивающим эффективный анализ сложных биологических соединений даже в незначительных концентрациях. Важным свойством современных масс-спектрометрических технологий является возможность автоматизации аналитического процесса, что открывает перспективы широкого внедрения в клиническую практику на этапах постановки диагноза, выбора стратегии лекарственной терапии и даже сопровождения работы хирурга-онколога в операционной.

С учетом всех приведенных выше характеристик и преимуществ масс-спектрометрические методы анализа биологических образцов можно определить как один из наиболее перспективных и динамически развивающихся инструментов прецизионной медицины вследствие их способности на базе омиксных технологий предоставить клинически ценную информацию с учетом персональных особенностей пациента.

В ближайшее десятилетие можно ожидать, что внедрение методов, основанных на технологии масс-спектрометрии, в клиническую практику, стоящую на принципах прецизионной медицины, приведет к оптимизации процесса определения индивидуальных стратегий лечения онкологических больных и принесет значительный экономический эффект за счет снижения заболеваемости, инвалидности и смертности.

В настоящей обзорной статье представлен анализ 65 научных публикаций, посвященных результатам клинических и экспериментальных исследований, в которых методы масс-спектрометрического анализа применялись для диагностики онкологических заболеваний, выяснения механизмов их развития и оценки эффективности терапевтических воздействий. Обзор включает оригинальные статьи, опубликованные в период с 1 января 2018 г. по 30 ноября 2023 г.

Большинство исследований подтверждают, что масс-спектрометрия является перспективным инструментом в онкологической диагностике и мониторинге эффективности лечения. Расширение использования методов масс-спектрометрии в онкологии имеет большой потенциал и является актуальной задачей для дальнейших исследований.

✉ Перина Екатерина Александровна, catherineperina@gmail.com

Ключевые слова: масс-спектрометрическое исследование, масс-спектрометрия, молекулярное профилирование, рак, опухолевой процесс, канцерогенез, низкомолекулярные метаболиты

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта «Новые подходы валидации результатов молекулярного профилирования патологических изменений тканей на основе данных молекулярного профилирования, полученных при исследовании биопсии и аутопсии» № 23-69-10035.

Для цитирования: Хмелевская Е.С., Пери́на Е.А., Буйко Е.Е., Уфандеев А.А., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Байков А.Н., Парочкина Е.В., Удут Е.В. Прецизионная медицина в онкологии: роль и перспективы масс-спектрометрии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):162–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-162-182>.

Precision medicine in oncology: role and prospects of mass spectrometry

Khmelevskaya E.S.¹, Perina E.A.¹, Buyko E.E.¹, Ufandeev A.A.¹, Kaidash O.A.¹,
Ivanov V.V.¹, Baikov A.N.¹, Parochkina E.V.², Udut E.V.¹

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

² Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University)
1A/1, Kerchenskaya Str., Moscow, 117303, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this review was to analyze the accumulated data on the use of mass spectrometry in diagnosing, treating, and prognosing cancer from the perspective of precision medicine.

Currently, universally accepted methods for early cancer diagnosis are not available, primarily due to low molecular specificity of pathological changes at early stages of cancer development. Additionally, the existing diagnostic modalities are notably limited in sensitivity. However, early detection is imperative for selection of the most suitable cancer treatment strategy and its successful implementation.

In the realm of oncology, mass spectrometry approaches show great potential for advancement and utilization. Mass spectrometry is becoming an indispensable tool in basic and applied research due to its sensitivity, specificity, and accuracy. It allows for efficient analysis of complex biological compounds, even at low concentrations. Moreover, contemporary mass spectrometry technology is capable of automating the analysis, thereby facilitating its diverse clinical applications in diagnosis, drug therapy selection, and even potential assistance to surgical oncologists in the operating room.

Considering all these characteristics and advantages, mass spectrometry methods for the analysis of biological samples can be defined as some of the most promising and dynamically developing tools in precision medicine, as they are capable of providing clinically valuable information based on omics technologies, taking into account personal characteristics of the patient.

Over the next decade, introduction of mass spectrometry-based methods into clinical practice based on the principles of precision medicine is expected to optimize selection of personalized treatment strategies for cancer patients and provide significant economic benefits by reducing morbidity, disability, and mortality.

This comprehensive review presents the analysis of 65 scientific publications, highlighting the results of clinical and experimental studies utilizing mass spectrometry methods for diagnosing cancer, investigating the underlying mechanisms of disease development, and evaluating the efficacy of therapeutic interventions. The review encompasses original articles published from January 1, 2018 to November 30, 2023.

The majority of studies back the potential of mass spectrometry as a valuable tool for cancer diagnosis and treatment monitoring. Broadening application of mass spectrometry techniques in the field of oncology holds significant promise and represents a relevant area for future research.

Keywords: mass spectrometric study, mass spectrometry, molecular profiling, cancer, tumor process, carcinogenesis, low-molecular-weight metabolites

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation as part of the research project No. 23-69-10035 "New approaches to validating the results of molecular profiling of tissue pathological changes based on molecular profiling data obtained during biopsy and autopsy studies".

For citation: Khmelevskaya E.S., Perina E.A., Buyko E.E., Ufandeev A.A., Kaidash O.A., Ivanov V.V., Baikov A.N., Parochkina E.V., Udut E.V. Precision medicine in oncology: role and prospects of mass spectrometry. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):162–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-162-182>.

ВВЕДЕНИЕ

Данные Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) о смертности до 2023 г. указывают, что рак является одной из ведущих причин смерти в мире. Так, в 2020 г. рак стал причиной смерти почти 10 млн людей. Это означает, что каждый шестой человек скончался от онкологических заболеваний. Наиболее распространенными причинами смерти от онкологических заболеваний в 2020 г. были рак легких, рак толстой и прямой кишки, рак печени, рак желудка и рак молочной железы [1]. В странах, где системы здравоохранения достаточно эффективны, коэффициент выживаемости заболевших многими формами рака растет благодаря общедоступности ранней диагностики, качественному лечению и уходу за больными раком [2]. Ежегодно в мире ставится около 10 млн новых диагнозов рака, что составляет около 30% населения планеты [3].

Поскольку ранняя диагностика улучшает прогноз течения заболевания, открытие чувствительных биомаркеров, связанных с канцерогенезом, с помощью прецизионной медицины стало приоритетом в исследованиях рака. Использование чувствительных методов и внедрение специфичных биомаркеров в клиническую практику для лечения онкологических заболеваний позволяют проводить раннюю терапию для улучшения выживаемости и сохранения качества жизни пациентов.

Инновационный подход в здравоохранении заключается в том, чтобы понять уникальные характеристики каждого пациента и применить эту информацию для диагностики, профилактики и лечения. Прецизионная медицина позволяет более точно определить риск развития заболеваний, выбрать наиболее эффективные методы диагностики и предоставить индивидуализированные рекомендации по лечению. Прецизионная медицина имеет потенциал значительно улучшить результаты лечения, уменьшить нежелательные побочные эффекты и оп-

тимизировать затраты на здравоохранение. Однако ее широкое внедрение требует совместных усилий в области научных исследований, разработки новых технологий и этических вопросов, связанных с использованием персональных данных пациентов.

Концепция прецизионной медицины направлена на эффективную диагностику, а также назначение лекарств с учетом генотипа. Метаболомика позволяет объединить фенотипические особенности и генотип конкретного человека. Технологии исследования молекулярного ландшафта с применением хромато-масс-спектрометрии используются для поиска молекулярных маркеров, которые могут быть связаны с развитием опухолей и их ростом, что позволяет проводить дифференциальную диагностику и верификацию опухолевых заболеваний, прогнозировать эффективность предлагаемых терапевтических стратегий и контролировать выбранное лечение.

Онкогенез сопровождается глобальными изменениями метаболического состояния, затрагивающими как опухолевые ткани, так микроокружение и макроокружение [1]. Достижения в области метаболомики позволяют измерять широкий спектр клеточных метаболитов, обеспечивая подход к выявлению специфических изменений, связанных с опухолевым перерождением клеток. По сравнению с геномными и протеомными изменениями, метаболические изменения можно наблюдать непосредственно в отношении состояний опухолевых клеток, следовательно, они являются многообещающим источником биомаркеров для выявления онкологических процессов.

Различия метаболомной экспрессии могут быть использованы для мониторинга прогрессирования заболевания и поиска перспективных терапевтических подходов. Эмпирическое переключение между препаратами в поисках желаемого с удовлетворительным терапевтическим ответом и наименьшим профилем токсичности не является идеальной клинической практикой. Таким образом, поиск биомаркеров, позволяющих понять патофизиологию

заболевания, должен помочь в персонализации диагностики и стратификации лечения. Кроме того, метаболомика на основе масс-спектрометрии обладает высоким потенциалом для обнаружения молекулярных следов заболеваний человека, и в идеале обнаруженные биомаркеры могут быть валидированы для использования в рутинной клинической практике. Ценность использования высокопроизводительных технологий, таких как метаболомика, заключается в возможности разработки прогностических панелей биомаркеров, которые могут быть использованы для выявления пациентов, которые с меньшей вероятностью получают пользу от терапии, поскольку подвержены риску развития неблагоприятных осложнений.

Анализ метаболитов с помощью масс-спектрометрии (МС) позволяет получить представление о молекулярных событиях, происходящих в раковой опухоли пациента и в нормальных тканях. Метаболическое перепрограммирование считается отличительным признаком рака, который способствует прогрессированию заболевания [4]. Дифференциальные метаболические потребности быстро пролиферирующих злокачественных клеток по сравнению с нетрансформированными аналогами позволяют предположить, что нацеливание на метаболизм может быть потенциальной стратегией для разработки новых методов лечения рака [4]. Ключевым шагом в разработке новых терапевтических подходов, использующих метаболические уязвимости, является выявление метаболических изменений, которые имеют отношение к конкретному злокачественному новообразованию.

Изменения в метаболитах при онкогенезе и стандартизация анализа данных показали, что масс-спектрометрия может стать эффективным инструментом для применения в эпидемиологии и трансляционных исследованиях рака.

Цель исследования – анализ накопленных клинических данных о применении масс-спектрометрии для диагностики и прогнозирования течения онкологических заболеваний с позиций прецизионной медицины.

МЕТОДОЛОГИЯ

Проведен анализ научных публикаций клинических и экспериментальных исследований в электронно-поисковой системе PubMed. В обзоре представлены оригинальные статьи, опубликованные с 1 января 2018 г. по 30 ноября 2023 г.

Текст поискового запроса для поиска англоязычных публикаций включал слова: mass spectrometry and (((cancer) or (tumors)) and (molecular profiling)). Иден-

тифицировано 1 995 публикаций на английском языке. На первом этапе отбирались статьи, в названии которых упоминались методы масс-спектрометрии в онкологии, при этом исключались публикации обзорного типа и дублирующие информацию. На втором этапе проведен анализ рефератов публикаций и исключены работы, в которых исследования выполнены на клеточных культурах или животных моделях. На третьем этапе отобраны статьи с доступом к полному тексту, в результате проведен детальный анализ 65 публикаций, содержащих данные об оригинальных современных исследованиях в области онкогенеза и молекулярного профилирования. Описание исследования (тип биологического материала, методологический подход, характеристика исследования) отражены в таблице.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенного анализа можно отметить значительное распространение методов молекулярного профилирования в клинической практике. Исследования, проведенные в данной области, касаются различных видов онкологических заболеваний, таких как колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома желудка, рак простаты, рак молочной железы и др.

Результаты проведенного анализа литературы свидетельствуют о значительном вкладе методов молекулярного профилирования в изучение онкологических заболеваний и их клиническое применение. В обсуждении мы рассмотрели несколько наиболее интересных статей из списка, посвященного применению методов масс-спектрометрии в онкологии. Отобранные нами статьи являются лишь частью обширной работы исследователей в этой области и представляют собой важный вклад в развитие онкологической науки и практической медицины.

Использование масс-спектрометрии для идентификации биомаркеров онкогенеза

В процессе онкогенеза происходят обширные изменения в метаболическом состоянии, которые затрагивают не только опухолевые ткани, но и их микро- и макроокружение. Прогресс в области метаболомики позволяет измерять широкий спектр метаболитов, что дает возможность выявлять специфические метаболические изменения, связанные с опухолевыми процессами.

Онкологические заболевания – мультифакторные заболевания, для понимания основ которых требуется не только анализ генетической предрасположенности, но и учет фенотипических особенностей организма.

Данные об оригинальных современных исследованиях в области онкогенеза и молекулярного профилирования					Таблица
Название статьи	Авторы	Год, страна	Методологический подход	№	
Metabolic biomarker signature to differentiate pancreatic ductal adenocarcinoma from chronic pancreatitis	Mayerle J., Kalthoff H., Reszka R. et al.	2018, Германия	Методами газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии в сыворотке и плазме крови выявлены биомаркеры для дифференциальной диагностики аденокарциномы поджелудочной железы и хронического панкреатита	[5]	
Discrimination of papillary thyroid cancer from non-cancerous thyroid tissue based on lipid profiling by mass spectrometry imaging	Wojakowska A., Cole L.M., Chekan M. et al.	2018, Польша	С использованием масс-спектрометрической визуализации методом MALDI-Q-Ion Mobility-TOF-MS высокого разрешения разработан способ дифференциальной диагностики папиллярной карциномы щитовидной железы по липидному профилю гистологических образцов, фиксированных в формалине	[6]	
Identification of potential biomarkers and metabolic profiling of serum in ovarian cancer patients using UPLC/Q-TOF MS	Yang W., Mu T., Jiang J. et al.	2018, Китай	Методом ультраэффективной жидкостной хроматографии и квадрупольной масс-спектрометрии с положительной ионизацией электрораспылением в сыворотке крови выявлены биомаркеры рака яичников, которые могут быть использованы для диагностики заболевания	[7]	
A quantitative multimodal metabolomic assay for colorectal cancer	Farshidfar F., Koprčuk K.A., Hilsden R. et al.	2018, Канада	С использованием мультимодального подхода методом газовой хромато-масс-спектрометрии в сыворотке крови выявлен метаболомный профиль, отличающий колоректальный рак от контрольной группы, включающий 48 метаболитов	[8]	
Molecular profiling of lung cancer specimens and liquid biopsies using MALDI-TOF mass spectrometry	Bonaparte E., Pesenti C., Fontana L. et al.	2018, Италия	С использованием масс-спектрометрии, позволяющей проводить мультиплексное генотипирование, предложена панель, способная выявлять наиболее распространенные мутации немелкоклеточного рака легкого	[9]	
Comparing intestinal versus diffuse gastric cancer using a PEFF-oriented proteomic pipeline	Wippel H.N., Santos M.D.M., Clasen M.A. et al.	2018, Бразилия	Разработан способ дифференциальной диагностики диффузного и интестинального рака желудка, основанный на сравнении протеомных профилей, полученных изобарным мечением пептидов, 10-ступенчатым фракционированием и обращенно-фазовой нанохроматографией в сочетании с масс-спектрометрией	[10]	
Metabolomic prediction of treatment outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma patients receiving gemcitabine	Phua L.C., Goh S., Tai D.W.M. et al.	2018, Сингапур	С применением газовой хроматографии/времяпролетной масс-спектрометрии (GC/TOFMS) для метаболомного профилирования гистологических образцов предложены метаболитические биомаркеры, предсказывающие резистентность к гемцитабину при химиотерапии протоковой аденокарциномы поджелудочной железы	[11]	
Proteomic characterization of prostate cancer to distinguish nonmetastasizing and metastasizing primary tumors and lymph node metastases	Müller A.K., Föll M., Heckelmann B. et al.	2018, Германия	Методом жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией и последующим количественным определением выявлена протеомная сигнатура первичного рака предстательной железы, при которой происходит метастазирование в лимфоузлы	[12]	
Designation of fingerprint glycopeptides for targeted glycoproteomic analysis of serum haptoglobin: insights into gastric cancer biomarker discovery	Lee J., Hua S., Lee S.H. et al.	2018, Корея	Методом масс-спектрометрии в сыворотке крови выявлены биомаркеры рака желудка (гликопептиды). Создана аналитическая платформа с целевым гликопротеомическим подходом для обнаружения в сыворотке крови биомаркеров рака желудка, включающая три гликопептида, которые могут быть использованы для диагностики заболевания	[13]	
Expression of small leucine-rich extracellular matrix proteoglycans biglycan and lumican reveals oral lichen planus malignant potential	Lončar-Brzak B., Klobučar M., Velićki-Dalić I. et al.	2018, Хорватия	Методом глобального белкового профилирования на основе жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией разработан способ дифференциальной диагностики лишеноидной болезни и плоскоклеточной карциномы полости рта. Малые лейцин-богатые протеогликаны битликан и люмикан были определены как важные биомаркеры плоскоклеточной карциномы полости рта	[14]	
Differential diagnosis between hepatocellular carcinoma and cirrhosis by serum amino acids and acylcarnitines	Zhang Y., Ding N., Cao Y. et al.	2018, Китай	Предложена методика дифференциальной диагностики гепатокарциномы и цирроза печени на основе определения профиля аминокислот и ацилкарнитинов	[15]	

				методом масс-спектрометрии образцов цельной крови, высушенных на фильтровальной бумаге	
Clinical Significance of Extracellular Vesicles in Plasma from Glioblastoma Patients	Osti D., Del Bene M., Rappa G. et al.	2019, США, Италия		Повышение уровня внеклеточных везикул в плазме крови может помочь в клинической диагностике глиобластомы. Их снижение после резекции, повышение при рецидиве, а также их протеомное профилирование с помощью масс-спектрометрии дают представление об молекулярном профиле опухоли и могут служить прогностическим критерием ответа на терапию	[16]
Breast cancer detection using targeted plasma metabolomics	Jasbi P., Wang D., Cheng S.L. et al.	2019, США, Китай		С помощью жидкостной хромато-масс-спектрометрии создана новая панель, содержащая шесть метаболитов потенциальных биомаркеров для диагностики рака молочной железы	[17]
The decrease of some serum free amino acids can predict breast cancer diagnosis and progression	Eniu D.T., Romaniciu F., Moraru C. et al.	2019, Румыния		Методом сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией показано значительное снижение концентрации аргинина, аланина, изолейцина, тирозина и триптофана в сыворотке крови пациентов с подтвержденным раком молочной железы	[18]
Glycerophospholipids pathways and chromosomal instability in gastric cancer: Global lipidomics analysis	Hung C.Y., Yeh T.S., Tsai C.K. et al.	2019, Тайвань		С помощью жидкостной хромато-масс-спектрометрии установлено, что хромосомная нестабильность рака желудка ассоциирована с изменением липидного профиля опухолей в сторону увеличения глицерофосфолипидов и глицерофосфолипидов	[19]
Metabolomics-based biosignatures of prostate cancer in patients following radiotherapy	Nalbantoglu S., Abu-Asab M., Suy S. et al.	2019, США, Турция		Радиационная метаболомика была применена для поиска метаболомных биомаркеров рака предстательной железы и ответа опухоли на лучевую терапию. В метаболоме сыворотки крови пациентов, прошедших лучевую терапию, было выявлено преобладание абераций в метаболитических путях азота, пиримидинов, пуринов, порфиринов, и глицерофосфолипидов	[20]
Proteomics of melanoma response to immunotherapy reveals mitochondrial dependence	Harel M., Ortenberg R., Varanasi S.K. et al.	2019, США, Израиль		Протеомный анализ образцов меланомы с использованием жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения выявил связь между метаболитическим состоянием меланомы и ответом на иммунотерапию, что может стать основой для коррекции терапии	[21]
Reliable identification of prostate cancer using mass spectrometry metabolomic imaging in needle core biopsies	Morse N., Jamaspishvili T., Simon D. et al.	2019, Канада		Разработан многомерный метаболомный классификатор рака простаты с потенциалом для клинического применения	[22]
Proteomic signatures of 16 major types of human cancer reveal universal and cancer-type-specific proteins for the identification of potential therapeutic targets	Zhou Y., Lih T. M., Pan J. et al.	2020, США		Методом жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией представлен протеомный ландшафт 16 основных типов рака, а также выявлены универсально экспрессируемые белки, специфичные для конкретной ткани и вида рака	[23]
Untargeted metabolomics and polyamine profiling in serum before and after surgery in colorectal cancer patients	Lee Y. R., An K. Y., Jeon J. et al.	2020, Корея		Методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии сыворотки крови у пациентов с колоректальным раком до и после операции выявлены различия в метаболитах сфинголипидов, аргинина, пролина и биосинтеза стероидов	[24]
Metabolic alterations related to glioma grading based on metabolomics and lipidomics analyses	Yu D., Xuan Q., Zhang C. et al.	2020, Китай		Методом хромато-масс-спектрометрии изучены дифференциальные метаболиты между глиомами различных типов и параопуховыми тканями. Было выявлено, что в глиомах высокой степени злокачественности содержание короткоцепочечных ацилкарнитининов повышено, ализосафатидилэтаноламинов снижено	[25]
Stromal vapors for real-time molecular guidance of breast-conserving surgery	Vaysses P.M., Kooreman L.F., Engelen S.M. et al.	2020, Нидерланды		С использованием масс-спектрометрии с быстрой испарительной ионизацией разработан интраоперационный диагностический метод экспресс-анализа границы опухоли рака молочной железы и здоровой ткани по анализу <i>in vivo</i> и в режиме реального времени на основе электрохимических паров метаболомного профиля	[26]

Продолжение табл.

Название	Авторы	Год, страна	Методологический подход	№
Histo-molecular differentiation of renal cancer subtypes by mass spectrometry imaging and rapid proteome profiling of formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissue sections	Möginger U., Marcusen N., Jensen O.N. et al.	2020, Дания	Сочетание технологии визуализации MALDI-MS (MSI) и быстрой микропротеомики на основе LC-MS/MS (15 мин/образец) для анализа срезов тканей позволяет выявить молекулярные особенности и правильно классифицировать 100% пациентов с онкологической почки прозрачно-клеточной карциномы и хромобластной почечно-клеточной карциномы	[27]
Ion mobility mass spectrometry of human melanoma gangliosides	Sarbu M., Clemmer D.E., Zamfir A.D. et al.	2020, Румыния	Сочетание масс-спектрометрии с разделением ионной подвижности выявило высокую частоту встречаемости ганглиозидов GD3 и GM3 а также де-N-ацетил GM3 (d-GM3) и де-N-ацетил GD3 (d-GD3) при их профилировании в меланоме человека, что дополняет существующий перечень биомаркеров, ассоциированных с этим видом рака	[28]
Identification of plasma lipid species as promising diagnostic markers for prostate cancer	Chen X., Zhu Y., Jijiwa M. et al.	2020, Китай, США	Профилирование липидов плазмы крови с помощью жидкостной хроматографии, тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением выявило панель потенциальных биомаркеров из пяти липидов для выявления отличия рака простаты от доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Комбинация липидных биомаркеров обеспечивает новую диагностическую стратегию для пациентов с раком простаты	[29]
Serum lipidomic biomarkers for non-small cell lung cancer in nonsmoking female patients	Noreldeen H.A., Du L., Li W. et al.	2020, Египет, Китай	Нецелевое липидное профилирование сыворотки крови, основанное на сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрией, показало изменения в липидном профиле у женщин с немелкоклеточным раком легких. Уровень ненасыщенных жирных кислот снижались, а насыщенных жирных кислот и лизофосфатидилэтаноламинов увеличивались, что свидетельствует об изменениях метаболизма жирных кислот и фосфатидилэтаноламинов. Разработанный сывороточный комбинационный липидный биомаркер возможно применять для ранней диагностики немелкоклеточного рака легких	[30]
A serum lipidomic strategy revealed potential lipid biomarkers for early-stage cervical cancer	Cheng F., Wen Z., Feng X. et al.	2020, Китай	Методом жидкостной хроматографии сверхвысокого давления с квадрупольной времяпролетной тандемной масс-спектрометрией была разработана панель липидных биомаркеров, включающая фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин, для эффективной диагностики рака шейки матки и плоскоклеточных интраэпителиальных поражений.	[31]
Liquid chromatography-mass spectrometry-based tissue metabolic profiling reveals major metabolic pathway alterations and potential biomarkers of lung cancer	You L., Fan Y., Liu X. et al.	2020, Китай	Нецелевой метаболомический анализ на основе жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии ткани карциномы легкого и дистальных отделов здоровой ткани легкого позволили выявить увеличение лизофосфолипидов и снижение содержания 3-фосфоглицериновой кислоты, фосфоенолпирувата, 6-фосфоглюконата и цитрата в опухолевой ткани. При этом показано, что при канцерогенезе нарушается энергетический, пуриновый, аминокислотный, липидный и глютаминоновый обмен	[32]
Classification of thyroid tumors based on mass spectrometry imaging of tissue microarrays; a single-pixel approach	Kurczyk A., Gawin M., Chekan M. et al.	2020, Польша	Метод матричной лазерной десорбционной ионизации в анализе тканевых микроочков позволил выявить высокое молекулярное сходство между различными типами злокачественных новообразований щитовидной железы. Особенно близки по молекулярной структуре оказались опухоли с фолликулярной морфологией, такие как аденома, фолликулярный рак и фолликулярный вариант папиллярного рака	[33]
Study on the diagnosis of gastric cancer by magnetic beads extraction and mass spectrometry	Zhu N., Xing X., Cao L. et al.	2020, Китай	Методом времяпролетной масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбционной/ионизацией было обнаружено, что экспрессия двух пептидных пиков с моле-	[34]

			кулярной массой 2863 Да и 2953 Да была значительно увеличена, а экспрессия двух пептидных пиков с молекулярной массой 1945 Да и 2082 Да снижена в сыворотке у пациентов с раком желудка			
Rapid estimation of tumor cell percentage in brain tissue biopsy samples using inline cartridge extraction mass spectrometry	Pekov S.I., Bormotov D.S., Nikitin P.V. et al.	2021, Россия	Было проведено исследование 58 глиальных опухолей для оценки процента опухолевых клеток с использованием метода масс-спектрометрии, показавшее возможность автоматизации рутинного скрининга тканей и внедрение его в клиническую практику при проведении оперативных вмешательств	[35]		
Large-scale and high-resolution mass spectrometry-based proteomics profiling defines molecular subtypes of esophageal cancer for therapeutic targeting	Liu W., Xie L., He Y.H. et al.	2021, Китай	В исследовании проведен протеомный анализ 124 парных опухолей рака пищевода и соответствующих прилегающих неопухолевых тканей, позволивший идентифицировать два подтипа рака пищевода, которые связаны с выживаемостью пациентов и для одного из молекулярных подтипов спланированы потенциальные лекарственные средства	[36]		
Early breast cancer detection using untargeted and targeted metabolomics	Wei Y., Jasbi P., Shi X. et al.	2021, США	В текущем исследовании образцы плазмы пациентов с раком молочной железы и здоровых людей были проанализированы методами нецелевой жидкостной хроматографии и квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрии, что позволило выявить 33 измененных метаболита, обеспечивающие точную классификацию рака молочной железы на ранней стадии	[37]		
The colorectal cancer lipidome: identification of a robust tumor-specific lipid species signature	Ecker J., Benedetti E., Kindt A.S. et al.	2021, Германия	С использованием методов прямой инфузионной ионизации электрораспылением в сочетании с тандемной масс-спектрометрией и масс-спектрометрией высокого разрешения были обнаружены существенные различия в липидном составе между опухолевой и нормальной тканью при колоректальном раке. Глицерофосфолипиды показали широкий диапазон вариаций между пациентами, в то время как количественный состав глицеро- и сфинголипидов был более стабильным. Также было выявлено значительное увеличение активности липогенных ферментов и связь метаболического профиля триглицеридов с послеоперационной безрецидивной выживаемостью и лимфоваскулярной инвазией при колоректальном раке	[38]		
Proteomic profiling identifies signatures associated with progression of precancerous gastric lesions and risk of early gastric cancer	Li X., Zheng N.R., Wang L.H. et al.	2021, Китай	Методом жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии сыворотки крови был определен протеомный ландшафт предраковых поражений желудка и рака желудка, а также протеомные характеристики, включая протеомные подтипы и отдельные белки, связанные с прогрессированием предраковых поражений желудка и риском раннего развития этого заболевания	[39]		
Proteomic profiling of soft tissue sarcomas with SWATH mass spectrometry	Milighetti M., Krasny L., Lee A.T. et al.	2021, Великобритания	Методы масс-спектрометрии были применены для комплексного протеомного анализа различных подтипов саркомы мягких тканей для определения уникальных протеомных сигнатур, идентификации биологических процессов и кластерных белковых сетей внутри гистологических подтипов опухолей, а также для определения потенциальных белков-кандидатов, связанных с прогнозированием результатов лечения пациентов	[40]		
Mass-spectrometry-based proteomic correlates of grade and stage reveal pathways and kinases associated with aggressive human cancers	Monsivais D., Vasquez Y.M., Chen F. et al.	2021, США	Методом масс-спектрометрии были определены дифференциальные закономерности экспрессии белков, связанные со степенью или стадией развития семи типов рака: инвазивной карциномы молочной железы, аденокарциномы толстой кишки, аденокарциномы легких, светлоклеточной почечно-клеточной карциномы, серозной опухоли яичников, карциномы тела матки и детской глиомы. В исследовании показано, что каждый тип рака имеет протеомную подпись, которая отличалась от таковых у других типов рака. Дифференциально экспрессируемые белки и мРНК были определены для поздних сроков развития рака для каждого из семи типов опухолей	[41]		

Продолжение табл.

Название	Авторы	Год, страна	Методологический подход	№
Comprehensive metabolomics and lipidomics profiling of prostate cancer tissue reveals metabolic dysregulations associated with disease development	Lima A.R., Carvalho M., Aveiro S.S. et al.	2021, Португалия	Методы нецелевой масс-спектрометрии и ядерного магнитного резонанса были применены для исследования рака предстательной железы. В результате выявлены значительные изменения уровней 26 метаболитов и 21 вида фосфолипидов в ткани рака предстательной железы, что свидетельствует о дисрегуляции 13 метаболитических путей, связанных с развитием рака	[42]
Interim clinical trial analysis of intraoperative mass spectrometry for breast cancer surgery	Basu S.S., Stopka S.A., Abdelmoula W.M. et al.	2021, США	Метод масс-спектрометрии с ионизацией окружающей среды был использован для быстрого анализа липидного профиля инвазивной карциномы молочной железы с целью его потенциального применения в органосохраняющей хирургии	[43]
Imaging mass spectrometry-based proteomic analysis to differentiate melanocytic nevi and malignant melanoma	Casadonte R., Kriegsmann M., Kriegsmann K. et al.	2021, Германия	С помощью масс-спектрометрии с визуализацией определены различия в протеомном профиле между злокачественными меланомами и меланоцитарными доброкачественными невусами с общей точностью >98%	[44]
Intraoperative mass spectrometry platform for idh mutation status prediction, glioma diagnosis, and estimation of tumor cell infiltration	Brown H.M., Alfaro C.M., Pirro V. et al.	2021, США	Для определения объема оперативного вмешательства и увеличения степени безопасности резекции, оценки инфильтрации опухолевых клеток методом десорбционной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением интраоперационно у пациентов с глиомой был определен статус мутации изоцитратдегидрогеназы	[45]
Metabolomic profiling of blood-derived microvesicles in breast cancer patients	Buentzel J., Klemp H.G., Kraetzner R. et al.	2021, Германия	Методом масс-спектрометрии и целевого метаболомного профилирования микровезикул, полученных из крови, было показано, что комбинация восьми метаболитов позволяет различать пациентов с раком молочной железы и здоровых людей, существуют различия между молекулярными подтипами рака молочной железы, а биомаркеры микровезикул являются прогностическим фактором в отношении общей выживаемости	[46]
Lipidomic signatures for colorectal cancer diagnosis and progression using UPLC-QTOF-ESI+MS	Răchieru C., Eniu D.T., Moiş E. et al.	2021, Румыния	С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии было показано, что несколько подклассов липидов, включая фосфатидиллипиды – фосфатидилэтаноламины и фосфатидные кислоты, жирные кислоты и эфиры стеринлов, а также перамиды, можно рассматривать как специфичные маркеры для развития колоректального рака, зависящего от липогенеза и липолиза	[47]
Global metabolomics profiling of colorectal cancer in Malaysian patients	Hashim N.A.A., Ab-Rahim S., Ngah W.Z.W. et al.	2021, Малайзия	Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – времяпролетной масс-спектрометрии выявлено 11 дифференциальных метаболитов в сыворотке крови, уровни которых значительно отличались у пациентов с колоректальным раком. Использование этой панели позволяет отличить колоректальный рак с точностью 80%	[48]
Lipidomic profiling of clinical prostate cancer reveals targetable alterations in membrane lipid composition	Butler L.M., Mah C.Y., Machiels J. et al.	2021, Австралия	Методом хроматографии с тандемной масс-спектрометрией в опухолях рака простаты были обнаружены и пространственно визуализированы значительные различия в липидном составе по сравнению с доброкачественными образцами. Опухоли характеризовались более высокой долей мононенасыщенных липидов и удлинненными цепочками жирных кислот в липидах фосфатидилинозитола и фосфатидилсерина	[49]
Integrated analysis of the faecal metagenome and serum metabolome reveals the role of gut microbiome-associated metabolites in the detection of colorectal cancer and adenoma	Chen F., Dai X., Zhou C.C. et al.	2022, Китай	Методом масс-спектрометрии в сочетании со сверхэффективной жидкостной хроматографией показано, что перепрограммирование кишечного микробиома у пациентов с колоректальным раком связано с изменениями метаболома сыворотки. Модель на основе панели восьми связанных с микробиомом кишечника метаболитов в сыворотке крови позволяет прогнозировать колоректальный рак и аденомы толстой кишки с точностью 84 и 93% соответственно	[50]

Lipidomic profiling of human serum enables detection of pancreatic cancer	Wolrab D., Jirásko R., Cífková E. et al.	2022, Чехия, Германия, Сингапур и др.	Три фазы исследования биомаркеров при комплексном масс-спектрометрическом определении широкого спектра липидов сыворотки крови выявляет статистически значимые различия длинноцепочечных сфингомиелинов, церамидов и (лизо)фосфатидилихолинов между пациентами с раком поджелудочной железы и здоровыми людьми	[51]
Proteogenomic analysis of lung adenocarcinoma reveals tumor heterogeneity, survival determinants, and therapeutically relevant pathways	Soltis A. R., Bateman N.W., Liu J. et al.	2022, США	Использование технологий молекулярного профилирования при изучении аденокарциномы легких позволило выявить три различных подтипа рака с уникальными характеристиками, такими как уровень экспрессии, мутации, протектомные регуляторные сети и терапевтические уязвимости.	[52]
Profiling of urine carbonyl metabolic fingerprints in bladder cancer based on ambient ionization mass spectrometry	Li Y., Jiang L., Wang, Z. et al.	2022, Китай	Методом профилирования метаболических отпечатков карбонильных соединений при раке мочевого пузыря на основе платформы десорбции, разделения и ионизации масс-спектрометрии с N ₂ /N-диметилэтиллендиаминном было идентифицировано девять потенциальных биомаркеров для ранней неинвазивной диагностики	[53]
N-glycan and glycopeptide serum biomarkers in philippine lung cancer patients identified using liquid chromatography–tandem mass spectrometry	Alvarez M.R.S., Zhou Q., Tena J. et al.	2022, Филиппины	С использованием сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тройной квадрупольной масс-спектрометрией в сыворотке больных раком легких были определены специфически экспрессируемые гликопротеины	[54]
Integrating age, BMI, and serum N-glycans detected by MALDI mass spectrometry to classify suspicious mammogram findings as benign lesions or breast cancer	Blaschke C.R., Hill E.G., Mehta A.S. et al.	2022, США	Методом матрично-ассистированной лазерной десорбции/ионизации были определены сывороточные N-гликаны, имеющие диагностический потенциал для дифференциальной диагностики доброкачественных образований и инвазивного рака молочной железы	[55]
Deep mining and quantification of oxidized cholesterol esters discovers potential biomarkers involved in breast cancer by liquid chromatography-mass spectrometry	Wang X., Li H., Zou X., Yan X. et al.	2022, Китай	Методом квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрии, совмещенной с обращено-фазовой жидкостной хроматографией было определено повышенное содержание окисленного эфира холестерина в образцах сыворотки пациентов с раком молочной железы	[56]
Identification of prediagnostic metabolites associated with prostate cancer risk by untargeted mass spectrometry-based metabolomics	Östman J.R., Pinto R.C., Ebbels T.M. et al.	2022, Швеция, Великобритания	Нечеловеческое профилирование на основе масс-спектрометрии высокого разрешения плазмы крови позволило выявить ряд фосфолипидов и некоторых свободных жирных кислот, положительно связанных с риском развития общего и неагрессивного рака предстательной железы	[57]
MALDI mass spectrometry imaging highlights specific metabolome and lipidome profiles in salivary gland tumor tissues	Sommella E., Salvati E., Caponigro V. et al.	2022, Италия	Метод масс-спектрометрической визуализации с лазерной десорбцией/ионизацией был применен для идентификации липидных и метаболических маркеров новообразований околоушной железы: глицирофосфолипиды, метаболизм глутамата и нуклеотиды были заметно увеличены в опухолевых тканях, в то время как уровень сфингомиелинов и триацилглицеринов снижен	[58]
Coated blade spray-mass spectrometry as a new approach for the rapid characterization of brain tumors	Bogusiewicz J., Gaca-Tabaszewska M., Olszówka D. et al.	2022, Польша, Канада	Методом спрей-масс-спектрометрии лезвия с покрытием в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения был разработан метод дифференциальной диагностики менингиомы и глиомы на основе различий в липидном профиле операционного биоптата	[59]
Metabolomic profile of prostate cancer-specific survival among 1812 Finnish men	Huang J., Zhao B., Weinstein S. J. et al.	2022, Китай, США	Перспективный нецелевой метаболомный анализ позволил определить преддиагностические метаболиты сыворотки крови, связанные с молекулярными особенностями прогрессирования рака простаты и выживаемостью пациентов	[60]
Blood plasma metabolome profiling at different stages of renal cell carcinoma	Maslov D.L., Trifonova O.P., Lichtenberg S. et al.	2022, США, Россия	Методом масс-спектрометрии плазмы крови обнаружена связь между изменением уровня некоторых аминокислот и прогрессированием рака почки	[61]

Окончание табл.

Название	Авторы	Год, страна	Методологический подход	
Molecular pathological diagnosis of thyroid tumors using spatially resolved metabolomics	Huang L., Mao X., Sun C. et al.	2022, Китай	Методом метаболомного анализа с пространственным разрешением был разработан способ молекулярной диагностики для распознавания доброкачественных аденом и злокачественных папиллярных карцином щитовидной железы	[62]
Proteomic signatures of infiltrative gastric cancer by proteomic and bioinformatic analysis	Zhang L.H., Zhuo H.Q., Hou J.J. et al.	2022, Китай	Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и tandemной масс-спектрометрии идентифицировали 20 дифференциально экспрессируемых белков, которые можно использовать в качестве прогностических маркеров при инфильтрирующем раке желудка	[63]
Identifying cancer cell-secreted proteins that activate cancer-associated fibroblasts as prognostic factors for patients with pancreatic cancer	Luo Q., Liu J., Fu Q. et al.	2022, Китай	Жидкостная хромато-танDEMная масс-спектрометрия была использована для определения шести белков, секретируемых клетками рака поджелудочной и способствующих миграции и инвазии раковых клеток, для оценки прогноза 3-летней послеоперационной выживаемости	[64]
Salivary lipids of patients with non-small cell lung cancer show perturbation with respect to plasma	Hwang B.Y., Seo J.W., Muftuoglu C. et al.	2023, Турция	Методом нанопоточной сверхвысокоэффективной жидкостной хромато-ионизации электрораспылением tandemной масс-спектрометрии было выделено 27 липидов слюны и 10 липидов плазмы в качестве кандидатов-маркеров немелкоклеточного рака легкого. Исследование показало, что изменения в распределении липидного профиля слюны могут быть более информативными маркерами, чем изменения в плазме крови	[65]
Data-independent acquisition mass spectrometry analysis of five rectal cancer samples offers in-depth proteomics characterization of the response to neoadjuvant chemoradiotherapy	Stanojevic A., Samiotaki M., Lygirov V. et al.	2023, Сербия, Греция, Нидерланды, Испания	Методом масс-спектрометрии в биоптатах опухолей рака прямой кишки были выделены белки – прогностические маркеры благоприятного исхода неадьювантной химиолучевой терапии для подбора оптимального объема оперативного вмешательства и выбора оптимальной тактики лечения	[66]
Serum proteomic profiles of patients with high and low risk of endometrial cancer recurrence	Pietkiewicz D., Zaborowski M.P., Jaz K. et al.	2023, Польша	Методом матричной лазерной десорбции/ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии сыворотки крови выделены белковые биомаркеры для стратификации пациентов с низким и высоким риском развития рецидивов для более клинически обоснованного лечения и усиление терапии первой линии	[67]
Kinase inhibitor pulldown assay identifies a chemotherapy response signature in triple-negative breast cancer based on purine-binding proteins	Wang J., Saltzman A.B., Jachnig E. et al.	2023, США	С использованием методом хромато-масс-спектрометрии разработан подход на основе количественного определения ингибиторов киназ для прогнозирования эффективности неадьювантной химиотерапии трижды негативного рака молочной железы	[68]
Lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma difficult for immunohistochemical diagnosis can be distinguished by lipid profile	Yamashita T., Takamashi Y., Uebayashi A. et al.	2023, Япония	Методом жидкостной хроматографии и tandemной масс-спектрометрии разработан способ дифференциальной диагностики аденокарциномы легкого и плоскоклеточной карциномы легкого по анализу липидного профиля биоптата	[69]
Proteomic and metabolomic analysis of bone marrow and plasma from patients with extramedullary multiple myeloma identifies distinct protein and metabolite signatures	Dunphy K., Bazou D., Henry M. et al.	2023, Израиль, Финляндия	С помощью методов хромато-масс-спектрометрии был исследован протеом монуклеаров клеток костного мозга и плазмы крови и разработан способ дифференциальной диагностики множественной миеломы и экстрамедуллярной множественной миеломы по анализу метаболомного профиля плазмы крови	[70]

В последние десятилетия в медицинских исследованиях активно изучаются неинвазивные методы скрининга рака, основанные на анализе биологического материала, особое внимание при этом уделяется выявлению ранних стадий заболевания. Некоторые типы рака, такие как рак поджелудочной железы, не проявляют специфических симптомов, что затрудняет диагностику ранних стадий с помощью общепринятых методов скрининга [51]. Аденокарцинома протоков поджелудочной железы (PDAC), составляющая 90% случаев рака поджелудочной железы, чаще всего диагностируется на поздней стадии, что приводит к худшей 5-летней выживаемости (7%) среди всех видов рака.

Международный коллектив исследователей из Чехии, Германии и Сингапура разработали подход к липидному профилированию для обнаружения рака поджелудочной железы. Чувствительность и специфичность метода составили более 90%, что превосходит существующий маркер гликопротеин CA 19-9, особенно на ранней стадии.

В исследовании колоректального рака [50] была разработана диагностическая панель, включающая восемь сывороточных метаболитов, связанных с кишечным микробиомом, для прогнозирования колоректального рака и колоректальной аденомы, которая показала высокие значения эффективности и специфичности при целевом и нецелевом метаболитном анализе.

В исследовании рака мочевого пузыря [53] рассматривали возможность применения масс-спектрометрического анализа мочи с целью поиска метаболитов, содержащих карбонильные группы, для диагностики. В работе было идентифицировано девять потенциальных биомаркеров, которые возможно использовать в качестве неинвазивной и менее затратной альтернативой традиционной цистоскопии.

Методы и подходы масс-спектрометрии могут быть бесценным инструментом в операционной, поскольку они позволяют быстро анализировать биологические материалы. Дифференцировка раковой и здоровой ткани, а также классификация опухоли на основе ее гистологических и молекулярных особенностей с помощью масс-спектрометрии с быстрой испарительной ионизацией (REIMS) показана в статье [26]. Этот метод основан на анализе аэрозолей, образующихся при разрезании ткани электрокаутерным лезвием или другим инструментом, который затем направляется на масс-спектрометр. Этот инструмент, также известный как «умный нож» (iKnife), широко использовался при хирургической дифференциации здоровых и раковых тканей [59].

Быстрая и точная оценка доли (%) опухолевых клеток в клинической практике и нейрохирургии играет важную роль для диагностики и при проведении оперативного вмешательства, возможность использования амбиентной масс-спектрометрии позволяет это сделать [35]. Исследователи обучили систему оценивать количество (%) опухолевых клеток с точностью около 90% с использованием метода встраивания кассеты, который позволяет анализировать образцы без их предварительной подготовки и методов машинного обучения. Применение таких техник может автоматизировать рутинное скрининговое исследование тканей и оценку количества опухолевых клеток, сокращая время во время нейрохирургических операций.

В исследованиях рака протеомные подходы на основе масс-спектрометрии применяются для первоначальной идентификации потенциальных новых прогностических, диагностических или терапевтических маркеров, что открывает новые возможности для последующих исследований. Возможность проводить протеомные исследования на тканях, фиксированных формалином и залитых в парафин [10, 12, 23], предоставила возможность ретроспективных протеомных исследований на выборочных когортах с долгосрочным наблюдением.

Биологические материалы, полученные в процессе аутопсии пациентов с онкологическими заболеваниями, представляют большой интерес в исследовательской работе, поскольку обеспечивают проведение адекватной оценки качества клинической диагностики и разработку оптимизированных подходов к терапии [71]. Внедрение в практику передовых методов оценки экспрессии белка и проведение передовых трансляционных мультиомных исследований позволяют сформировать максимально комплексное понимание патогенетических процессов онкологических заболеваний, связанных с изменением молекулярного, метаболического и генетического ландшафтов [72].

Использование масс-спектрометрии для определения тактики лечения и оценки эффективности терапии

Пациенты с онкологическими заболеваниями проходят клиническое стадирование, что влияет на выбор оптимального лечения и прогноз течения заболевания. Варианты лечения могут включать в себя различные комбинации: наблюдение, хирургическое вмешательство и (или) лучевую терапию. Таким образом, первоначальная стратификация риска у пациентов с канцерогенезом важна для достижения оптимальных терапевтических результатов и сохранения

качества жизни. Предиктивные биомаркеры риска осложнений или поздних эффектов лечения необходимы для клинических решений по выбору лечения.

При проведении исследования протеомики 116 опухолей меланомы было обнаружено, что ответ на иммунотерапию связан с обогащением митохондриального липидного метаболизма [21]. Высокий уровень митохондриального метаболизма приводит к увеличению презентации антигена и передаче сигналов интерферона. Кроме того, нокаут генов, связанных с бета-окислением, снижает чувствительность меланомы к уничтожению Т-клетками. Эти результаты указывают на важную роль митохондриального липидного метаболизма в ответе на иммунотерапию и могут иметь значимость для разработки новых стратегий лечения меланомы.

Результаты исследования ученых из США и Турции указывают на связь между метаболическими путями пуринов, пиримидинов, азота и порфиринов с радиочувствительностью или радиорезистентностью [20]. В работе проводили метаболомное профилирование пациентов с раком предстательной железы, прошедших лучевую терапию, что важно для выявления их нового метаболомного статуса и оценки последствий облучения. Было показано, что билирубин может быть использован в качестве контрольного показателя для пациентов с раком предстательной железы, получающих радиотерапию, так как его уровень может быть связан с печеночной токсичностью, вызванной лечением. Особенно интересным является изменение порфиринового пути и его соединений с билирубином и фосфорной кислотой при радиотерапии. Это может иметь практическое применение при выборе оптимальной тактики лечения и мониторинге эффективности радиотерапии у пациентов с этим типом рака.

В исследовании [16] по оценке роли внеклеточных везикул плазмы пациентов для ранней диагностики глиобластомы и в качестве прогностического инструмента по оптимальному клиническому ведению было показано, что концентрация внеклеточных везикул повышена в плазме у пациентов с глиобластомой по сравнению со здоровыми людьми. После удаления опухоли наблюдалось снижение количества внеклеточных пузырьков до уровня здоровых людей. При рецидиве наблюдалось увеличение количества внеклеточных везикул в плазме.

В работе группы ученых по протеомному профилированию на основе масс-спектрометрии с высоким разрешением определили молекулярные подтипы рака пищевода [36]. В исследовании был проведен протеомный анализ 124 парных опухолей рака пищевода и соответствующих прилегающих неопухо-

левых тканей. Протеомный анализ позволил выявить каталог белков, фосфоэпитопов и путей, которые не регулируются при раке пищевода. Протеомное подтипирование позволило выделить два подтипа рака, связанных с выживаемостью пациентов. Кроме того, в результате были предсказаны и проверены несколько перспективных препаратов, специфических для злокачественного подтипа рака пищевода, которые могут открыть новые перспективы в лечении.

Интересным подходом, включающим использование протеомных методов анализа у пациентов с раком предстательной железы, является совместное применение масс-спектрометрии (МС) и методов иммуногистохимии, направленное на дифференциальное разделение неметастазирующих и метастазирующих первичных опухолей и обнаружение метастазов в лимфатических узлах [12]. Одной из серьезных проблем, с которой столкнулись специалисты при проведении оценки риска и прогноза течения рака предстательной железы, стала невозможность использования стандартных прогностических схем (значение концентрации простат-специфического антигена (ПСА), оценка по шкале Глисона/ISUP и т.д.) для точного предсказания биологического течения и метастатического потенциала опухолевого процесса [12]. Предложенный авторами подход [12] позволил проводить сравнение протеомного состава тканей, пораженных различными опухолями предстательной железы (неметастазирующая первичная, метастазирующая первичная, вторичная) между собой, с «нормальной» тканью предстательной железы или доброкачественной гиперплазией. В результате было показано, что области рака предстательной железы обладают измеримыми и существенно отличающимися от «нормальной» ткани биологическими маркерами, а также были продемонстрированы несколько белков, вовлечение которых в онкогенез дифференциально различных опухолей является вероятным [12].

Использование масс-спектрометрии в фундаментальных онкологических исследованиях

Методы масс-спектрометрии применяются также в фундаментальных исследованиях по поиску молекулярных механизмов онкогенеза. Использование этого мощного инструмента в тандеме с протеомным анализом позволяет проводить изучение характеристик белков в больших масштабах, включая уровни их экспрессии, специфические посттрансляционные модификации и белок-белковые взаимодействия. Все это позволяет получить наиболее полное представление о факторах инициации канцерогенеза,

клеточном метаболизме при онкологии и других процессах на уровне белков. Количественная протеомика делает значительный вклад в фундаментальное понимание основ молекулярного патогенеза онкологических заболеваний, предоставляя исследователям исчерпывающую информацию о белковых взаимодействиях и сигнальных путях, измененных метаболитах и регуляции генов в раковых клетках. Приведенное выше также верно для липидомных, метаболомных и гликомных методах анализа.

Действительно, результаты многих исследований, опубликованные в последние годы, позволяют получить важные сведения о биологии рака. Так, в недавней работе была обоснована взаимосвязь между возникновением и прогрессированием колоректального рака и специфическим воздействием липидного окружения [50]. Важно отметить, что авторами принималась во внимание уже известная взаимосвязь между колоректальным раком, режимом питания, метаболическими нарушениями и статусом микробиома кишечника.

При изучении опухолей головного мозга было показано, что первичные глиобластомы, как и развившиеся из астроцитом, обогащены моно- и диненасыщенными фосфатидилхолинами, при этом снижается содержание насыщенных и полиненасыщенных фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов. Эти изменения, очевидно, связаны с доступностью полиненасыщенных жирных кислот и активацией синтеза липидов *de novo* и путей бета-окисления в анаэробных условиях в центре опухоли [73].

В других работах проводится подробное исследование значимости липидных маркеров, которые действительно для подтипирования немелкоклеточного рака легкого независимо от морфологии ткани и маркеров иммуногистохимии [69], роли aberrантного гликозилирования в онкогенезе [54] и вкладе низкомолекулярных метаболитов (инициаторов, интермедиаторов и продуктов различных биохимических реакций) в развитие опухолей [61]. Несмотря на то, что все вышеперечисленные успехи относятся, в первую очередь, к фундаментальной области онкологии, в будущем эти и другие открытия позволят проводить идентификацию новых биомаркеров рака и приведут к разработке новых терапевтических стратегий.

Обобщая результаты современных исследований, направленных на изучение возможности применения масс-спектрометрии для диагностики и прогнозирования течения онкологических заболеваний с позиций прецизионной медицины, можно сказать, что использование омиксных методов исследования на основе масс-спектрометрии в онкологии имеет огромное фундаментальное и практическое значе-

ние. Метаболомные исследования направлены на идентификацию и количественную (или полуколичественную) оценку метаболитов разных классов, понимание их природы и механизмов образования. Понимание молекулярной биологии опухолей важно для обнаружения новых биомаркеров опухолевого процесса и раннего выявления или субтипирования опухоли. Расширение использования методов масс-спектрометрии в онкологии позволит увеличить клиническую ценность биомаркеров, найти специфические метаболиты для различных онкологических процессов, что является ключевым моментом для поиска новых терапевтических мишеней, и будет способствовать разработке патогенетически обоснованных новых профилактических мероприятий и рекомендаций по клиническому ведению пациентов с онкологией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Онкологические заболевания являются одной из самых серьезных проблем современного здравоохранения [74, 75]. Несмотря на то, что в последние годы был достигнут определенный прогресс в вопросах диагностики, разработки подходов к лечению и прогнозированию течения рака, все еще сохраняется острая необходимость в открытии новых биомаркеров. Усилия в данном направлении реализуются с использованием различных подходов, включающих новые высокотехнологичные и наукоемкие методы, – геномику, транскриптомику, метаболомику и протеомику [76].

Идентификация молекул интереса и тотальный скрининг молекулярного ландшафта в этих методах осуществляются с использованием МС, которая в последние десятилетия прошла долгий путь развития. На сегодняшний день она является мощной технологией, благодаря беспрецедентному уровню чувствительности и специфичности анализа, находит применение в клинической практике для анализа биологических образцов.

В то время как методы, основанные на анализе нуклеиновых кислот, обладают преимуществом потенциала амплификации, но лишены «эффektorной» составляющей, «омиксные» технологии, и, в первую очередь протеомика, считаются более актуальными в контексте применения в онкологии, поскольку протеом непосредственно участвует в реализации биологических эффектов [77]. Обнаружение количественных и (или) качественных модификаций белков, характеризующихся низким содержанием в биологических образцах, требует применения высокочувствительных и специфичных методов анализа. Жидкостная хроматография в тандеме с МС

представляет собой наиболее широко используемый метод комплексной идентификации и количественного определения белков.

Применение МС в онкологических исследованиях не исчерпывается протеомным анализом и затрагивает другие области «омиксных» исследований (липидомика [78], метаболомика [79], гликомика [80]).

В результате проведенного обзора научной литературы установлено, что во множестве публикаций последних лет описываются разнообразные подходы и технологии применения МС для клинических анализов биологических образцов. Первоначально МС использовалась в клинических токсикологических лабораториях для специализированной идентификации целевых соединений (1950-е гг.) [76]. Но уже в 1957 г. сообщалось о разработке и использовании портативного клинического масс-спектрометра для прямого, непрерывного количественного анализа четырех газов в выдыхаемом пациентом воздухе с целью определения функции внешнего дыхания [81].

С разработкой новых источников ионизации и масс-анализаторов в 1990-х гг. технология МС совершила переход от сложного аналитического инструмента, используемого почти исключительно опытными учеными в исследовательских лабораториях, к более надежной и универсальной технологии, подходящей для решения широкого круга задач, включая клинические [82, 83]. Наконец, в последние годы МС в сочетании с газовой хроматографией и жидкостной хроматографией стала рутинной клинической лабораторной технологией, которая позволяет получать важнейшие сведения о клинических образцах [84]. А разработка технологий электроспрейной ионизации (ESI) и матричной ассистированной лазерной десорбционной ионизации (MALDI) произвела революцию в использовании МС, позволив исследователям изучать более крупные биологические молекулы, такие как гликоконъюгаты, белки и нуклеиновые кислоты [85, 86]. Развитие ESI, в частности, значительно способствовало использованию МС в проведении клинических анализов биологических жидкостей, таких как кровь и моча [85], в то время как развитие MALDI привело к развитию технологий молекулярной визуализации срезов биологических тканей для диагностики онкологических заболеваний [86].

Методы амбиентной МС, в которых отсутствует хроматографическое разделение, являются крайне перспективными вследствие их экспрессности [87], десорбционная масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением (DESI-МС) позволяет быстро получать изображения биологических тканей [88, 89].

Открытие новых биомаркеров рака изменило существующую практику в онкологии [90, 91]. Профи-

лирование опухолевого генома и транскриптома в настоящее время является признанным инструментом для открытия новых биомаркеров, но изменения в экспрессии протеома с большей вероятностью отражают изменения в патофизиологии опухоли. МС – мощный метод, который позволяет проводить протеомные исследования в персонализированной медицине, а наложение протеомных данных на результаты геномных и транскриптомных исследований дает возможность перейти в новую область протеогеномики, которая демонстрирует растущий потенциал в понимании биологии рака [92]. Все это делает клиническую протеомику и протеогеномику одной из наиболее перспективных областей молекулярных клинических исследований, включающих крупномасштабное изучение белков, их экспрессию, функции и структуру, а также применение полученных результатов для развития подходов к диагностике, лечению и контролю эффективности терапии онкологических заболеваний. Реализация всех этих методов невозможна без использования технологии МС.

В то же время метаболомика представляет собой одну из наиболее перспективных «омиксных» технологий, которая комплексно анализирует низкомолекулярные молекулы (метаболиты) в биологических системах [93, 94]. Так как метаболиты являются инициаторами, интермедиатами и продуктами различных биохимических реакций, то значительные метаболические изменения наиболее точно отражают физиологические и патологические процессы, протекающие в организме человека, включая возникновение и развитие опухолевого процесса [95, 96]. Многочисленные исследования продемонстрировали способность подходов, основанных на использовании МС как метода детектирования результатов метаболомного профилирования, обеспечивать диагностику рака, прогнозировать эффективность предлагаемых терапевтических стратегий и оперативно контролировать ход лечения [61, 97, 98].

Наконец, новейшие методы МС могут быть бесценным инструментом непосредственно в операционной, поскольку они способны быстро анализировать биологические материалы непосредственно во время работы хирурга-онколога, что позволит корректировать стратегию оперативного вмешательства [59]. Действительно, возможность в течение короткого времени точно дифференцировать раковую и здоровую ткань, а также проводить классификацию опухоли на основе ее гистологических и молекулярных особенностей – крайне ценный инструмент при проведении операций по резекции онкологических очагов [99]. Наиболее ярким представителем таких подходов к использованию МС в онкологии является

ся технология REIMS (МС с быстрой испарительной ионизацией), основанная на анализе аэрозолей, образующихся при разрезании ткани электрокаутерным лезвием или другим инструментом, который затем помещается в масс-спектрометр [100]. Этот инструмент, также известный как «умный нож» (iKnife), широко использовался при хирургической дифференциации здоровых и раковых тканей [101]. iKnife не является единственной технологией для экспрессного анализа биологических образцов столь малого объема – альтернативные методы включают использование принципа «распыления бумаги» (PS) и «ионизации электрораспылением с помощью зонда» (PESI), которые подразумевают ионизацию отобранных аналитов посредством подачи высокого напряжения на зонд, установленный непосредственно в масс-спектрометр [102, 103]. В подходе CBS-МС аналиты извлекаются из биологической матрицы с помощью специально разработанного зонда в форме меча, покрытого иммобилизованными сорбционными частицами. После экстракции зонд вставляется в интерфейс масс-спектрометра, где на поверхность лезвия помещается капля десорбционного растворителя для высвобождения аналитов и подается высокое напряжение для обеспечения ионизации и анализа экстрагированных веществ [104]. Все обозначенные подходы, помимо высокой точности и скорости полученных результатов, позволяют осуществлять стандартизацию проведения диагностических манипуляций, что является необходимым для использования приведенных методов в прецизионной клинической практике.

Таким образом, технологии МС быстро переходят грань трансляции от лабораторного к клиническому использованию при прямом анализе биологических образцов тканей и жидкостей организма. При этом параллельно идет поиск новых способов их применения, что может оказать существенное положительное влияние на развитие подходов к изучению патогенетических особенностей канцерогенеза на молекулярном уровне, диагностике и лечению онкологических больных. Можно ожидать, что в ближайшее десятилетие МС и технологии, основанные на прямом анализе образцов тканей, продолжат активно внедряться в клиническую практику и после одобрения регулирующими органами станут рутинными методами в онкологии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. https://www.who.int/ru/health-topics/cancer#tab=tab_1
3. Al-Zhoughbi W., Huang J., Paramasivan G.S., Till H., Pichler M., Guertl-Lackner B. et al. Tumor macroenvironment and metabolism. *Seminars in Oncology*. 2014;41(2):281–295. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2014.02.005
4. Beatty A., Fink L.S., Singh T., Strigun A., Peter E., Ferrer C.M. et al. Metabolite profiling reveals the glutathione biosynthetic pathway as a therapeutic target in triple-negative breast cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2018;17(1):264–275. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0407.
5. Mayerle J., Kalthoff H., Reszka R., Kamlage B., Peter E., Schniewind B. et al. Metabolic biomarker signature to differentiate pancreatic ductal adenocarcinoma from chronic pancreatitis. *Gut*. 2018;67(1):128–137. DOI: 10.1136/gut-jnl-2016-312432.
6. Wojakowska A., Cole L.M., Chekan M., Bednarczyk K., Maksymiak M., Oczko-Wojciechowska M. et al. Discrimination of papillary thyroid cancer from non-cancerous thyroid tissue based on lipid profiling by mass spectrometry imaging. *Endokrynologia Polska*. 2018;69(1): 2–8. DOI: 10.5603/EP.a2018.0003.
7. Yang W., Mu T., Jiang J., Sun Q., Hou X., Sun Y. et al. Identification of potential biomarkers and metabolic profiling of serum in ovarian cancer patients using UPLC/Q-TOF MS. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;51(3):1134–1148. DOI: 10.1159/000495492.
8. Farshidfar F., Kopciuk K.A., Hilsden R., McGregor S.E., Mazurak V.C., MacLean A. et al. A quantitative multimodal metabolomic assay for colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2018;18(1): 1–12. DOI: 10.1186/s12885-017-3923-z.
9. Bonaparte E., Pesenti C., Fontana L., Falcone R., Paganini L., Marzorati A. et al. Molecular profiling of lung cancer specimens and liquid biopsies using MALDI-TOF mass spectrometry. *Diagnostic Pathology*. 2018;13(1):1–9. DOI: 10.1186/s13000-017-0683-7.
10. Wippel H.H., Santos M.D. M., Clasen M.A., Kurt L.U., Nogueira F.C.S., Carvalho C.E. et al. Comparing intestinal versus diffuse gastric cancer using a PEFF-oriented proteomic pipeline. *Journal of Proteomics*. 2018;171:63–72. DOI: 10.1016/j.jprot.2017.10.005.
11. Phua L.C., Goh S., Tai D.W.M., Leow W.Q., Alkaff S.M.F., Chan C.Y. et al. Metabolomic prediction of treatment outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma patients receiving gemcitabine. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2018;81:277–289. DOI: 10.1007/s00280-017-3475-6.
12. Müller A.K., Föll M., Heckelmann, B., Kiefer S., Werner M., Schilling O. et al. Proteomic characterization of prostate cancer to distinguish nonmetastasizing and metastasizing primary tumors and lymph node metastases. *Neoplasia*. 2018;20(2):140–151. DOI: 10.1016/j.neo.2017.10.009.
13. Lee J., Hua S., Lee S.H., Oh M.J., Yun J., Kim J.Y. et al. Designation of fingerprint glycopeptides for targeted glycoproteomic analysis of serum haptoglobin: insights into gastric cancer biomarker discovery. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018;410:1617–1629. DOI: 10.1007/s00216-017-0811-y.
14. Lončar-Brzak B., Klobučar M., Veliki-Dalić I., Sabol I., Kraljević Pavelić S., Krušlin B. et al. Expression of small leucine-rich extracellular matrix proteoglycans biglycan and lumican reveals oral lichen planus malignant potential. *Clinical Oral Investigations*. 2018;22:1071–1082. DOI: 10.1007/s00784-017-2190-3.

15. Zhang Y., Ding N., Cao Y., Zhu Z., Gao P. Differential diagnosis between hepatocellular carcinoma and cirrhosis by serum amino acids and acylcarnitines. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2018;1(3):1763.
16. Osti D., Del Bene M., Rappa G., Santos M., Matafora V., Richichi C. et al. Clinical significance of extracellular vesicles in plasma from glioblastoma patients. *Clinical Cancer Research*. 2019;25(1):266–276. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1941.
17. Jasbi P., Wang D., Cheng S.L., Fei Q., Cui J.Y., Liu L. et al. Breast cancer detection using targeted plasma metabolomics. *Journal of Chromatography B*. 2019;1105:26–37. DOI: 10.1016/j.jchromb.2018.11.029.
18. Eniu D.T., Romanciuc F., Moraru C., Goidescu I., Eniu D., Staicu A. et al. The decrease of some serum free amino acids can predict breast cancer diagnosis and progression. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2019;79(1–2):17–24. DOI: 10.1080/00365513.2018.1542541.
19. Hung C.Y., Yeh T.S., Tsai C.K., Wu R.C., Lai Y.C., Chiang M.H. et al. Glycerophospholipids pathways and chromosomal instability in gastric cancer: Global lipidomics analysis. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2019;11(3):181. DOI: 10.4251/wjgo.v11.i3.181.
20. Nalbantoglu S., Abu-Asab M., Suy S., Collins S., Amri H. Metabolomics-based biosignatures of prostate cancer in patients following radiotherapy. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*. 2019;23(4):214–223. DOI: 10.1089/omi.2019.0006.
21. Harel M., Ortenberg R., Varanasi S.K., Mangalhara K.C., Mardamshina M., Markovits E. et al. Proteomics of melanoma response to immunotherapy reveals mitochondrial dependence. *Cell*. 2019;179(1):236–250. DOI: 10.1016/j.cell.2019.08.012.
22. Morse N., Jamaspishvili T., Simon D., Patel P.G., Ren K.Y.M., Wang J. et al. Reliable identification of prostate cancer using mass spectrometry metabolomic imaging in needle core biopsies. *Laboratory Investigation*. 2019;99(10):1561–1571. DOI: 10.1038/s41374-019-0265-2.
23. Zhou Y., Lih T.M., Pa J., Höt N., Don M., Cao Y.Hu. et al. Proteomic signatures of 16 major types of human cancer reveal universal and cancer-type-specific proteins for the identification of potential therapeutic targets. *Journal of Hematology & Oncology*. 2020;13:1–15. DOI: 10.1186/s13045-020-01013-x.
24. Lee Y.R., An K.Y., Jeon J., Kim N.K., Lee J.W., Hong J. et al. Untargeted metabolomics and polyamine profiling in serum before and after surgery in colorectal cancer patients. *Metabolites*. 2020;10(12):487. DOI: 10.3390/metabo10120487.
25. Yu D., Xuan Q., Zhang C., Hu C., Li Y., Zhao X. et al. Metabolic alterations related to glioma grading based on metabolomics and lipidomics analyses. *Metabolites*. 2020;10(12):478. DOI: 10.3390/metabo10120478.
26. Vaysse P.M., Kooreman L.F., Engelen S.M., Kremer B., Olde Damink S. W., Heeren R.M. et al. Stromal vapors for real-time molecular guidance of breast-conserving surgery. *Scientific Reports*. 2020;10(1):20109. DOI: 10.1038/s41598-020-77102-1.
27. Möglinger U., Marcussen N., Jensen O.N. Histo-molecular differentiation of renal cancer subtypes by mass spectrometry imaging and rapid proteome profiling of formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissue sections. *Oncotarget*. 2020;11(44):3998. DOI: 10.18632/oncotarget.27787.
28. Sarbu M., Clemmer D.E., Zamfir A.D. Ion mobility mass spectrometry of human melanoma gangliosides. *Biochimie*. 2020;177: 26–237. DOI: 10.1016/j.biochi.2020.08.011.
29. Chen X., Zhu Y., Jijiwa M., Nasu M., Ai J., Dai S. et al. Identification of plasma lipid species as promising diagnostic markers for prostate cancer. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 2020;20:1–10. DOI: 10.1186/s12911-020-01242-7.
30. Noreldeen H.A., Du L., Li W., Liu X., Wang Y., Xu G. Serum lipidomic biomarkers for non-small cell lung cancer in nonsmoking female patients. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2020;185:113220. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113220.
31. Cheng F., Wen Z., Feng X., Wang X., Chen Y. A serum lipidomic strategy revealed potential lipid biomarkers for early-stage cervical cancer. *Life Sciences*. 2020;260:118489. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118489.
32. You L., Fan Y., Liu X., Shao S., Guo L., Noreldeen H.A. et al. Liquid chromatography–mass spectrometry-based tissue metabolic profiling reveals major metabolic pathway alterations and potential biomarkers of lung cancer. *Journal of Proteome Research*. 2020;19(9):3750–3760. DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00285.
33. Kurczyk A., Gawin M., Chekan M., Wilk A., Łakomiec K., Mrukwa G. et al. Classification of thyroid tumors based on mass spectrometry imaging of tissue microarrays; a single-pixel approach. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(17):6289. DOI: 10.3390/ijms21176289.
34. Zhu N., Xing X., Cao L., Zhang Y., Zhang T., Li Z. et al. Study on the diagnosis of gastric cancer by magnetic beads extraction and mass spectrometry. *BioMed Research International*. 2020;2020:2743060. DOI: 10.1155/2020/2743060.
35. Pekov S. I., Bormotov D. S., Nikitin P. V., Sorokin A. A., Shurkhay V. A., Eliferov V. A. et al. Rapid estimation of tumor cell percentage in brain tissue biopsy samples using inline cartridge extraction mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2021;413:2913–2922. DOI: 10.1007/s00216-021-03220-y.
36. Liu W., Xie L., He Y.H., Wu Z.Y., Liu L.X., Bai X.F. et al. Large-scale and high-resolution mass spectrometry-based proteomics profiling defines molecular subtypes of esophageal cancer for therapeutic targeting. *Nature Communications*. 2021;12(1):4961. DOI: 10.1038/s41467-021-25202-5.
37. Wei Y., Jasbi P., Shi X., Turner C., Hrovat J., Liu L. et al. Early breast cancer detection using untargeted and targeted metabolomics. *Journal of Proteome Research*. 2021;20(6):3124–3133. DOI: 10.1021/acs.jproteome.1c00019.
38. Ecker J., Benedetti E., Kindt A.S., Höring M., Perl M., Machmüller A.C. et al. The colorectal cancer lipidome: identification of a robust tumor-specific lipid species signature. *Gastroenterology*. 2021;161(3):910–923. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.05.009.
39. Li X., Zheng N.R., Wang L.H., Li Z.W., Liu Z.C., Fan H. et al. Proteomic profiling identifies signatures associated with progression of precancerous gastric lesions and risk of early

- gastric cancer. *EBioMedicine*. 2021;74. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103714.
40. Milighetti M., Krasny L., Lee A.T., Morani G., Szecsei C., Chen Y. et al. Proteomic profiling of soft tissue sarcomas with SWATH mass spectrometry. *Journal of Proteomics*. 2021; 241:104236. DOI: 10.1016/j.jprot.2021.104236.
 41. Monsivais D., Vasquez Y.M., Chen F., Zhang Y., Chandrashekar D.S., Faver J.C. et al. Mass-spectrometry-based proteomic correlates of grade and stage reveal pathways and kinases associated with aggressive human cancers. *Oncogene*. 2021;40(11):2081–2095. DOI: 10.1038/s41388-021-01681-0.
 42. Lima A.R., Carvalho M., Aveiro S.S., Melo T., Domingues M.R., Macedo-Silva C. et al. Comprehensive metabolomics and lipidomics profiling of prostate cancer tissue reveals metabolic dysregulations associated with disease development. *Journal of Proteome Research*. 2021;21(3):727–739. DOI: 10.1021/acs.jproteome.1c00754.
 43. Basu S.S., Stopka S.A., Abdelmoula W.M., Randall E.C., Gimenez-Cassina Lopez B., Regan M.S. et al. Interim clinical trial analysis of intraoperative mass spectrometry for breast cancer surgery. *NPJ Breast Cancer*. 2021;7(1):116. DOI: 10.1038/s41523-021-00318-5.
 44. Casadonte R., Kriegsmann M., Kriegsmann K., Hauk I., Melliss R.R., Mueller C.S. et al. Imaging mass spectrometry-based proteomic analysis to differentiate melanocytic nevi and malignant melanoma. *Cancers*. 2021;13(13):3197. DOI: 10.3390/cancers13133197.
 45. Brown H.M., Alfaro C.M., Pirro V., Dey M., Hattab E.M., Cohen-Gadol A.A. et al. Cooks R.G. Intraoperative mass spectrometry platform for IDH mutation status prediction, glioma diagnosis, and estimation of tumor cell infiltration. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 2021;6(4):902–916. DOI: 10.1093/jalm/jfaa233.
 46. Buentzel J., Klemp H.G., Kraetzner R., Schulz M., Dihazi G.H., Streit F. et al. Metabolomic profiling of blood-derived microvesicles in breast cancer patients. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(24):13540. DOI: 10.3390/ijms222413540.
 47. Răchieru C., Eniu D.T., Moiş E., Graur F., Socaciu C., Socaciu M.A. et al. Lipidomic signatures for colorectal cancer diagnosis and progression using UPLC-QTOF-ESI+ MS. *Biomolecules*. 2021;11(3):417. DOI: 10.3390/biom11030417.
 48. Hashim N.A.A., Ab-Rahim S., Ngah W.Z.W., Nathan S., Ab Mutalib N.S., Sagap I. et al. Global metabolomics profiling of colorectal cancer in Malaysian patients. *BioImpacts: BI*. 2021; 11(1):33. DOI: 10.34172/bi.2021.05.
 49. Butler L.M., Mah C.Y., Machiels J., Vincent A.D., Irani S., Mutuku S.M. et al. Lipidomic profiling of clinical prostate cancer reveals targetable alterations in membrane lipid composition. *Cancer Research*. 2021;81(19):4981–4993. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-3863.
 50. Chen F., Dai X., Zhou C.C., Li K.X., Zhang Y.J., Lou X.Y. et al. Integrated analysis of the faecal metagenome and serum metabolome reveals the role of gut microbiome-associated metabolites in the detection of colorectal cancer and adenoma. *Gut*. 2022;71(7):1315–1325. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-323476.
 51. Wolrab D., Jirásko R., Cífková E., Höring M., Mei D., Chocholoušková M. et al. Lipidomic profiling of human serum enables detection of pancreatic cancer. *Nature Communications*. 2022;13(1):124. DOI: 10.1038/s41467-021-27765-9.
 52. Soltis A.R., Bateman N.W., Liu J., Nguyen T., Franks T.J., Zhang X. et al. Proteogenomic analysis of lung adenocarcinoma reveals tumor heterogeneity, survival determinants, and therapeutically relevant pathways. *Cell Reports Medicine*. 2022;3(11). DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100819.
 53. Li Y., Jiang L., Wang Z., Wang Y., Cao X., Meng L. et al. Profiling of urine carbonyl metabolic fingerprints in bladder cancer based on ambient ionization mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2022;94(27):9894–9902. DOI: 10.1021/acs.analchem.2c01890.
 54. Alvarez M.R.S., Zhou Q., Tena J., Lebrilla C.B., Completo G.C., Heralde III F.M. et al. N-Glycan and glycopeptide serum biomarkers in philippine lung cancer patients identified using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *ACS Omega*. 2022;7(44):40230–40240. DOI: 10.1021/acsomega.2c05111.
 55. Blaschke C.R., Hill E.G., Mehta A.S., Angel P.M., Laronga C., Drake R.R. Integrating age, BMI, and serum N-glycans detected by MALDI mass spectrometry to classify suspicious mammogram findings as benign lesions or breast cancer. *Scientific Reports*. 2022;12(1):20801. DOI: 10.1038/s41598-022-25401-0.
 56. Wang X., Li H., Zou X., Yan X., Cong P., Li H. et al. Deep mining and quantification of oxidized cholesteryl esters discovers potential biomarkers involved in breast cancer by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2022;1663:462764. DOI: 10.1016/j.chroma.2021.462764.
 57. Östman J.R., Pinto R.C., Ebbels T.M., Thysell E., Hallmans G., Moazzami A.A. Identification of prediagnostic metabolites associated with prostate cancer risk by untargeted mass spectrometry-based metabolomics: A case-control study nested in the Northern Sweden Health and Disease Study. *International Journal of Cancer*. 2022;151(12):2115–2127. DOI: 10.1002/ijc.34223.
 58. Sommella E., Salviati E., Caponigro V., Grimaldi M., Musella S., Bertamino A. et al. MALDI Mass Spectrometry Imaging highlights specific metabolome and lipidome profiles in salivary gland tumor tissues. *Metabolites*. 2022;12(6):530. DOI: 10.3390/metabo12060530.
 59. Bogusiewicz J., Gaca-Tabaszewska M., Olszówka D., Jaroch K., Furtak J., Harat M. et al. Coated blade spray-mass spectrometry as a new approach for the rapid characterization of brain tumors. *Molecules*. 2022;27(7):2251. DOI: 10.3390/molecules27072251.
 60. Huang J., Zhao B., Weinstein S.J., Albanes D., Mondul A.M. Metabolomic profile of prostate cancer-specific survival among 1812 Finnish men. *BMC Medicine*. 2022;20(1):1–13. DOI: 10.1186/s12916-022-02561-4.
 61. Maslov D.L., Trifonova O.P., Lichtenberg S., Balashova E.E., Mamedli Z.Z., Alferov A.A. et al. Blood plasma metabolome profiling at different stages of renal cell carcinoma. *Cancers*. 2022;15(1):140. DOI: 10.3390/cancers15010140.
 62. Huang L., Mao X., Sun C., Li T., Song X., Li J. et al. Molecular pathological diagnosis of thyroid tumors using spatially resolved metabolomics. *Molecules*. 2022;27(4):1390. DOI: 10.3390/molecules27041390.

63. Zhang L.H., Zhuo H.Q., Hou J.J., Zhou Y., Cheng J., Cai J.C. Proteomic signatures of infiltrative gastric cancer by proteomic and bioinformatic analysis. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2022;14(11):2097. DOI: 10.4251/wjgo.v14.i11.2097.
64. Luo Q., Liu J., Fu Q., Zhang X., Yu P., Liu P. et al. Identifying cancer cell-secreted proteins that activate cancer-associated fibroblasts as prognostic factors for patients with pancreatic cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2022;26(22):5657–5669. DOI: 10.1111/jcmm.17596.
65. Hwang B.Y., Seo J.W., Muftuoglu C., Mert U., Guldaval F., Asadi M. et al. Salivary lipids of patients with non-small cell lung cancer show perturbation with respect to plasma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(18):14264. DOI: 10.3390/ijms241814264.
66. Stanojevic A., Samiotaki M., Lygirou V., Marinkovic M., Nikolic V., Stojanovic-Rundic S. et al. Data-independent acquisition mass spectrometry analysis of FFPE rectal cancer samples offers in-depth proteomics characterization of the response to neoadjuvant chemoradiotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(20):15412. DOI: 10.3390/ijms242015412.
67. Pietkiewicz D., Zaborowski M.P., Jaz K., Matuszewska E., Światly-Błaszkiwicz A., Kluz T. et al. Serum proteomic profiles of patients with high and low risk of endometrial cancer recurrence. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(19):14528. DOI: 10.3390/ijms241914528.
68. Wang J., Saltzman A.B., Jaehnig E.J., Lei J.T., Malovannaya A., Holt M.V. et al. Kinase inhibitor pulldown assay identifies a chemotherapy response signature in triple-negative breast cancer based on purine-binding proteins. *Cancer Research Communications*. 2023;3(8):1551–1563. DOI: 10.1158/2767-9764.CRC-22-0501.
69. Yamashita T., Takanashi Y., Uebayashi A., Oka M., Mizuno K., Kawase A. et al. Lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma difficult for immunohistochemical diagnosis can be distinguished by lipid profile. *Scientific Reports*. 2023;13(1):12092. DOI: 10.1038/s41598-023-37848-w.
70. Dunphy K., Bazou D., Henry M., Meleady P., Miettinen J.J., Heckman C.A. et al. Proteomic and metabolomic analysis of bone marrow and plasma from patients with extramedullary multiple myeloma identifies distinct protein and metabolite signatures. *Cancers*. 2023;15(15):3764. DOI: 10.3390/cancers15153764.
71. Kocsmar E., Schmid M., Cosenza-Contreras M., Kocsmar I., Foll M., Krey L. et al. Proteome alterations in human autopsy tissues in relation to time after death. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2023;80(5):117. DOI: 10.1007/s00018-023-04754-3.
72. Cao L., Huang C., Zhou D.C., Hu Y., Lih T.M., Savage S.R. et al. Proteogenomic characterization of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cell*. 2021;184(19):5031–5052. DOI: 10.1016/j.cell.2021.08.023.
73. Pekov S.I., Sorokin A.A., Kuzin A.A., Bocharov K.V., Bormotov D.S., Shivalin A.S. et al. Analysis of phosphatidylcholines alterations in human glioblastomas *ex vivo*. *Bio-meditinskaja Khimiia*. 2021;15(3):241–247. DOI: 10.18097/PBMC20216701081.
74. Torres-de la Roche L.A., Acevedo-Mesa A., Lizarazo I. L., Devassy R., Becker S. et al. Hormonal Contraception and the Risk of Breast Cancer in Women of Reproductive Age: A Meta-Analysis. *Cancers*. 2023;15(23):5624. DOI: 10.3390/cancers15235624.
75. Onyije F.M., Dolatkah R., Olsson A., Bouaoun L., Deltour I., Erdmann F. et al. Risk factors for childhood brain tumours: A systematic review and meta-analysis of observational studies from 1976 to 2022. *Cancer Epidemiology*. 2024;88:102510. DOI: 10.1016/j.canep.2023.102510.
76. Zhang J., Sans M., Garza K.Y., Eberlin L.S. Mass spectrometry technologies to advance care for cancer patients in clinical and intraoperative use. *Mass Spectrometry Reviews*. 2021;40(5):692–720. DOI: 10.1002/mas.21664.
77. Zhang L.H., Zhuo H.Q., Hou J.J., Zhou Y., Cheng J., Cai J.C. Proteomic signatures of infiltrative gastric cancer by proteomic and bioinformatic analysis. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2022;14(11):2097. DOI: 10.4251/wjgo.v14.i11.2097.
78. Elmallah M.I., Ortega-Deballon P., Hermite L., Pais-De-Barros J.P., Gobbo J., Garrido C. Lipidomic profiling of exosomes from colorectal cancer cells and patients reveals potential biomarkers. *Molecular Oncology*. 2022;16(14):2710–2718. DOI: 10.1002/1878-0261.13223.
79. Sommella E., Salviati E., Caponigro V., Grimaldi M., Musella S., Bertamino A. et al. MALDI Mass Spectrometry Imaging highlights specific metabolome and lipidome profiles in salivary gland tumor tissues. *Metabolites*. 2022;12(6):530. DOI: 10.3390/metabo12060530.
80. Blaschke C.R., Hill E.G., Mehta A.S., Angel P.M., Laronga C., Drake R.R. Integrating age, BMI, and serum N-glycans detected by MALDI mass spectrometry to classify suspicious mammogram findings as benign lesions or breast cancer. *Scientific Reports*. 2022;12(1):20801. DOI: 10.1038/s41598-022-25401-0.
81. Fowler K.T., Hugh-Jones P. Mass spectrometry applied to clinical practice and research. *British Medical Journal*. 1957;1(5029):1205. DOI: 10.1136/bmj.1.5029.1205.
82. Cotter R.J. Time-of-flight mass spectrometry for the structural analysis of biological molecules. *Analytical Chemistry*. 1992;64(21):1027A–1039A. DOI: 10.1021/ac00045a002.
83. Bryden W.A., Benson R.C., Echelberger S.A., Phillips T.E., Cotter R.J., Fenselau C. The tiny-TOF mass spectrometer for chemical and biological sensing. *Johns Hopkins APL Technical Digest*. 1995;16(3):296–310. DOI: 10.1007/978-94-015-9534-6_10.
84. Rifai N., Horvath A. R., Wittwer C.T., Hoofnagle A. Principles and applications of clinical mass spectrometry: small molecules, peptides, and pathogens. Elsevier, 2018.
85. Raćkowska E., Bobrowska-Korczak B., Giebułtowicz J. Development and validation of a rapid LC–MS/MS method for determination of methylated nucleosides and nucleobases in urine. *Journal of Chromatography B*. 2019;1128:121775. DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.121775.
86. Drake R.R., McDowell C., West C., David F., Powers T.W., Nowling T. et al. Defining the human kidney N-glycome in normal and cancer tissues using MALDI imaging mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 2020;55(4):e4490. DOI: 10.1002/jms.4490.

87. Takats Z., Strittmatter N., McKenzie J.S. Ambient mass spectrometry in cancer research. *Advances in Cancer Research*. 2017;134:231–256. DOI: 10.1016/bs.acr.2016.11.011.
88. Jarmusch A.K., Pirro V., Baird Z., Hattab E.M., Cohen-Gadol A.A., Cooks R.G. Lipid and metabolite profiles of human brain tumors by desorption electrospray ionization-MS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(6):1486–1491. DOI: 10.1073/pnas.1523306113.
89. Tillner J., Wu V., Jones E.A., Pringle S.D., Karancsi T., Dannhorn A. et al. Faster, more reproducible DESI-MS for biological tissue imaging. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2017;28(10):2090–2098. DOI: 10.1007/s13361-017-1714-z.
90. Kaushal A., Kaur N., Sharma S., Sharma A.K., Kala D., Prakash H. et al. Current update on biomarkers for detection of cancer: comprehensive analysis. *Vaccines*. 2022;10(12):2138. DOI: 10.3390/vaccines10122138.
91. Khan H., Shah M.R., Barek J., Malik M.I. Cancer biomarkers and their biosensors: A comprehensive review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2023;158:116813. DOI: 10.1016/j.trac.2022.116813.
92. Luo Q., Liu J., Fu Q., Zhang X., Yu P., Liu P. et al. Identifying cancer cell-secreted proteins that activate cancer-associated fibroblasts as prognostic factors for patients with pancreatic cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2022;26(22):5657–5669. DOI: 10.1111/jcmm.17596.
93. Zhu Z. J., Qi Z., Zhang J., Xue W.H., Li L.F., Shen Z.B. et al. Untargeted metabolomics analysis of esophageal squamous cell carcinoma discovers dysregulated metabolic pathways and potential diagnostic biomarkers. *Journal of Cancer*. 2020;11(13):3944. DOI: 10.7150/jca.41733.
94. Pinu F.R., Beale D.J., Paten A.M., Kouremenos K., Swarup S., Schirra H.J. et al. Systems biology and multi-omics integration: viewpoints from the metabolomics research community. *Metabolites*. 2019;9(4):76. DOI: 10.3390/metabo9040076.
95. Schmidt D.R., Patel R., Kirsch D.G., Lewis C.A., Vander Heiden M.G., Locasale J.W. Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology. *CA: Cancer Journal for Clinicians*. 2021;71(4):333–358. DOI: 10.3322/caac.21670.
96. Pandey N., Lanke V., Vinod P.K. Network-based metabolic characterization of renal cell carcinoma. *Scientific Reports*. 2020;10(1):5955. DOI: 10.1038/s41598-020-62853-8.
97. Mollica V., Santoni M., Matrana M.R., Basso U., De Giorgi U., Rizzo A. et al. Concomitant proton pump inhibitors and outcome of patients treated with nivolumab alone or plus ipilimumab for advanced renal cell carcinoma. *Targeted Oncology*. 2022;17(1):61–68. DOI: 10.1007/s11523-021-00861-y.
98. Maslov D.L., Trifonova O.P., Lichtenberg S., Balashova E.E., Mamedli Z.Z., Alferov A.A. et al. Blood plasma metabolome profiling at different stages of renal cell carcinoma. *Cancers*. 2022;15(1): 140. DOI: 10.3390/cancers15010140.
99. Rankin-Turner S., Heaney L.M. Applications of ambient ionization mass spectrometry in 2020: An annual review. *Analytical Science Advances*. 2021;2(3–4):193–212. DOI: 10.1002/ansa.202300004.
100. Genangeli M., Heeren R.M., Porta Siegel T. Tissue classification by rapid evaporative ionization mass spectrometry (REIMS): comparison between a diathermic knife and CO₂ laser sampling on classification performance. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2019;411:7943–7955. DOI: 10.1007/s00216-019-02148-8.
101. St. John E.R., Balog J., McKenzie J.S., Rossi M., Covington A., Muirhead L. et al. Rapid evaporative ionisation mass spectrometry of electrosurgical vapours for the identification of breast pathology: towards an intelligent knife for breast cancer surgery. *Breast Cancer Research*. 2017;19(1):1–14. DOI: 10.1186/s13058-017-0845-2.
102. Gómez-Ríos G.A., Tascon M., Reyes-Garcés N., Boyacı E., Poole J., Pawliszyn J. Quantitative analysis of biofluid spots by coated blade spray mass spectrometry, a new approach to rapid screening. *Scientific Reports*. 2017;7(1):16104. DOI: 10.1038/s41598-017-16494-z.
103. St. John E.R., Rossi M., Pruski P., Darzi A., Takats Z. Intra-operative tissue identification by mass spectrometric technologies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016;85:2–9. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005623.
104. Shamraeva M.A., Bormotov D.S., Shamarina E.V., Bocharov K.V., Peregodova O.V., Pekov S.I. et al. Spherical sampler probes enhance the robustness of ambient ionization mass spectrometry for rapid drugs screening. *Molecules*. 2022;27(3):945. DOI: 10.3390/molecules27030945.

Информация об авторах

Хмелевская Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, центр биологических исследований и биоинженерии, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, kat.hmelevsk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1776-4149>

Перина Екатерина Александровна – мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, catherineperina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4273-8228>

Буйко Евгений Евгеньевич – мл. науч. сотрудник, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, buykoevgen@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6714-1938>

Уфандеев Александр Анатольевич – мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, ufandeev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3837-1179>

Кайдаш Ольга Александровна – ст. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, kaidash_2011@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8761-7537>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, доцент, руководитель центра доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3326-729X>

Байков Александр Николаевич – д-р мед. наук, профессор, зам. проректора СибГМУ, г. Томск, baikov.an@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0538-9361>

Парочкина Екатерина Владимировна – инженер-исследователь, лаборатория молекулярной медицинской диагностики, Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Москва, shamarina.ev@phystech.edu, <https://orcid.org/0000-0002-8385-6052>

Удуд Елена Владимировна – д-р мед. наук, профессор РАН, зав. центральной научно-исследовательской лабораторией, СибГМУ, г. Томск, udut.ev@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6104-4782>

(✉) **Перина Екатерина Александровна**, catherineperina@gmail.com

Поступила в редакцию 06.12.2023;
одобрена после рецензирования 20.12.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.127-007.61-07:575.224
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-183-189>

Функциональный анализ новой мутации сплайсинга с.2067+2T>G в гене *MYBPC3* при гипертрофической кардиомиопатии

Салахов Р.Р.¹, Голубенко М.В.¹, Скоблов М.Ю.², Савченко Р.¹, Валиахметов Н.Р.¹, Павлюкова Е.Н.³, Назаренко М.С.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики (НИИ МГ), Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
 Россия, 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

² Медико-генетический научный центр (МГНЦ) им. акад. Н.П. Бочкова
 Россия, 115522, г. Москва, ул. Москворечье, 1

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

РЕЗЮМЕ

Цель – исследование патогенного эффекта варианта в сайте сплайсинга *MYBPC3* у пациента с гипертрофической кардиомиопатией.

Материалы и методы. Исследование проведено с использованием образца ДНК пациентки с гипертрофической кардиомиопатией, у которой был выявлен ранее не описанный вариант в донорном сайте сплайсинга интрона 21. Применены методы конструирования и клонирования мини-генов (вектор pSpl3-Flu2-TKdel), трансфекции культуры клеток человека (НЕК293Т), с последующим выделением мРНК, получением кДНК, ПЦР участка мини-гена, содержащего анализируемый фрагмент, электрофореза в агарозном геле, секвенирования по Сэнгеру.

Результаты. Вариант chr11:47339649-A-C (hg38), нарушающий донорный сайт сплайсинга в интроне 21 (NM_000256.3: c.2067+2T>G), был выявлен у пациентки 23 лет с обструктивной формой гипертрофической кардиомиопатии. Для прямого анализа влияния этого варианта на сплайсинг был получен вектор, содержащий экзон 21, интрон 21, экзон 22, частично интроны 20 и 22 *MYBPC3*. Сравнение мРНК, полученных для мини-генов, содержащих или не содержащих исследуемый вариант, показало, что замена chr11:47339649-A-C приводит к пропуску экзона 21 и 22 в процессе сплайсинга.

Заключение. В результате исследования установлена функциональная значимость ранее не описанного варианта с.2067+2T>G в гене *MYBPC3*, приводящего к нарушению механизма сплайсинга мРНК у пациента с гипертрофической кардиомиопатией. Данный вариант может быть классифицирован как патогенный.

Ключевые слова: гипертрофическая кардиомиопатия, *MYBPC3*, мини-гены, сплайсинг

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 № 22-24-01164, <https://rscf.ru/project/22-24-01164/>

Для цитирования: Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Скоблов М.Ю., Савченко Р., Валиахметов Н.Р., Павлюкова Е.Н., Назаренко М.С. Функциональный анализ новой мутации сплайсинга с.2067+2T>G в гене *MYBPC3* при гипертрофической кардиомиопатии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):183–189. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-183-189>.

Functional analysis of a new splicing mutation in the *MYBPC3* gene in hypertrophic cardiomyopathy

Salakhov R.R.¹, Golubenko M.V.¹, Skoblov M.Y.², Savchenko R.R.¹, Valiakhmetov N.R.¹, Pavlyukova E.N.³, Nazarenko M.S.¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences

10, Ushayka Embankment, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Research Center of Medical Genetics

1, Moskvorechye Str., Moscow 115522, Russian Federation

³ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences

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

ABSTRACT

Aim. To study the pathogenic effect in the *MYBPC3* splice-site variant in the patient with hypertrophic cardiomyopathy.

Materials and methods. The study was conducted using a DNA sample obtained from a patient with hypertrophic cardiomyopathy, in whom a previously undescribed variant was identified in the splice donor site of intron 21. The methods used included constructing and cloning of minigenes (vector pSpl3-Flu2-TKdel) and transfection of a human cell culture (HEK293T), followed by isolation of mRNA, production of cDNA, PCR of the minigene region containing the analyzed fragment, agarose gel electrophoresis, and Sanger sequencing.

Results. The chr11:47339649-A-C (hg38) variant, disrupting the splice donor site in intron 21 (NM_000256.3: c.2067+2T>G), was identified in the 23-year-old patient with obstructive hypertrophic cardiomyopathy. To directly analyze the effect of this variant on splicing, a vector containing exon 21, intron 21, exon 22, and partially introns 20 and 22 of the *MYBPC3* gene was obtained. A comparison of mRNAs from the minigenes containing / not containing the variant showed that the chr11:47339649-A-C substitution led to exon 21 and exon 22 skipping during splicing.

Conclusion. The study established the functional significance of the previously undescribed variant c.2067+2T>G in the *MYBPC3* gene, resulting in disruption of the mRNA splicing mechanism in the patient with hypertrophic cardiomyopathy. This variant can be classified as pathogenic.

Keywords: hypertrophic cardiomyopathy, *MYBPC3*, minigene, splicing

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation Grant No. 22-24-01164, <https://rscf.ru/project/22-24-01164/>

For citation: Salakhov R.R., Golubenko M.V., Skoblov M.Y., Savchenko R.R., Valiakhmetov N.R., Pavlyukova E.N., Nazarenko M.S. Functional analysis of a new splicing mutation in the *MYBPC3* gene in hypertrophic cardiomyopathy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):183–189. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-183-189>.

ВВЕДЕНИЕ

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) – самое частое наследственное сердечно-сосудистое заболевание с частотой в популяции 1 : 500 [1], а по некоторым данным – 1 : 200 [2]. Заболевание характеризуется гипертрофией левого желудочка, диастолической дисфункцией, аритмиями и случаями внезапной смерти. Среди причин, лежащих в основе

развития заболевания, выделяют прежде всего мутации генов саркомерных белков [3].

Наиболее частой причиной развития заболевания являются патогенные варианты, обнаруживаемые в гене миозинсвязывающего белка С (*MYBPC3*) [4]. При этом более 60% от общего числа вариантов данного гена являются нонсенс-мутациями и мутациями сплайсинга, что ведет к нонсенс-опосредованной деградации укороченных транскриптов [5].

В течение последних лет неуклонно растет как число выявляемых генетических вариантов, так и число биоинформатических инструментов по предсказанию их патогенности. Однако несмотря на все успехи в развитии алгоритмов предсказания эффекта вариантов *in silico*, классическим подтверждением патогенности варианта остается функциональный анализ с моделированием эффекта на транскрипционном или посттранскрипционном уровне. Согласно рекомендациям по интерпретации вариантов последовательности ДНК [6], функциональные исследования, подтверждающие влияние генетического варианта на структуру и функцию белка или на структуру мРНК, являются одним из решающих критериев для оценки патогенности варианта (критерий категории PS – Pathogenic - Strong).

В тех случаях, когда для изучения эффекта выявленных генетических вариантов на сплайсинг не удается получить мРНК из пораженной ткани пациента с целью проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией (ОТ), для функционального анализа можно использовать систему мини-генов. Она позволяет исследовать эффект варианта, используя геномную ДНК в качестве исходного материала. Данный подход очень удобен для изучения предполагаемых мутаций сплайсинга; существенным преимуществом этого метода является возможность параллельного анализа как варианта, так и последовательности «дикого типа» на идентичной клеточной линии. Данная особенность позволяет исключить влияние эксперимента *in vitro* по отношению к происходящим событиям *in vivo*. Кроме того, использование данного подхода позволяет интерпретировать влияние варианта на сам процесс сплайсинга [7, 8].

В ходе исследования генов саркомерных белков у пациентов с ГКМП нами был выявлен ранее не описанный вариант в каноническом сайте сплайсинга в гене *MYBPC3*, оцененный онлайн-ресурсом VarSome [9] как «вероятно патогенный». Вариант представлял собой замену chr11:47339649-A-C (hg38), нарушающую донорный сайт сплайсинга в экзоне 21 (NM_000256.3: c.2067+2T>G). Вариант был идентифицирован у пациентки 23 лет с признаками обструкции выходного тракта левого желудочка и индексом массы миокарда левого желудочка 144,9 г/м² согласно результатам эхокардиографического обследования. Семейный анамнез пациентки неизвестен. Поскольку вариант c.2067+2T>G не был описан в литературе ранее, цель исследования заключалась в функциональном анализе с помощью мини-генной конструкции для подтверждения его эффекта на сплайсинг мРНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для амплификации и последующего клонирования в векторе геномного фрагмента, содержащего экзоны 21 и 22 гена миозинсвязывающего белка C (*MYBPC3*), и фланкирующие их интронные участки протяженностью не менее 100 пар нуклеотидов (п.н.), были подобраны праймеры с линкерными последовательностями вектора на концах (рис. 1): F: 5'-accagaattctggagctcgagTGACCTGAATATTACAAGCCTCCC-3' и R: 5'-attaaggagtggtattaagcttAGCACACTTCACAGAGACCC-3'.

С помощью этих праймеров указанный регион был амплифицирован из геномной ДНК пациента с использованием набора Q5® High-Fidelity 2X Master Mix (New England Biolabs, США) со следующими условиями ПЦР. Первый шаг: денатурация при 98 °C – 30 с; 2-й шаг (35 циклов): денатурация при 98 °C – 10 с, отжиг праймеров при 60 °C – 15 с, элонгация при 72 °C – 30 с; 3-й шаг: финальная элонгация при 72 °C – 2 мин.

Используемый вектор pSpl3-Flu2-TKdel был подвергнут действию рестриктаз XhoI и HindIII (New England Biolabs, США). ПЦР-продукт и рестрицированный фрагмент плазмиды очищали с помощью набора CleanUp (компания «Евроген», Россия). Далее ПЦР-продукт общей протяженностью 946 п.н. был клонирован в вектор с использованием набора Gibson Assembly® Cloning Kit (New England Biolabs, США), как было описано ранее [10]. Полученные рекомбинантные векторы были трансформированы в культуру клеток NEB® 5-alpha Competent *E. coli* путем химической трансформации согласно протоколу производителя (New England Biolabs, США).

Отбор колоний, содержащих рекомбинантные векторы, проводили путем высевания культуры на чашки Петри, содержащей твердую среду LB с канамицином (маркер селекции, 50 мкг/мл), с последующим пересевом выросших колоний в жидкую среду LB. Из ночной культуры NEB® 5-alpha Competent *E. coli* была выделена плазмидная ДНК. Проверка на наличие вставки, содержащей или не содержащей вариант c.2067+2T>G, проводилась с помощью секвенирования по Сэнгеру.

Клетки HEK293 FT (6 × 10⁵ клеток) высевали в 6-луночный планшет в среде DMEM (НПП «ПанЭко», Россия) с 10%-й средой FBS (Caprico Scientific, Германия) при 37 °C в атмосфере с 5%-м CO₂. Трансфекцию плазмид, несущих мини-генные конструкции, а также «пустых» плазмид проводили в 6-луночных планшетах с использованием реагента Gen Ject-39 (компания «Молекта», Россия) согласно протоколу производителя.

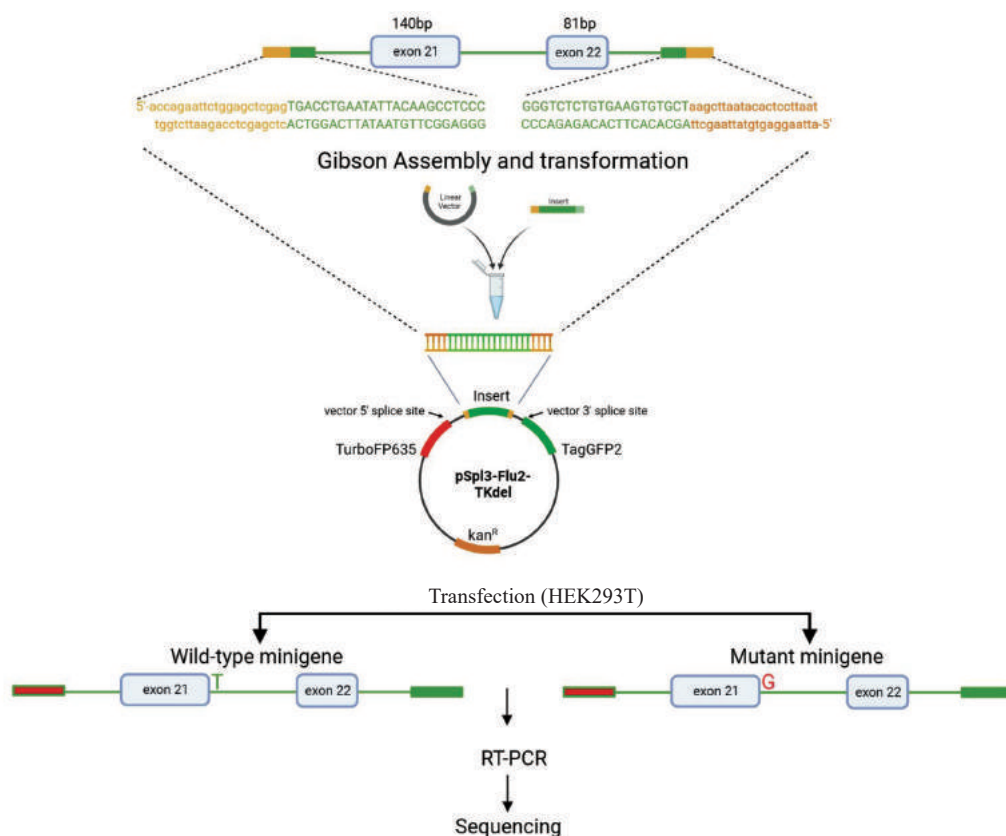


Рис. 1. Схематическое изображение вектора pSpl3-Flu2-TKdel и протокола анализа мини-гена: оранжевые прямоугольники соответствуют векторным интронным последовательностям, ограничивающим вставку; красный и зеленый прямоугольники – экзонным последовательностям вектора; серые прямоугольники – экзонам гена *MYBPC3*, а тонкая зеленая линия – интронным последовательностям

Спустя 48 ч после трансфекции клетки собирали для экстракции общей РНК с использованием набора «Лири» (компания «Биолабмикс», Россия). Полученные образцы РНК использовали для проведения обратной транскрипции с последующей ПЦР с праймерами, фланкирующими мини-генную конструкцию. Визуализацию продуктов ПЦР проводили с помощью 1,5%-го агарозного геля с бромистым этидием.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования нами был сконструирован вектор pSpl3-Flu2-TKdel, содержащий фрагмент гена *MYBPC3*, ограниченный интронами 20 и 22 (chr11:47360694-47361598, hg38) (см. рис. 1). После сборки конструкции и трансформации в *E. coli* нами был проведен скрининг колоний, содержащих вставку дикого типа и вероятно патогенный вариант (рис. 2, а). Далее выделенные плазмиды были трансфицированы в культуру клеток HEK293T. Спустя 2 сут была выделена общая РНК и проведена обратная транскрипция с ДНК-азной обработкой. Далее была поставлена ПЦР с праймерами, подобранными к фланкирующим регионам вектора, кодирующим

флуоресцентные белки (TurboFP365 и TagGFP2).

Электрофорез ПЦР-фрагментов, полученных с использованием кДНК в качестве матрицы, показал, что при наличии варианта с.2067+2T>G длина ПЦР-продукта была на 140 п.н. меньше, чем в случае референсной последовательности в этом участке. При этом в случае «дикого типа» наблюдалось наличие преимущественно транскрипта, содержащего только экзон 21, и небольшое количество транскрипта, содержащего экзоны 21 и 22 (см. рис. 2, b, c). Секвенирование данных продуктов показало, что в случае варианта с.2067+2T>G из мРНК выпадают оба экзона 21 и 22, а два транскрипта, наблюдаемых в случае аллеля с.2067+2T, содержат либо оба экзона, либо только экзон 21 (см. рис. 2, c).

Известно, что на точность и эффективность сплайсинга влияет много факторов: эффективность распознавания сайтов сплайсинга, маскировка сайтов сплайсинга и точек ветвления вторичными структурами РНК, интрон-экзонная архитектура гена, экзонные и интронные сайленсеры и энхансеры сплайсинга [11]. Учитывая, что в мини-ген не вошли полностью интроны 20 и 22, можно предположить,

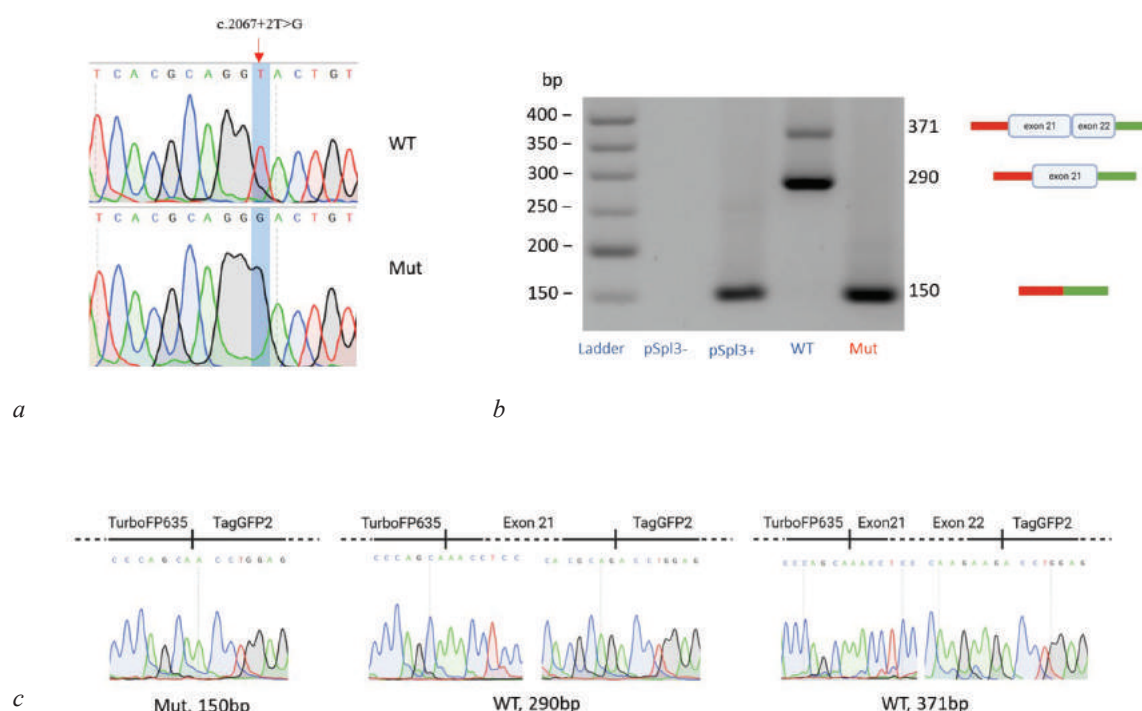


Рис. 2. Анализ варианта c.2067+2T>G гена *MYBPC3*: *a* – результаты секвенирования плазмид на наличие мутантного варианта и варианта дикого типа; *b* – результаты электрофоретического разделения продуктов RT-PCR в линиях клеток HEK293T: линия клеток без плазмид (pSpl3-), линия клеток с пустой плазмидой (pSpl3+), линия клеток с плазмидой, содержащей вариант «дикого типа» (WT), линия клеток с плазмидой содержащей мутантный вариант (Mut); красный и зеленый прямоугольники соответствуют экзонным последовательностям вектора; серый прямоугольник – экзоны гена *MYBPC3*; *c* – результаты секвенирования продуктов RT-PCR полученных из линий, содержащих мутантный вариант и вариант дикого типа

что в этих регионах могут быть расположены энхансеры сплайсинга, влияющие на эффективность вырезания интронов 21, 22 и на сохранение в транскрипте экзона 22.

Таким образом, проведенный эксперимент показал, что изучаемый вариант приводит к потере донорного сайта и пропуску целого экзона 21. Данный факт позволяет отнести вариант c.2067+2T>G к патогенным вариантам, лежащим в основе развития гипертрофической кардиомиопатии, и идентифицировать его как причину развития ГКМП у данного пациента.

Сплайсинг РНК – это посттранскрипционный процесс, направленный на удаление некодирующих последовательностей интронов из исходных транскриптов и соединение экзонов для создания матричной РНК (мРНК). Значительное число патогенных вариантов в гене *MYBPC3* приводит к сдвигу рамки считывания и возникновению преждевременного стоп-кодона в мРНК либо нарушениям сплайсинга и, как следствие, к пропуску отдельных экзонов (и также в некоторых случаях к сдвигу рамки считывания). Также сообщается, что варианты, локализованные в экзонах генов, могут изменять экзонные энхансеры

сплайсинга и также приводить к нарушениям этого процесса [12].

Получающаяся в результате укороченная мРНК подвергается нонсенс-опосредованной деградации, что приводит к гаплонедостаточности (недостаточному количеству белка, синтезированного с одного аллеля) как механизму действия патогенных вариантов в этом гене при развитии ГКМП [13]. Однако недавно было показано, что кардиомиоциты, полученные из плюрипотентных стволовых клеток (iPSC-CM) с LoF-мутациями в гене *MYBPC3*, не всегда демонстрируют снижение содержания миозин-связывающего белка С (MyBP-C) [14]. Аналогичным образом другое исследование показало, что iPSC-CM, содержащие мутации, приводящие к возникновению преждевременного стоп-кодона *MYBPC3*, демонстрируют аномальную передачу сигналов кальция и молекулярную дисрегуляцию даже при нормальном количестве MyBP-C, что вызывает активацию пути нонсенс-опосредованной деградации и в итоге развитие фенотипа ГКМП [15]. Таким образом, сам факт активации этого пути запускает патогенетический механизм развития заболевания для вариантов *MYBPC3*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вариации в канонических сайтах сплайсинга почти всегда приводят к ошибкам сплайсинга. Однако этот тип нарушений должен быть подтвержден изучением последовательности мРНК, поскольку ее структура пока не может быть точно предсказана с использованием методов биоинформатики *in silico* [16–18]. Несмотря на то что некоторые генетические эффекты тканеспецифичны, цис-регуляторные эффекты на сплайсинг обычно присутствуют в различных тканях и типах клеток [19]. Эффекты, которые патогенный вариант сплайсинга может иметь в одной ткани, вероятно, будут очень похожи на эффекты в других тканях. Следовательно, исследования с использованием клеточных линий *in vitro* являются хорошим представлением ситуации *in vivo*. Полученные нами результаты показали, что вариант с.2067+2Т>G в донорном сайте сплайсинга в интроне 21 приводит к пропуску экзона 21 и более того – к пропуску экзона 22, по крайней мере при использовании данной мини-генной конструкции. Таким образом, результаты исследования доказывают патогенный эффект варианта chr11:47339649-A-C (NM_000256.3: с.2067+2Т>G).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Maron B.J., Towbin J.A., Thiene G., Antzelevitch C., Corrado D., Arnett D. et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006;113(14):1807–1816. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.174287.
2. Semsarian C., Ingles J., Maron M.S., Maron B.J. New perspectives on the prevalence of hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015;65(12):1249–1254. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.01.019
3. Ingles J., Goldstein J., Thaxton C., Caleshu C., Corty E.W., Crowley S.B. et al. Evaluating the Clinical validity of hypertrophic cardiomyopathy genes. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2019;12(2):e002460. DOI: 10.1161/CIRCGEN.119.002460.
4. Carrier L. Targeting the population for gene therapy with MYBPC3. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2021;150:101–108. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2020.10.003.
5. Behrens-Gawlik V., Mearini G., Gedicke-Hornung C., Richard P., Carrier L. MYBPC3 in hypertrophic cardiomyopathy: from mutation identification to RNA-based correction. *Pflugers Arch.* 2014;466(2):215–223. DOI: 10.1007/s00424-013-1409-7.
6. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015;17(5):405–424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
7. Gaildrat P., Killian A., Martins A., Tournier I., Frébourg T., Tosi M. Use of splicing reporter minigene assay to evaluate the effect on splicing of unclassified genetic variants. *Methods Mol. Biol.* 2010;653:249–257. DOI: 10.1007/978-1-60761-759-4_15.
8. Desviat L.R., Pérez B., Ugarte M. Minigenes to confirm exon skipping mutations. *Methods Mol. Biol.* 2012;867:37–47. DOI: 10.1007/978-1-61779-767-5_3.
9. Kopanos C., Tsiolkas V., Kouris A., Chapple C.E., Albarca Aguilera M., Meyer R. et al. Var Some: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics*. 2019;35(11):1978–1980. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty897.
10. Filatova A.Y., Vasilyeva T.A., Marakhonov A.V., Voskresenskaya A.A., Zinchenko R.A., Skoblov M.Y. Functional reassessment of PAX6 single nucleotide variants by *in vitro* splicing assay. *Eur. J. Hum. Genet.* 2019;27(3):488–493. DOI: 10.1038/s41431-018-0288-y.
11. Shenasa H., Hertel K.J. Combinatorial regulation of alternative splicing. *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.* 2019;1862(11–12):194392. DOI: 10.1016/j.bbagr.2019.06.003.
12. Baralle D., Baralle M. Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J. Med. Genet.* 2005;42(10):737–748. DOI: 10.1136/jmg.2004.029538.
13. Suay-Corredera C., Pricolo M.R., Herrero-Galán E., Velázquez-Carreras D., Sánchez-Ortiz D., García-Giustiniani D. et al. Protein haploinsufficiency drivers identify MYBPC3 variants that cause hypertrophic cardiomyopathy. *J. Biol. Chem.* 2021;297(1):100854. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.100854.
14. Helms A.S., Tang V.T., O'Leary T.S., Friedline S., Wauchoppe M., Arora A. et al. Effects of MYBPC3 loss-of-function mutations preceding hypertrophic cardiomyopathy. *JCI Insight*. 2020;5(2):e133782. DOI: 10.1172/jci.insight.133782.
15. Seeger T., Shrestha R., Lam C.K., Chen C., McKeithan W.L., Lau E. et al. A Premature termination codon mutation in MYBPC3 causes hypertrophic cardiomyopathy via chronic activation of nonsense-mediated decay. *Circulation*. 2019;139(6):799–811. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034624.
16. Singer E.S., Ingles J., Semsarian C., Bagnall R.D. Key Value of RNA analysis of MYBPC3 splice-site variants in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2019;12(1):e002368. DOI: 10.1161/CIRCGEN.118.002368.
17. Lopes L.R., Barbosa P., Torrado M., Quinn E., Merino A., Ochoa J.P. et al. Cryptic splice-altering variants in MYBPC3 are a prevalent cause of hypertrophic cardiomyopathy. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2020;13(3):e002905. DOI: 10.1161/CIRCGEN.120.002905.
18. Torrado M., Maneiro E., Lamounier Junior A., Fernández-Burriel M., Sánchez Giralte S., Martínez-Carapeto A. et al. Identification of an elusive spliceogenic MYBPC3 variant in an otherwise genotype-negative hypertrophic cardiomyopathy pedigree. *Sci. Rep.* 2022;12(1):7284. DOI: 10.1038/s41598-022-11159-y.
19. GTEx Consortium. The GTEx Consortium atlas of genetic regulatory effects across human tissues. *Science*. 2020;369(6509):1318–1330. DOI: 10.1126/science.aaz1776.

Информация об авторах

Салахов Рамиль Ринатович – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ МГ, Томский НИМЦ, г. Томск, ramil.salakhov@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9789-9555>

Голубенко Мария Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ МГ, Томский НИМЦ, г. Томск, maria-golubenko@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7692-9954>

Скоблов Михаил Юрьевич – канд. биол. наук, зав. лабораторией функциональной геномики, МГНЦ им. акад. Н.П. Бочкова, г. Москва, miskoblov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7293-3438>

Савченко Рената – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория геномики орфанных болезней, НИИ МГ, Томский НИМЦ, г. Томск, renata.savchenko@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3839-3543>

Валиахметов Наиль Раушанович – мл. науч. сотрудник, лаборатория геномики орфанных болезней, НИИ МГ, Томский НИМЦ, г. Томск, valiakhmetov.nail@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7969-7020>

Павлюкова Елена Николаевна – д-р мед. наук, профессор, зав. отделением атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, pavluk@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3081-9477>

Назаренко Мария Сергеевна – д-р мед. наук, руководитель лаборатории популяционной генетики, НИИ МГ, Томский НИМЦ, г. Томск, maria.nazarenko@medgenetics.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0673-4094>

(✉) **Салахов Рамиль Ринатович**, ramil.salakhov@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 17.11.2023;
одобрена после рецензирования 04.12.2023;
принята к публикации 26.12.2023

УДК 616.24/.56-003.2-008.6/.8-056.7:575.224
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-7-14>

Особенности течения муковисцидоза при сочетании *Mycobacterium abscessus* и *Mycobacterium tuberculosis* (клиническое наблюдение)

Филинчук О.В.¹, Крук Е.А.², Тетенева А.В.^{1,3}, Логинова Ю.А.¹, Костякова Е.П.¹,
Беспалова И.Д.¹, Тетенев К.Ф.¹, Карзилов А.И.¹, Мишустина Е.Л.¹

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

² Томский фтизиопульмонологический медицинский центр (ТФМЦ)
Россия, 634050, г. Томск, ул. Розы Люксембург, 17

³ Медико-санитарная часть № 2
Россия, 634063, г. Томск, ул. Бела Куна, 3

РЕЗЮМЕ

Представлено клиническое наблюдение, описывающее случай благоприятного клинического течения микобактериоза и туберкулеза легких, вызванных микст-инфекцией *M. abscessus* и *M. tuberculosis* у пациентки с легочными проявлениями кистозного фиброза (муковисцидоза) через 1 год после родоразрешения. Данный результат лечения был достигнут с помощью своевременной диагностики, начатому лечению туберкулеза и микобактериоза легких у пациентки с кистозным фиброзом (муковисцидозом). Благодаря развитию в Томской области микробиологической видовой идентификации микобактерий, был верифицирован микобактериоз легких, что еще в недавнем прошлом было проблематично, и все случаи с положительной микроскопией были отнесены к туберкулезу.

Ключевые слова: кистозный фиброз (муковисцидоз), нетуберкулезные микобактерии, *M. abscessus*, туберкулез легких, *M. tuberculosis*, микст-инфекция

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: Филинчук О.В., Крук Е.А., Тетенева А.В., Логинова Ю.А., Костякова Е.П., Беспалова И.Д., Тетенев К.Ф., Карзилов А.И., Мишустина Е.Л. Особенности течения муковисцидоза при сочетании *Mycobacterium abscessus* и *Mycobacterium tuberculosis* (клиническое наблюдение). *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(2):190–198. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-190-198>.

Features of cystic fibrosis development in a patient with coinfection by *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium tuberculosis* (clinical case report)

Filinyuk O.V.¹, Kruk E.A.², Teteneva A.V.^{1,3}, Loginova Yu.A.¹, Kostoyakova E.P.¹,
Bespalova I.D.¹, Tetenev K.F.¹, Karzilov A.I.¹, Mishustina E.L.¹

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

✉ Филинчук Ольга Владимировна, filinyuk.olga@yandex.ru

² Tomsk Phthisiopulmonology Medical Center
17, Rose Luxemburg Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Primary Healthcare Unit No. 2
3, Bela Kuna Str., Tomsk, 634063, Russian Federation

ABSTRACT

The article presents a clinical case describing a favorable clinical outcome of mycobacterial infection and pulmonary tuberculosis caused by coinfection of *M. abscessus* and *M. tuberculosis* in a patient with pulmonary manifestations of cystic fibrosis one year after delivery. This outcome was achieved due to timely diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infection in the patient with cystic fibrosis. Due to the development of molecular identification of mycobacteria species in the Tomsk region, mycobacterial lung disease was verified, which was challenging in the recent past. Previously, all cases with microscopic examination results positive for mycobacteria were classified as tuberculosis.

Keywords: cystic fibrosis, nontuberculous mycobacteria, *M. abscessus*, pulmonary tuberculosis, *M. tuberculosis*, coinfection

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

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

For citation: Filinyuk O.V., Kruk E.A., Teteneva A.V., Loginova Yu.A., Kostoyakova E.P., Bespalova I.D., Tetenev K.F., Karzlov A.I., Mishustina E.L. Features of cystic fibrosis development in a patient with coinfection by *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium tuberculosis* (clinical case report). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(2):190–198. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-190-198>.

ВВЕДЕНИЕ

В 1953 г. у пациента из абсцесса мягких тканей, который возник после травмы коленного сустава, были выделены крайне редко встречаемые в то время условно-патогенные микроорганизмы *Mycobacterium abscessus* – быстрорастущие нетуберкулезные микобактерии (НТМБ), естественной средой которых являются почва и вода [1, 2]. Из-за наличия одинаковых биохимических свойств до 1992 г. они были объединены в один вид с *Mycobacterium chelonae*, который вызывает микобактериоз мягких тканей рыб. В последующем после геномного анализа вид *M. abscessus* был разделен на три подвида, объединенные в комплекс MABSc: *M. abscessus* subsp. *abscessus*, *M. abscessus* subsp. *massiliense*, *M. abscessus* subsp. *bolletii*. У данных микроорганизмов наблюдается единая последовательность гена 16S рРНК, но есть различия в специфических генах, в частности имеющих большое клиническое значение по резистентности к макролидам (гена *erm41*) [3].

В настоящее время, по данным зарубежных источников, нетуберкулезные микобактерии комплекса MABSc являются вторыми по частоте выделения их у больных с различными хроническими заболеваниями легких после представителей комплекса *M. avium* и первыми среди всех быстрорастущих микобактерий [4]. Результаты исследований, проведенных в нашей стране, аналогично показывают, что у

пациентов, находящихся на дифференциальной диагностике в специализированных противотуберкулезных учреждениях, из быстрорастущих микобактерий чаще всего выделяются *M. abscessus* [5–8]. При этом внутривидовая дифференциация *M. abscessus* показывает, что доминирует в нашей стране подвид *M. abscessus* subsp. *abscessus* (до 70%), на втором месте по частоте выявления – подвид *M. abscessus* subsp. *massiliense* (27%), а *M. abscessus* subsp. *bolletii* фактически не встречается [9]. В клинической практике в основном высокому риску инфицирования MABSc подвержены пациенты, находящиеся на иммуносупрессивной терапии: реципиенты трансплантатов паренхиматозных органов и больные, получающие глюкокортикостероидную и цитостатическую терапию по различным причинам [2, 10–12].

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Представляем клинический случай совместного течения микобактериоза и туберкулеза легких у пациентки с муковисцидозом. Собственно, мы сообщаем о дальнейшей медицинской судьбе женщины, у которой наблюдались непростые клинические особенности течения муковисцидоза на фоне беременности и родов, описанные ранее [13].

Напомним краткий анамнез. У пациентки 1997 г. рождения с семейным муковисцидозом (больна еще сестра) симптомы основного заболевания появились с 1,5-месячного возраста, диагноз верифицирован

почти в 5 лет (хлориды пота – 119 мэкв/л). В 14-летнем возрасте по поводу сформировавшихся бронхоэктазов в S 8–10 справа была проведена нижнедолевая торакоскопическая лобэктомия. В 2017 г. по поводу хронического вазомоторного ринита в стадии вазодилатации было еще одно оперативное вмешательство – подслизистая вазотомия нижних носовых раковин. Беременность одна, роды одни. Проживает в благоустроенной квартире с родителями, мужем и годовалым ребенком. Курение, употребление алкоголя и наркотических средств отрицает.

Постоянно наблюдается в НИИ медицинской генетики с диагнозом: муковисцидоз, смешанная форма (легочно-кишечная), среднетяжелое, непрерывно-рецидивирующее течение. Компауд-гетерозигота по *Dele 2,3/E92,K*. Хроническая панкреатическая недостаточность, тяжелое течение. По основному заболеванию – инвалид 3-й группы бессрочно. Получает базовую терапию: пульмозим (тигераза) по 1 ампуле в день через небулайзер; брамитоб 300 мг 2 раза в день через небулайзер курсами 28 дней прием, 28 дней перерыв или в подобной схеме колистин 80 мг 2 раза в день; креон 25 000 ЕД (из расчета 6000 ЕД/кг массы тела) по 10 капсул в день во время еды; урсосфальк 250 мг по 5 таблеток в день (по 3 таблетки в обед после еды и по 2 таблетки на ночь); периодически – бронхитол по 400 мг 2 раза в день. Два раза в год находится на плановых госпитализациях в пульмонологических отделениях, если необходимо, при обострении бронхолегочной инфекции – госпитализируется экстренно.

С 20.05.2021 пациентка находилась на очередной плановой госпитализации в пульмонологическом отделении городской клинической больницы № 3 г. Томска. Беспокоил постоянный кашель с выделением небольшого количества мокроты желтого цвета, повышение температуры тела до 38,0 °С. Аускультативно в легких отмечались влажные хрипы, в общем анализе крови наблюдался умеренный лейкоцитоз ($11,8 \times 10^9/\text{л}$), в мокроте высеялись *Staphylococcus aureus* с чувствительностью к меропенему, эртапенему и имипенему. На фоне антибактериальной терапии была установлена отрицательная динамика в виде нарастания симптомов интоксикации и лейкоцитоза. Очагово-инфильтративные изменения в легочной паренхиме вокруг бронхоэктазов, определяемые на рентгенограмме легких, при поступлении были без существенной динамики. По принятым в клинической практике алгоритмам обследования больных с хроническими легочными заболеваниями мокрота пациентки была перенаправлена в Томский фтизиопульмонологический центр (ТФМЦ) для исследования на туберкулез молекулярно-ге-

нетическими методами. Методом Gene Xpert были обнаружены микобактерии туберкулеза (МБТ) с сохраненной чувствительностью к рифампицину. Для дальнейшего дообследования и лечения 28.05.2021 была переведена в ТФМЦ в отделение для больных туберкулезом органов дыхания.

При поступлении в ТФМЦ наблюдалось состояние средней степени тяжести, одышка при физической нагрузке, кашель с отхождением мокроты слизисто-гнойного характера. Артериальное давление 94/63 мм рт. ст., пульс 118 в минуту, температура 36,4 °С, сатурация 99%. В сознании, адекватна. Кожные покровы бледные, нормальной влажности. Телосложение гипостеничное, подкожно-жировой слой развит слабо. Слизистые чистые, розовые. Периферические лимфатические узлы не пальпируются. Тоны сердца ясные ритмичные. Грудная клетка правильной формы, дыхание жесткое, множественные влажные мелкопузырчатые хрипы, частота дыхательных движений 18 в минуту. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Печень не увеличена. Пузырные симптомы отрицательные. Селезенка, почки не пальпируются. Периферических отеков нет. Стул 2-кратный жидкий без патологических примесей обычного цвета, диурез в норме.

Данные лабораторных и инструментальных обследований при поступлении. Общий анализ крови: гемоглобин – 107 г/л, эритроциты – $4,64 \times 10^{12}/\text{л}$, лейкоциты – $5,09 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилы 30%, лимфоциты 62%, моноциты 8%. Скорость оседания эритроцитов – 5 мм/ч. Биохимические показатели крови: общий белок 72,5 г/л; альбумин 40,4 г/л; аланинаминотрансфераза – 7,1 Е/л; аспартатаминотрансфераза – 17,8 Е/л; креатинин – 75,8 мкмоль/л; мочевины – 2,9 ммоль/л; глюкоза крови натощак – 5,1 ммоль/л; амилаза 35,8 ед/л; щелочная фосфатаза 262,6 ед/л. Результаты анализов крови на вирус иммунодефицита человека, гепатиты В и С – отрицательные. Общий анализ мочи: цвет светло-желтый, относительная плотность 1015, pH 6, белок, глюкоза – отрицательно, эпителий – 1–2, лейкоциты 2–4, эритроциты 1–2. Спирометрия: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ) – 3,53 (70,24%); объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) – 2,87 (67,79%); ОФВ1/ФЖЕЛ – 79,4 (96%). Заключение: умеренные нарушения вентиляционной функции легких по обструктивному типу 1-й степени. Электрокардиограмма: положение электрической оси сердца вертикальное, ритм синусовый, частота сердечных сокращений – 112 ударов в минуту.

Анализ мокроты от 31.05.2021. Метод люминесцентной микроскопии – кислотоустойчивые микроорганизмы (КУМ) (+++). Методом полимеразной цепной реакции обнаружена ДНК МБТ (чувствитель-

ность к изониазиду и рифампицину сохранена), методом посева на жидкие питательные среды (ВАСТЕС MGIT 960) выявлен рост МБТ, чувствительность к препаратам первого ряда сохранена. Посев мокроты на плотные среды – сплошной рост МБТ (+++), чувствительность к изониазиду, рифампицину, стрептомицину, этамбутолу, канамицину (соответственно HRSE Km) сохранена. При культивировании на жидких, а затем на плотных средах были обнаружены нетуберкулезные микобактерии, которые в двух пробах были идентифицированы как *M. abscessus* subsp. *abscessus*. Видовое типирование проводилось в Новосибирском научно-исследовательском институте туберкулеза методами ДНК-гибридизации на стрипах/время пролетной масс-спектрометрии.

На компьютерной томограмме (КТ) от 28.05.2021 в обоих легких наблюдаются разнокалиберные очаги инфильтративного характера со склонностью к сли-

янию в участки консолидации, в нижнемедиальной части правого легкого – участок консолидации размером 45×35 мм с признаками уменьшения объема и тракционными бронхоэктазами (рис. 1). В наддиафрагмальной зоне левого легкого в S 8, 9, 10 – сливные очаги и участки консолидации аналогичного характера с частично сохраненной бронхиальной проходимостью и тракционными бронхоэктазами. В S5 – субплевральный участок консолидации с признаками уменьшения объема и цилиндрическими тракционными бронхоэктазами. Отдельными группами определяются цилиндрические и мешотчатые бронхоэктазы в верхних отделах обоих легких больше справа. Заключение: очаговая диссеминация легких, признаки двусторонней полисегментарной пневмонии, участки локального пневмосклероза в базальных отделах обоих легких; бронхоэктазы обоих легких.

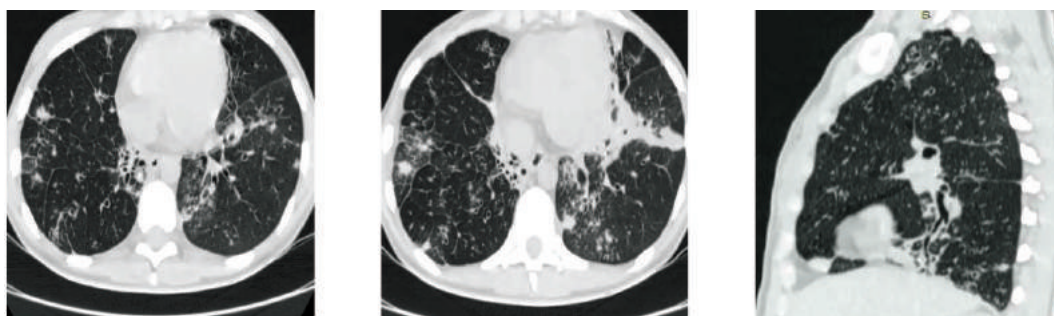


Рис. 1. КТ органов грудной клетки (28.05.2021): признаки очаговой диссеминации с консолидацией вокруг бронхоэктазов на фоне умеренного пневмофиброза

Пациентка была взята на учет в 1-ю группу диспансерного наблюдения с диагнозом: диссеминированный туберкулез легких, фаза инфильтрации, МБТ (+). Вначале было назначено лечение по режиму лекарственно-чувствительного туберкулеза в суточной дозировке лекарственных средств согласно массе тела (Н 0,6; R 0,6; Z 2,0; E 1,2) с усилением схемы левофлоксацином (Lfx) 1,0. После идентификации НТМБ в схему лечения был добавлен кларитромицин 1,0.

Во время лечения у пациентки развились неблагоприятные побочные реакции на пиразинамид – боли в суставах (купировались назначением нестероидных противовоспалительных средств), на этамбутол – снижение остроты зрения (отменен). В дальнейшем на созданную терапию наблюдалась положительная клиническая и рентгенологическая динамика в виде уменьшения (рассасывания) очаговых теней и участков консолидаций (рис. 2).

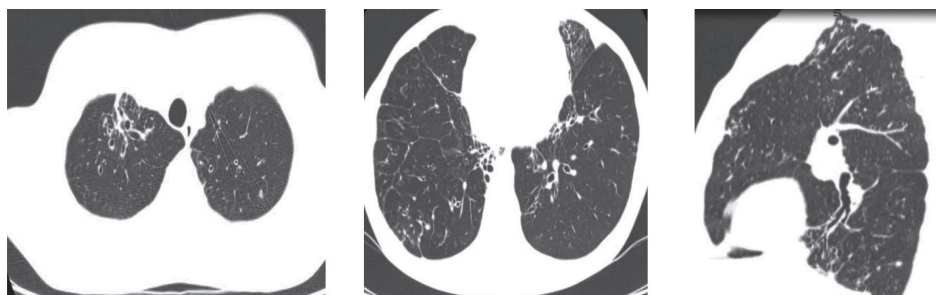


Рис. 2. КТ органов грудной клетки (30.07.2021): в сравнении с КТ-исследованием от 28.05.2021 отмечается улучшение пневматизации легочной ткани в нижней доле левого легкого ввиду уменьшения количества очаговых теней, площади консолидации и уменьшения выраженности интерстициального компонента воспаления

Данные микробиологических анализов в динамике: положительные посевы на МБТ сохранялись 8 мес до февраля 2022 г., положительные посевы на НТМБ сохранялись 12 мес до мая 2022 г. Была снята с учета в сентябре 2022 г. Общий курс лечения составил 12 мес. Летом 2023 г. был рецидив бронхолегочной инфекции, обусловленной *Klebsiella pneumoniae*, в диагностическом титре 10^5 . Была обследована, в том числе на рецидив туберкулеза и микобактериоза, данных не получено. В настоящее время состояние пациентки удовлетворительное, находится под наблюдением врача-пульмонолога, продолжает лечение муковисцидоза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Среди хронических заболеваний легких предрасполагающими факторами к развитию микобактериозов, вызванных MABSc, относятся бронхоэктатическая болезнь легких, муковисцидоз (кистозный фиброз), хроническая обструктивная болезнь легких, первичная цилиарная дискинезия, аллергический бронхолегочный аспергиллез, дефицит α -1-антитрипсина, пневмокониоз, интерстициальная болезнь легких, легочный альвеолярный протеиноз, а также пациенты с нозологиями, требующими частых хирургических вмешательств, пункций, инъекций, протезирования [6–9, 12, 14, 15]. Симптомы данной легочной патологии неспецифичны, скрываются под маской хронических инфекций другой этиологии, в том числе туберкулеза. В клинических исследованиях показано, что до установления диагноза микобактериоза легких, вызванного *M. abscessus*, пациенты в трети случаев имеют другие виды НТМБ, в половине случаев перенесли ранее туберкулез легких.

По данным КТ органов грудной клетки, в более 50% случаев определялись бронхоэктазии, одиночные или множественные полости деструкции, у каждого третьего выявлялась диссеминация. Почти в 70% в мокроте определялись КУМ [16]. Помимо легких *M. abscessus* также могут вызывать внелегочные инфекции центральной нервной системы, кожи, мягких тканей, костей, суставов, лимфатических узлов, других паренхиматозных органов, а также генерализованные диссеминированные процессы.

По имеющимся данным, микобактерии комплекса MABSc обладают многочисленными факторами вирулентности, начиная от ранних стадий колонизации до внутриклеточной персистенции, которые позволяют фактически отнести подвиды *M. abscessus* к истинным патогенам, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом. Гидрофобность клеточной стенки микобактерий способствует прочному прилипанию их к различным поверхностям с формирова-

нием биопленок, которые обеспечивают высокую колонизацию в природных (водоемы) и искусственных резервуарах инфекции, таких как различные системы водообеспечения в быту и учреждениях здравоохранения, например на медицинских изделиях, хирургических инструментах или устройствах, диализных и других аппаратах [12, 14, 15].

Важной особенностью MABSc, играющей ключевую роль во внутриклеточном выживании микроорганизмов, является высокое содержание липидов и восков в клеточной стенке (гликопептидолипидов, GPL) – до 60% от сухого веса. Гликопептидолипиды *M. abscessus*, подобно другим вирулентным микобактериям, формируют корд-фактор и склеивают микроорганизмы между собой в виде кос и жгутов, минуя процессы переваривания [17]. Этому способствует развитая сеть экспрессии транспортных белков (31) липидных метаболитов для биосинтеза GPL клеточной стенки (MmpL и MmpS). Последние являются, как известно, факторами вирулентности у медленно растущих микобактерий, таких как *M. tuberculosis* и *M. bovis*, строгих патогенов для человека и животных [18].

Кроме ингибции процессов фагоцитоза, высокоиммуногенный GPL микобактерий комплекса MABSc сдвигает эффективную инициацию клеточного адаптивного иммунитета в сторону усиления гуморального ответа, что приводит у инфицированных людей к усилению апоптоза, внеклеточной репликации микроорганизмов и развитию острых воспалений и повреждений тканей с формированием абсцессов [19]. Доказано, что MABSc обладают целым набором генов (в частности, *GroEL-ES*, *hsp*, *ESX-4*, *EsxU* и *EsxT*), ответственных за выживание микроорганизмов внутри макрофагов. Их функциональная экспрессия позволяет им избежать внутриклеточных кислород-зависимых процессов уничтожения, таких как тепловой шок или окислительный стресс, переключаться на фенотип более медленного роста, используя в качестве энергии различные источники, например жирные кислоты [20, 21].

Уникальность *M. abscessus* с точки зрения ее патофизиологических процессов подтверждается (помимо слабой проницаемости клеточной стенки) наличием эффлюксных насосов, способных выводить лекарства, а также ферментов, модифицирующих как антибактериальные средства, так и их мишени (таблица).

По имеющимся данным, с тех пор как в 2009 г. был расшифрован геном *M. abscessus*, данный возбудитель микобактериозов обладает широким спектром природной лекарственной устойчивости к антибиотикам.

Биологические детерминанты лекарственной устойчивости <i>M. abscessus</i>	
Факторы естественной или приобретенной лекарственной устойчивости (ферменты или мутации)	Антибактериальная резистентность
Рифампицин-АДФ-рибозилтрансфераза	Устойчивость к рифампицину
Рифампицин-АДФ-монооксигеназа	Устойчивость к рифампицину
Рифампицин-гликозилтрансфераза	Устойчивость к рифампицину
Аминогликозид-2-N-ацетилтрансфераза	Устойчивость к аминогликозидам
Аминогликозид-2-N-фосфотрансферазы	Устойчивость к аминогликозидам
β -лактамаза	Устойчивость к β -лактамам, включая цефалоспорины и карбапенемы
Флавиномоноксигеназа	Устойчивость к тетрациклинам
Наличие гена <i>erm41</i> у <i>M. abscessus</i> subsp. <i>Abscessus</i> , <i>M. abscessus</i> subsp. <i>bolletii</i> (нет у <i>M. abscessus</i> subsp. <i>massiliense</i>)	Устойчивость к макролидам
Индукцированные мутации в гене <i>23S pPHK</i> через функциональный ген <i>erm41</i>	Приобретенная устойчивость к макролидам (кларитромицин индуцирует <i>erm41</i> в значительно большей степени, чем азитромицин)
Индукцированные мутации в гене <i>16S pPHK</i>	Устойчивость к аминогликозидам (амикацину, канамицину и гентамицину)
Индукцированные мутации в гене <i>embB</i>	Устойчивость к этамбутолу
Мутации в областях, определяющих устойчивость к хинолонам (QRDR, gyr A, gyr B)	Устойчивость к фторхинолонам

С учетом его высокой мутагенной активности, приводящей к формированию вторичной резистентности, данное заболевание для клиницистов является «неизлечимым кошмаром» с низкой эффективностью лечения (менее 50%) у большинства больных даже после комбинации 4-5 антибактериальных препаратов в течение многомесячной терапии [21, 22]. *M. abscessus* обладает естественной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам первого ряда, таким как HRZE. Кроме того, *M. abscessus* устойчив к основным противомикробным препаратам, применяемым при респираторных инфекциях, таким как β -лактамы, аминогликозиды (гентамицин), циклины (доксциклин), сульфаниламиды и макролиды (эритромицин), также проявляется индуцируемая или мутационная устойчивость к фторхинолонам [2, 23].

Как известно, пациенты с муковисцидозом высоко восприимчивы к бактериальным и микотическим инфекциям, чаще всего вызванным *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, комплексом *Burkholderia cepacia*, НТМБ [15, 24]. При этом передача инфекции, вызванной микобактериями комплекса MABSc, может осуществляться от человека к человеку [25]. Механизмы восприимчивости к данным инфекциям у пациентов с муковисцидозом объясняются патогенезом заболевания, где из-за мутации гена *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) изменяется транспорт электролитов между клеткой и межклеточной жидкостью. Это ведет к образованию густой вязкой мокроты, вторичной цилиарной дисфункции слизистой бронхов и неспособности к эффективной элиминации микроорганизмов из секрета бронхов.

Кроме того, у пациентов с муковисцидозом наблюдаются также дисфункция макрофагов, приводящая к нарушению фагоцитоза, чрезмерная продукция медиаторов воспаления. Также все больше накапливается научных доказательств об определенной предрасположенности данных больных к инфекции, вызванной *M. abscessus* [2, 9, 14, 15, 26]. Типичная схема лечения включает интенсивную терапию с использованием 2 и более парентеральных антибиотиков (варианты выбора включают амикацин, имипенем, тигециклин) в течение 6–8 нед с последующей поддерживающей терапией клофазимидом и ингаляционным амикацином с азитромицином или без него (с учетом его иммуномодулирующего действия) [27].

В отличие от микобактериоза туберкулез легких потенциально возможен, но встречается у единиц больных муковисцидозом. Данные, полученные из российских и французских центров муковисцидоза, сообщают об 11 случаях (8 – в России, 3 – во Франции) сочетания туберкулеза легких и муковисцидоза. Примечательно, что ни в одном из описанных случаев диагноз не был основан на клинических и рентгенологических симптомах, а только на бактериологическом обследовании мокроты. Причем у российских пациентов почти в половине случаев была положительная микроскопия и определялась множественная лекарственная устойчивость возбудителя [28].

Одновременное обнаружение микобактерий туберкулезного комплекса (МБТК) и НТМБ в культурах микобактерий встречается нечасто, этому вопросу посвящено лишь несколько публикаций. Одно

из последних зарубежных исследований в Южной Корее определило, что из 6 201 образца культуры – 2 456 (59,0%) были идентифицированы как МБТК, 2 456 (39,6%) как НТМБ и только 86 (1,4%) – как смешанные. При этом в последних образцах в равных долях совместно с *M. tuberculosis* определялись *M. intraculturale* (29,0%) и *M. abscessus* (29,0%) [29]. Российские данные аналогичные. У 5 531 больного, выделяющего микобактерии, обнаружение *M. tuberculosis* было в 3 829 (69,2%) образцах культур микобактерий и в 1 638 (29,6%) – НТМБ. В 64 случаях (1,2%) были обнаружены смешанные популяции, из них у четырех (6,2%) – *M. tuberculosis* + *M. abscessus* [30]. Детальной информации по пациентам, выделяющим смешанные микобактериальные культуры, не опубликовано.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На клиническом примере продемонстрировано благоприятное клиническое течение микобактериоза и туберкулеза легких, вызванных микст-инфекцией *M. abscessus* и *M. tuberculosis* у пациентки с легочными проявлениями кистозного фиброза (муковисцидоза) через год после родоразрешения. В имеющихся публикациях нашелся только один случай подобного сочетания микобактерий у иммунокомпетентного больного без кистозного фиброза, благоприятный исход у которого бы определен только после пульмонэктомии [31].

Необходимо отметить в нашем случае об оправданном соблюдении алгоритма диагностики туберкулеза у пациентов с хроническими инфекционными процессами в легких. Развивающаяся в регионах микробиологическая видовая идентификация микобактерий позволяет верифицировать заболевание микобактериозом легких, что еще в недавнем прошлом было проблематично, и все случаи с положительной микроскопией были отнесены к туберкулезу. Несмотря на то что лекарственная чувствительная НТМБ не была определена, эффективная терапия позволяет заключить, что *M. abscessus subsp. abscessus* были чувствительны к макролидам (кларитромицин). Обращают на себя внимание длительные сроки прекращения бактериовыделения: МБТ – 8 мес лечения, НТМБ – 12 мес.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Moore M., Frerichs J.B. An unusual acid-fast infection of the knee with subcutaneous, abscess-like lesions of the gluteal region; report of a case with a study of the organism, *Mycobacterium abscessus*, n. sp. *J. Invest. Dermatol.* 1953;20(2):133–169. DOI: 10.1038/jid.1953.18. PMID: 13035193.
- Abdelaal H.F.M., Chan E.D., Young L., Baldwin S.L., Coler R.N. *Mycobacterium abscessus*: It's Complex. *Microorganisms.* 2022;10(7):1454. DOI: 10.3390/microorganisms10071454.
- Nakanaga K., Sekizuka T., Fukano H., Sakakibara Y., Takeuchi F., Wada S. et al. Discrimination of *Mycobacterium abscessus subsp. massiliense* from *Mycobacterium abscessus subsp. abscessus* in clinical isolates by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2014;52(1):251–259. DOI: 10.1128/JCM.01327-13.
- Prevots D.R., Marshall J.E., Dirk W., Kozo M. Global Epidemiology of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: A Review. *Clinics in Chest Medicine.* 2023;44(4):675–721. DOI: 10.1016/j.ccm.2023.08.012.
- Dahl V.N., Mølhave M., Fløe A., van Ingen J., Schön T., Lillebaek T. et al. Global trends of pulmonary infections with nontuberculous mycobacteria: a systematic review. *Int. J. Infect. Dis.* 2022;125:120–131. DOI: 10.1016/j.ijid.2022.10.013.
- Карпина Н.Л., Егорова А.Д., Чесалина Я.О., Шабалина И.Ю., Эргешов А.Э. Аспекты этапной диагностики микобактериоза легких в реальной клинической практике. *Туберкулез и болезни легких.* 2023;101(2):30–37. DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-2-30-37.
- Старкова Д.А., Журавлев В.Ю., Вязовая А.А., Соловьева Н.С., Куликова О.Н., Нарвская О.В. Видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий у больных микобактериозом на территориях Северо-Западного федерального округа России. *Туберкулез и болезни легких.* 2019;97(6):16–22. DOI: 10.21292/2075-1230-2019-97-6-16-22.
- Калимулина К.Р., Исмагуллин Д.Д., Лямин А.В., Кондратенко О.В., Козлов А.В., Жестков А.В. Представители *Mycobacterium abscessus complex* у пациентов с бронхолегочной патологией: распространенность, особенности культивирования и идентификации. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2020;65(5):316–320. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-5-316-320.
- Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н., Варламов Д.А., Сочивко Д.Г., Эргешов А.Э. Внутривидовое разнообразие *Mycobacterium abscessus*, выделенных от пациентов с поражением легких. *Туберкулез и болезни легких.* 2023;101(4) 40–45. DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-4-40-45.
- Abad C.L., Razonable R.R. Non-tuberculous mycobacterial infections in solid organ transplant recipients: An update. *J. Clin. Tuberc. Other Mycobact. Dis.* 2016;(4):1–8. DOI: 10.1016/j.jctube.2016.04.001.
- Ebisu Y., Natori Y., Rosello G., Anjan S., Simkins J., Camargo J.F. et al. *Mycobacterium abscessus* infections in solid organ transplant recipients: single-center experience in the United States, 2013–2018. *Open Forum Infectious Diseases.* 2022;9(7):254. DOI: 10.1093/ofid/ofac254.
- Касимова А.Р., Кочиш А.А., Гордина Е.М., Артюх В.А., Рукина А.Н., Божкова С.А. *Mycobacterium abscessus* как возбудитель перипротезной инфекции. *Гений ортопедии.* 2023;29(5):557–564. DOI: 10.18019/1028-4427-2023-29-5-557-564.
- Тетенева А.В., Чернявская Г.М., Беспалова И.Д., Скороходова Т.В., Кошавцева Ю.И., Радионов Д.И. и др. Клинические особенности течения муковисцидоза на фоне беременности и родов. *Бюллетень сибирской медицины.* 2022;21(4):205–211. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-4-205-211.

14. Degiacomi G., Sammartino J.C., Chiarelli L.R., Riabova O., Makarov V., Pasca M.R. *Mycobacterium abscessus*, an emerging and worrisome pathogen among cystic fibrosis patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(23):5868. DOI: 10.3390/ijms20235868.
15. Loebinger M.R., Quint J.K., van der Laan R., Obradovic M., Chawla R., Kishore A. et al. Risk Factors for Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Chest.* 2023;164(5):1115–1124. DOI: 10.1016/j.chest.2023.06.014.
16. Park J., Yoon S.H., Kim J.Y., Gu K.M., Kwak N., Yim J.J. Radiographic severity and treatment outcome of *Mycobacterium abscessus* complex pulmonary disease. *Respir. Med.* 2021;187:106549. DOI: 10.1016/j.rmed.2021.106549.
17. Sánchez-Chardi A., Olivares F., Byrd T.F., Julián E., Brambilla C., Luquin M. Demonstration of cord formation by rough *Mycobacterium abscessus* variants: implications for the clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 2011;49(6):2293–2295. DOI: 10.1128/JCM.02322-10.
18. Lagune M., Kremer L., Herrmann J.L. *Mycobacterium abscessus*, a complex of three fast-growing subspecies sharing virulence traits with slow-growing mycobacteria. *Clin. Microbiol. Infect.* 2023:S1198-743X(23)00485-8. DOI: 10.1016/j.cmi.2023.08.036.
19. Gutiérrez A.V., Viljoen A., Ghigo E., Herrmann J.L., Kremer L. Glycopeptidolipids, a double-edged sword of the *Mycobacterium abscessus* complex. *Front. Microbiol.* 2018;(9):1145. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01145.
20. Dubois V., Pawlik A., Bories A., Le Moigne V., Sismeiro O., Legendre R. et al. *Mycobacterium abscessus* virulence traits unraveled by transcriptomic profiling in amoeba and macrophages. *PLoS Pathog.* 2019;15(11):e1008069. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008069.
21. Lagune M., Le Moigne V., Johansen M.D., Vásquez Sotomayor F., Daher W., Petit C. et al. The ESX-4 substrates, EsxU and EsxT, modulate *Mycobacterium abscessus* fitness. *PLoS Pathog.* 2022;18(8):e1010771. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010771.
22. Tunesi S., Zelazny A., Awad Z., Mougari F., Buyck J.M., Cambau E. Antimicrobial susceptibility of *Mycobacterium abscessus* and treatment of pulmonary and extra-pulmonary infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2023:S1198-743X(23)00482-2. DOI: 10.1016/j.cmi.2023.09.019.
23. Luthra S., Rominski A., Sander P. The role of antibiotic-target-modifying and antibiotic-modifying enzymes in *Mycobacterium abscessus* drug resistance. *Front. Microbiol.* 2018;9:2179. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02179.
24. Filkins L.M., O'Toole G.A. Cystic fibrosis lung infections: polymicrobial, complex, and hard to treat. *PLoS Pathog.* 2015;11(12):e1005258. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005258.
25. Bryant J.M., Grogono D.M., Greaves D., Foweraker J., Roddick I., Inns T. et al. Whole-genome sequencing to identify transmission of *Mycobacterium abscessus* between patients with cystic fibrosis: A retrospective cohort study. *Lancet.* 2013;381(9877):1551–1560. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60632-7.
26. Bernut A., Nguyen-Chi M., Halloum I., Herrmann J.L., Lutfalla G., Kremer L. *Mycobacterium abscessus*-induced granuloma formation is strictly dependent on TNF signaling and neutrophil trafficking. *PLoS Pathog.* 2016;12(11):e1005986. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005986.
27. Daley C.L., Iaccarino J.M., Lange C., Cambau E., Wallace R.J. Jr, Andrejak C. et al. Treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline. *Clin. Infect. Dis.* 2020;71(4):e1–e36. DOI: 10.1093/cid/ciaa241.
28. Ашерова И.К., Фейжельсон Ж., Амелина Е.Л., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Муковисцидоз и туберкулез. *Пульмонология.* 2012;(4):34–39. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-4-34-39.
29. Hwang S.M., Lim M.S., Hong Y.J., Kim T.S., Park K.U., Song J. et al. Simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and nontuberculous mycobacteria in respiratory specimens. *Tuberculosis (Edinb.).* 2013;93(6):642–646. DOI: 10.1016/j.tube.2013.07.007.
30. Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н., Эргешов А.Э. Смешанные популяции микобактерий у больных туберкулезом и микобактериозом: частота выявления и спектр видов. *Туберкулез и социально значимые заболевания.* 2023;11(2): DOI: 10.54921/2413-0346-2023-11-2.
31. Sohn S., Wang S., Shi H., Park S., Lee S., Park K.T. Mixed Infection of *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and *Mycobacterium tuberculosis* in the Lung. *Korean. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2017;50(1):50–53. DOI: 10.5090/kjtc.2017.50.1.50.

Вклад авторов

Филинюк О.В. – анализ клинической проблемы, работа с научной литературой. Тетенева А.В. – идея, разработка концепции статьи. Крук Е.А. – анализ клинического случая, Логинова Ю.А., Костякова Е.П. – подбор клинического материала, оформление. Беспалова И.Д., Тетенев К.Ф., Карзилов А.И., Мишустина Е.Л. – консультирование, оформление, перевод.

Информация об авторах

Филинюк Ольга Владимировна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фтизиатрии и пульмонологии, СибГМУ, г. Томск, filinyuk.olga@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5526-2513>

Крук Евгений Александрович – главный врач, ТФМЦ, г. Томск, rf200@list.ru, <https://orcid.org/0009-0004-9782-351X>

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

Логинова Юлия Александровна – ассистент, кафедра фтизиатрии и пульмонологии, СибГМУ, г. Томск, julyaprk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7483-7693>

Костоякова Евгения Петровна – лаборант-исследователь, кафедра фтизиатрии и пульмонологии, СибГМУ, г. Томск, kostoyakova00@mail.ru <http://orcid.org/0009-0002-8584-3666>

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

Тетенев Константин Федорович – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, ktetenev@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5306-6589>

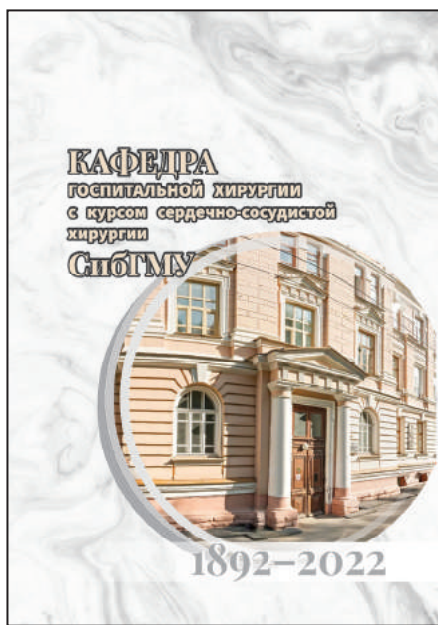
Карзилов Александр Иванович – д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, karzilov.ai@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3919-7205>

Мишустина Елена Львовна – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, mishustina.el@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2498-801X>

(✉) **Филинюк Ольга Владимировна**, filinyuk.olga@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.12.2023;
одобрена после рецензирования 16.12.2023;
принята к публикации 26.12.2023

Издательский дом Сибирского государственного медицинского университета представляет серию книг «Наследие томской медицины»



Книга посвящена 130-летию кафедры госпитальной хирургии СибГМУ. Приведены биографические данные 79 сотрудников клиники и кафедры госпитальной хирургии в период с 1892 по 2022 г. Им предшествует подробная статья, характеризующая основные научно-практические достижения коллектива на каждом историческом отрезке. В издании упомянуты не только выдающиеся хирурги, звезды мировой величины, но и рядовые профессора, доценты, ассистенты, врачи-ординаторы, многие из которых связали с кафедрой и клиникой всю свою трудовую биографию. При изложении материала наряду с традиционными источниками информации использованы автобиографические документы, данные из семейных архивов, производственные характеристики нередко с сохранением авторского стиля.

Это позволяет полнее ощутить атмосферу в обществе и рабочем коллективе в разные годы существования клиники. Текстовая информация сопровождается богатым иллюстративным материалом, многие фотографии опубликованы впервые.

Издание предназначено для хирургов, студентов старших курсов врачебных факультетов, специалистов по истории медицины.

Трёхтомная иллюстрированная летопись одного из старейших и наиболее авторитетных медицинских вузов России — Сибирского (Томского) государственного медицинского университета является по сути первой серьёзной попыткой осветить более чем 140-летнюю историю этого прославленного университета. Особенностью издания является его богатейший иллюстративный материал, включающий более четырёх тысяч фотографий (в том числе ранее практически неизвестных), и никогда не публиковавшихся до этого крайне любопытные и интересные факты о жизни университета, его студентов и профессоров, воспоминания и рассказы выпускников и преподавателей вуза.

Для самого широкого круга читателей, интересующихся историей российских университетов, отечественного высшего медицинского образования и науки, развитием клинических и научно-медицинских школ, здравоохранения, историей Томска, Сибири, России...



**АКАДЕМИК
ДМИТРИЙ ДМИТРИЕВИЧ
ЯБЛОКОВ**



В книге представлены биография и обзор научной, педагогической и общественной деятельности выдающегося ученого, терапевта, клинициста, академика АМН СССР, Героя Социалистического труда, лауреата Сталинской премии Дмитрия Дмитриевича Яблокова (1896-1993).

Для врачей, студентов, всех интересующихся историей медицины.

ISSN PRINT: 1682-0363
ISSN ONLINE: 1819-3684
Бюллетень сибирской медицины
Bulletin of Siberian Medicine
bulletin
ENG | РУС

БМ
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 общемединского профиля «Бюллетень сибирской»

медицины/Bulletin of Siberian Medicine» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты научных исследований, ориентированных на разработку передовых медицинских технологий.

С целью объединения научной медицинской общественности, распространения актуальной информации и содействия профессиональному росту специалистов журнал публикует оригинальные научные статьи, представляющие результаты экспериментальных и клинических исследований, лекции, научные обзоры, отражающие результаты исследований в различных областях медицины. Приоритет для публикации предоставляется материалам по перспективным направлениям современной медицинской науки:

- молекулярная медицина,
- регенеративная медицина и биоинженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина,
- трансляционная медицина.

Журнал выполняет широкий спектр функций, которые в целом дают представление об основных направлениях развития российской медицинской науки и ее достижениях, ее конкурентоспособности и степени интеграции в международное научное сообщество.

Научно-практический рецензируемый журнал «Бюллетень сибирской медицины / Bulletin of Siberian Medicine» издается Сибирским государственным медицинским университетом с 2001 г. при поддержке ТРОО «Академия доказательной доказательной медицины».

Главный редактор – член-корреспондент РАН О.И. Уразова

Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № 77-7366 от 26.03.2001 г.

ISSN 1682-0363

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция 01.12.2015).

Индексация:

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- Киберленинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на страницах «Бюллетень сибирской медицины» публикуются



Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Рецензирование

Этика публикаций

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок различного характера

Том 16, № 1 (2017)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети











