

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

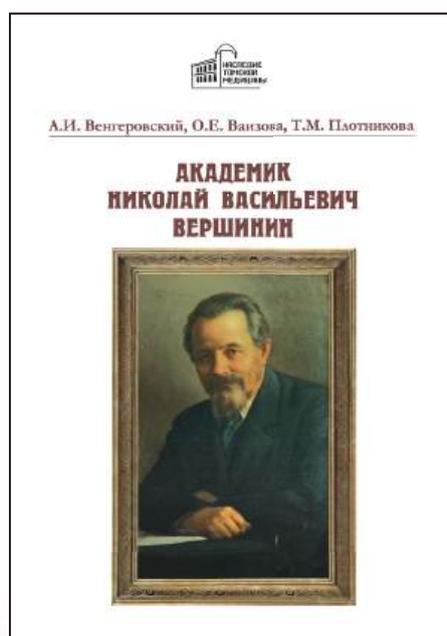
BSM



Том 23

№ 3. 2024

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



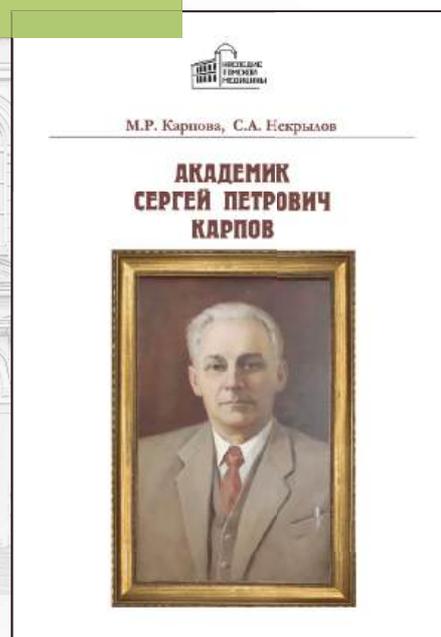
В книге представлены биография и обзор научной, педагогической и общественной деятельности выдающегося фармаколога, академика АМН СССР, заслуженного деятеля науки РСФСР, лауреата Сталинской (Государственной) премии Николая Васильевича Вершинина (1867–1951).

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



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.



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.

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 23, № 3, 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. 22,1. Усл. печ. л. 22,0.
Тираж 500 экз. Заказ 356.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 30.09.2024.

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)*
А. Antsaklis, *профессор (Греция)*
F. Chervenak, *профессор (США)*
С. 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. 3, 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 Litbuo 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. 22,1. C.p.s. 22,0.
500 copies. Order No. 356.

The price – free.
Date of publication 30.09.2024.

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

Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Попова А.А.,
Неупокоева М.Н., Теляков А.Т., Гракова Е.В.,
Копьева К.В., Калюжин В.В., Юшин А.Ю.

Течение артериальной гипертензии на фоне химиотерапии
рака молочной железы антрациклинами

5

Варвашеня Р.Н., Прач А.А., Плотников Е.В., Деев С.М.,
Белусов М.В., Ларькина М.С., Чернов В.И.

Оценка функциональной пригодности лиофилизата таргет-
ных каркасных белков с анкириновыми повторами для радио-
нуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в злокаче-
ственных опухолях

16

Воронкова О.В., Ильинских Е.Н., Хасанова Р.Р.,
Есимова И.Е., Невская К.В., Карпова М.Р.,
Чернышов Н.А., Ямпольская А.В., Ямпольская О.В.

Особенности субпопуляционного состава и функциональной
активности лимфоцитов крови при клещевых инфекциях раз-
ной этиологии

25

Гарбузова Е.В., Шрамко В.С., Каштанова Е.В.,
Полонская Я.В., Стахнёва Е.М., Кургузов А.В.,
Чернявский А.М., Рагино Ю.И.

Уровни молекул, секретируемых жировой тканью, у паци-
ентов с коронарным атеросклерозом и высоким триглице-
рид-глюкозным индексом

34

Гуркин Н.В., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С.,
Ларченко В.В., Ильина И.В., Хазанов В.А., Волчо К.П.,
Салахутдинов Н.Ф., Венгеровский А.И.

Анальгетическая активность нового модулятора каннабино-
идного CB1-рецептора

42

Копьева К.В., Мальцева А.Н., Мочула А.В., Сморгон А.В.,
Гракова Е.В., Гусакова А.М., Калюжин В.В.,
Завадовский К.В.

Роль маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенезе ко-
ронарной микроваскулярной дисфункции у пациентов с необ-
структивным поражением коронарных артерий

50

Ляшев А.Ю., Маль Г.С., Солин А.В.

Влияние даларгина на содержание бокаловидных клеток и
муцинов в слизистой оболочке толстого кишечника при экс-
периментальном язвенном колите

59

Плотников Е.В., Чернов В.И., Мухомедзянов А.В.,
Маслов Л.Н., Юсубов М.С., Ларькина М.С., Артамонов А.А.,
Белусов М.В.

Кардиопротекторный эффект аскорбата лития на модели ин-
фаркта миокарда *in vivo*

66

Порядин Г.В., Завхатов А.Н., Яснецов В.В.,
Скачилова С.Я., Хайдар Д.А., Тарасова Т.В.,
Захаркин И.А., Паршина А.Ю., Симакина Е.А.

Влияние нового производного 3-гидроксипиридина ЛХТ-2-
20 на процессы свободнорадикального окисления при экспе-
риментальном пародонтите

74

ORIGINAL ARTICLES

Berezikova E.N., Shilov S.N., Popova A.A.,
Neupokoeva M.N., Telyakov A.T., Grakova E.V.,
Kopeva K.V., Kalyuzhin V.V., Yushin A.Ju.

Course of arterial hypertension during breast cancer
chemotherapy with anthracyclines

Varvashenya R.N., Prach A.A., Plotnikov E.V., Deev S.M.,
Belousov M.V., Larkina M.S., Chernov V.I.

Assessing functional suitability of a lyophilized
formulation containing designed ankyrin repeat proteins
for radionuclide imaging of HER2/neu overexpression in
malignant tumors

Voronkova O.V., Ilyinskikh E.N., Hasanova R.R.,
Esimova I.E., Nevskaya K.V., Karpova M.R.,
Chernyshov N.A., Yampolskaya A.V., Yampolskaya O.V.

Features of subset composition and functional activity of
blood lymphocytes in tick-borne infections of different
etiologies

Garbuzova E.V., Shramko V.S., Kashtanova E.V.,
Polonskaya Ya.V., Stakhneva E.M., Kurguzov A.V.,
Chernyavsky A.M., Ragino Yu.I.

Adipocytokine levels in patients with atherosclerosis and
high triglyceride – glucose index

Gurkin N.V., Bykov V.V., Bykova A.V., Motov V.S.,
Larchenko V.V., Il'ina I.V., Khazanov V.A., Volcho K.P.,
Salakhutdinov N.F., Vengerovskii A.I.

Analgesic activity of a new cannabinoid CB1 receptor
modulator

Kopeva K.V., Maltseva A.N., Mochula A.V., Smorgon A.V.,
Grakova E.V., Gusakova A.M., Kalyuzhin V.V.,
Zavadovsky K.V.

The role of markers of endothelial dysfunction in the
pathogenesis of coronary microvascular dysfunction in
patients with non-obstructive coronary artery disease

Liashev A.Yu., Mal G.S., Solin A.V.

Effect of dalargin on the content of goblet cells and mucins
in the colonic mucosa in experimental ulcerative colitis

Plotnikov E.V., Chernov V.I., Mukhomedzyanov A.V.,
Maslov L.N., Yusubov M.S., Larkina M.S., Artamonov A.A.,
Belousov M.V.

Cardioprotective effect of lithium ascorbate in an *in vivo*
model of myocardial infarction

Poryadin G.V., Zakhvatov A.N., Yasnetsov V.V.,
Skachilova S.Ya., Khaydar D.A., Tarasova T.V.,
Zakharkin I.A., Parshina A.Yu., Simakina E.A.

The effect of a new 3-hydroxypyridine derivative LHT-2-
20 on free radical oxidation in experimental periodontitis

<i>Реброва Т.Ю., Перевозникова Ю.Е., Муслимова Э.Ф., Свинцова Л.И., Афанасьев С.А., Джаффарова О.Ю.</i> Адренореактивность мембран эритроцитов у подростков с суправентрикулярными и желудочковыми аритмиями до и после радиочастотной абляции	83	<i>Rebrova T.Yu., Perevoznikova Yu.E., Muslimova E.F., Svinцова L.I., Afanasiev S.A., Dzhaffarova O.Yu.</i> Beta-adrenergic reactivity of erythrocyte membranes in adolescents with supraventricular and ventricular arrhythmias before and after radiofrequency ablation
<i>Савушкина О.И., Муравьева Е.С., Житарева И.В., Давыдов Д.В., Крюков Е.В.</i> Решающее правило для выявления пациентов с высоким риском нарушения диффузионной способности легких после перенесенного COVID-19	91	<i>Savushkina O.I., Muraveva E.S., Zhitareva I.V., Davydov D.V., Kryukov E.V.</i> A decision rule for identifying patients at high risk for impaired lung diffusion capacity after COVID-19
<i>Соколова Т.С., Мальчук В.Н., Федорова О.С., Куленич В.В., Одинцова В.Е., Кошечкин С.И.</i> Микробиота кишечника у детей, больных бронхиальной астмой	99	<i>Sokolova T.S., Malchuk V.N., Fedorova O.S., Kulenich V.V., Odintsova V.E., Koshechkin S.I.</i> Intestinal microbiota in children with bronchial asthma
<i>Толкачева В.В., Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Мисан И.А., Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Смирнов И.П., Кобалава Ж.Д.</i> Поражение печени у пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности, в зависимости от степени нарушения углеводного обмена	107	<i>Tolkacheva V.V., Diane M.L., Khutsishvili N.I., Misan I.A., Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Smirnov I.P., Kobalava Zh.D.</i> Liver damage in patients hospitalized with acute decompensated heart failure, depending on the degree of glucose metabolism disorder
<i>Федосенко С.В., Родионова Ю.О., Иванова А.И., Аржаник М.Б., Семенова О.Л., Нестерович С.В., Старовойтова Е.А., Зима А.П., Винокурова Д.А., Камалтынова Е.М., Калюжин В.В.</i> Показатели лейкоцитарного ростка кроветворения и тромбоцитопения в ранние сроки развития уросепсиса как потенциальные предикторы летального исхода у госпитализированных пациентов	116	<i>Fedosenko S.V., Rodionova Yu.O., Ivanova A.I., Arzhanik M.B., Semenova O.L., Nesterovich S.V., Starovoitova E.A., Zima A.P., Vinokurova D.A., Kamaltynova E.M., Kalyuzhin V.V.</i> Parameters of leukopoiesis and thrombocytopenia in early urosepsis as potential predictors of a lethal outcome in hospitalized patients
<i>Хоанг Ч.Х., Майсков В.В., Мерай И.А., Кобалава Ж.Д.</i> Прогностическая ценность повышенного уровня трансаминаз в качестве предиктора неблагоприятного исхода у больных с острым инфарктом миокарда	126	<i>Hoang T.H., Maiskov V.V., Merai I.A., Kobalava Zh.D.</i> Prognostic value of elevated transaminase levels as predictors of adverse outcomes in patients with acute myocardial infarction
ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ		REVIEWS AND LECTURES
<i>Беспалова И.Д., Чомаева З.С., Тетенева А.В., Кошачева Ю.И., Митриченко У.М., Романов Д.С., Нестерович С.В., Полякова Д.В., Букреева Е.Б., Сорокина Т.В., Калюжина Е.В., Тетев К.Ф., Карзилов А.И., Месько П.Е., Боярко В.В., Черногорюк Г.Э., Черныавская Г.М.</i> Гормонально-метаболические нарушения при дисплазиях соединительной ткани	136	<i>Bespalova I.D., Chomaeva Z.S., Teteneva A.V., Koshchavtseva Yu.I., Mitrichenko U.M., Romanov D.S., Nesterovich S.V., Poljakova D.V., Bukreeva E.B., Sorokina T.V., Kalyuzhina E.V., Tetenev K.F., Karzilov A.I., Mesko P.E., Boyarko V.V., Chernogoryuk G.E., Chernyavskaya G.M.</i> Hormonal and metabolic disorders in connective tissue dysplasia
<i>Будневский А.В., Овсянников Е.С., Шишкина В.В., Алексеева Н.Г., Первеева И.М., Китоян А.Г., Антакова Л.Н.</i> К вопросу о патогенезе COVID-19: роль трансформирующего фактора роста бета	145	<i>Budnevsky A.V., Ovsyannikov E.S., Shishkina V.V., Alekseeva N.G., Perveeva I.M., Kitoyan A.G., Antakova L.N.</i> On the pathogenesis of COVID-19: the role of transforming growth factor beta
<i>Серебрякова В.А., Ваизова О.Е., Головина Е.Л., Кочубей В.В.</i> Галектины: потенциальная фармакологическая мишень	155	<i>Serebryakova V.A., Vaizova O.E., Golovina E.L., Kochubey V.V.</i> Galectins: a potential pharmacological target
СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ		CLINICAL CASES
<i>Крахмаль Н.В., Наумов С.С., Вторушин К.С., Минеханов Т.Р., Завьялова М.В., Вторушин С.В.</i> Арахноидальная внутримозговая киста у мужчины 28 лет. Клинический случай с летальным исходом	163	<i>Krakhmal N.V., Naumov S.S., Vtorushin K.S., Minekhanov T.R., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V.</i> Intracranial arachnoid cyst in a 28-year-old man. A clinical case with a fatal outcome
<i>Федосеева И.Ф., Попонникова Т.В., Пиневиц О.С.</i> Миопатический синдром при болезни накопления гликогена IV типа на примере семейного случая	172	<i>Fedoseeva I.F., Poponnikova T.V., Pinevich O.S.</i> Myopathy in glycogen storage disease type IV: case report of a family

УДК 618.19-006.6-085.28-06:616.12-008.331.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-5-15>

Течение артериальной гипертензии на фоне химиотерапии рака молочной железы антрациклинами

Березикова Е.Н.¹, Шилов С.Н.¹, Попова А.А.¹, Неупокоева М.Н.¹, Тепляков А.Т.², Гракова Е.В.², Копьева К.В.², Калюжин В.В.³, Юшин А.Ю.⁴

¹ Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

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

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

⁴ Городская поликлиника № 24
Россия, 630052, г. Новосибирск, ул. Станиславского, 52

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение особенностей течения артериальной гипертензии (АГ) и развития субклинического поражения сердца на фоне химиотерапии доксорубицином рака молочной железы (РМЖ).

Материалы и методы. В исследование включены 27 женщин с РМЖ, имеющих в анамнезе контролируемую АГ, которым планировалась полихимиотерапия (ПХТ) с использованием антрациклиновых антибиотиков. У 12 женщин зарегистрирована гипертоническая болезнь 1-й стадии, у 15 женщин – 2-й стадии. Пациентки получали двойную антигипертензивную терапию согласно клиническим рекомендациям. Всем пациенткам проводились эхокардиография и суточное мониторирование артериального давления (АД) исходно, после последнего курса и через 12 мес после окончания ПХТ. В группу контроля включены 35 женщин с РМЖ без АГ анамнезе, которым также планировалась терапия антрациклинами.

Результаты. Наблюдалась значимая взаимосвязь между ранее существовавшей АГ и развитием систолической дисфункцией левого желудочка через 12 мес после завершения химиотерапии ($p = 0,01$). По данным суточного мониторирования АД, у 15 женщин (55,6%) зарегистрировано ухудшение контроля АД после окончания ПХТ, что потребовало модификации антигипертензивной терапии путем добавления в схему лечения дополнительного препарата. Через 12 мес после окончания ПХТ у 13 женщин АГ имела контролируемый характер течения, что было достигнуто тройной антигипертензивной терапией; у двух женщин АГ приобрела резистентный характер течения, что потребовало назначения четырехкомпонентной схемы гипотензивной терапии.

Заключение. Ранее существовавшая АГ играет очень важную роль в развитии кардиотоксичности, вызванной химиотерапией на основе антрациклинов, несмотря на качество контроля АД. Полихимиотерапия антрациклинами может ухудшать контроль АД у больных с АГ, что сопровождается необходимостью добавления дополнительных антигипертензивных препаратов.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, химиотерапия, антрациклины, сердечная недостаточность, кардиоонкология

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

✉ Шилов Сергей Николаевич, newsib54@gmail.com

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «Городская клиническая поликлиника № 16» (протокол № 245 от 25.11.2020).

Для цитирования: Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Попова А.А., Неупокоева М.Н., Тепляков А.Т., Гракова Е.В., Копьева К.В., Калюжин В.В., Юшин А.Ю. Течение артериальной гипертензии на фоне химиотерапии рака молочной железы антрациклинами. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):5–15. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-5-15>.

Course of arterial hypertension during breast cancer chemotherapy with anthracyclines

Berezikova E.N.¹, Shilov S.N.¹, Popova A.A.¹, Neupokoeva M.N.¹, Teplyakov A.T.², Grakova E.V.², Kopeva K.V.², Kalyuzhin V.V.³, Yushin A.Yu.⁴

¹ Novosibirsk State Medical University (NSMU)
52, Krasny Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

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

⁴ City Polyclinic No. 24
52, Stanislavskogo Str., Novosibirsk, 630052, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the characteristics of the course of arterial hypertension (AH) and subclinical cardiac damage during breast cancer chemotherapy with doxorubicin.

Materials and methods. The study included a total of 27 women with breast cancer (BC) and a history of controlled hypertension who were to receive chemotherapy with anthracyclines. Twelve women had stage 1 hypertension; 15 women had stage 2 hypertension. The patients received dual antihypertensive therapy according to clinical guidelines. All patients underwent echocardiography and 24-hour blood pressure monitoring at baseline, after the last course of chemotherapy, and 12 months after the end of chemotherapy. The control group included 35 women with BC without a history of AH, who also were to receive anthracycline chemotherapy.

Results. A significant relationship between pre-existing AH and the development of left ventricular systolic dysfunction 12 months after the completion of chemotherapy ($p = 0.01$) was found. According to 24-hour blood pressure monitoring, 15 women (55.6%) showed deterioration of blood pressure control after the completion of chemotherapy, which required modification of antihypertensive therapy by adding one more drug to the treatment regimen. At 12 months after the end of chemotherapy, in 13 women, hypertension control was reached with triple antihypertensive therapy. In two women, hypertension became resistant, which required prescription of a four-component antihypertensive regimen.

Conclusion. Pre-existing AH plays an essential role in the development of anthracycline-induced cardiotoxicity, despite the quality of blood pressure control. Polychemotherapy with anthracyclines may deteriorate blood pressure control in patients with AH, which requires addition of antihypertensive drugs to the treatment regimen.

Keywords: arterial hypertension, chemotherapy, anthracyclines, heart failure, cardio-oncology

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 City Clinical Hospital No. 16 (Protocol No. 245 of 25.11.2020).

For citation: Berezikova E.N., Shilov S.N., Popova A.A., Neupokoeva M.N., Teplyakov A.T., Grakova E.V., Kopeva K.V., Kalyuzhin V.V., Yushin A.Ju. Course of arterial hypertension during breast cancer chemotherapy with anthracyclines. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):5–15. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-5-15>.

ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) является одним из наиболее часто выявляемых заболеваний в общей популяции, распространенность которого достигает 30–45% и увеличивается с возрастом [1]. Онкологические заболевания также представляют собой распространенную патологию, которая является второй по значимости причиной смерти во всем мире [2]. Средний возраст населения увеличивается, и в то же время онкологические больные имеют более длительную общую выживаемость благодаря улучшенной противоопухолевой терапии [2]. Кроме того, некоторые факторы риска, связанные с развитием АГ, такие как ожирение, сахарный диабет II типа, курение, малоподвижный образ жизни, также ассоциируются с развитием злокачественных новообразований [3]. Поэтому неудивительно, что все большее число онкологических больных обращаются за медицинской помощью, имея в анамнезе АГ. В обзоре, проведенном М. Jain и соавт., встречаемость АГ у онкологических больных достигает 37%, что делает ее наиболее распространенным сопутствующим сердечно-сосудистым заболеванием, зарегистрированным у пациентов со злокачественными новообразованиями [4]. Однако АГ также является распространенным осложнением у онкологических больных, развивающимся при определенных видах химиотерапии [5, 6].

У пациентов с онкологическими заболеваниями в анамнезе АГ регистрировалась чаще, чем в общей популяции, как было продемонстрировано в исследовании Childhood Cancer Survivor Study, в котором более 10 тыс. взрослых, переживших злокачественное новообразование в детстве, сравнивались с 3 тыс. братьев и сестер. Исследователи обнаружили, что распространенность АГ составила 40% против 25% в возрасте 45 лет соответственно [7]. Артериальная гипертензия может повышать риск кардиотоксичности, вызванной химиотерапией, и при плохом контроле может привести к прекращению лечения злокачественного новообразования [5, 6]. Артериальная гипертензия может развиваться у пациентов, получающих различные виды химиотерапии, в результате

прямых эффектов или в результате непрямого воздействия через механизмы, связанные с нефротоксичностью [8].

Основными противоопухолевыми препаратами, применение которых может осложниться АГ, являются ингибиторы фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и ингибиторы тирозинкиназы (ИТК). В недавнем метаанализе оценивался риск сердечно-сосудистых заболеваний при терапии ИТК по сравнению со стандартной химиотерапией. В обзор было включено 71 рандомизированное контролируемое исследование с участием более 29 тыс. пациентов. Результаты показали, что относительный риск развития АГ при терапии ИТК составил 3,78 (95%-й доверительный интервал 3,15–4,54) по сравнению с контрольной группой, сопоставимой по возрасту и сопутствующей патологии [9]. Артериальная гипертензия была зарегистрирована у 50% пациентов, получающих анти-VEGF-терапию [10]. При этом практически отсутствуют исследования по влиянию антрациклинов на течение АГ, которая была манифестирована до начала противоопухолевой химиотерапии.

Целью нашего исследования являлось изучение особенностей течения АГ на фоне химиотерапии доксорубицином рака молочной железы (РМЖ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В протокол 12-месячного проспективного исследования включены пациенты, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом ГБУЗ «Городская клиническая поликлиника № 16» (протокол № 245 от 25.11.2020).

Критерии включения в исследование: 1) женщины в возрасте 40–60 лет с РМЖ; 2) применение схем химиотерапии АС (доксорубицин + циклофосфамид) или ТАС (доксорубицин + циклофосфамид + доцетаксел); 3) полная ремиссия в отношении РМЖ в течение 12 мес после окончания полихимиотерапии (ПХТ); 4) контролируема АГ 1–2-й стадии.

Критерии исключения из исследования: 1) доказанная патология сердечно-сосудистой системы до

начала проведения химиотерапии кроме АГ (клапанные пороки, кардиомиопатии, хроническая сердечная недостаточность, первичная легочная гипертензия в анамнезе); 2) применение для лечения РМЖ препаратов таргетной терапии и ингибиторов ароматазы; 3) рецидив РМЖ или возникновение нового опухолевого заболевания в течение периода наблюдения; 4) сахарный диабет 1-го и 2-го типа; 5) сопутствующая тяжелая почечная, печеночная или полиорганная недостаточность; 6) указания на плохую переносимость лекарственных средств; 7) наличие анемии; 8) хронический алкоголизм, психические расстройства.

Наблюдение пациенток проводилось в три этапа: до начала лечения антрациклиновыми антибиотиками, после последнего курса ПХТ и через 12 мес после завершения лечения РМЖ. В указанные точки наблюдения проводились эхокардиография (ЭхоКГ) и суточное мониторирование артериального давления (АД). При проведении ЭхоКГ оценивали линейные и объемные параметры камер сердца, рассчитывали фракцию выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) по методу Симпсона, измеряли толщину стенок левого и правого желудочков. Массу (ММЛЖ) и индекс массы миокарда ЛЖ (ИММЛЖ) определяли в М-режиме в соответствии с рекомендациями Американского эхокардиографического общества (ASE). С учетом распространенности среди обследованных лиц с избыточной массой тела, ИММЛЖ вычисляли по формуле $\text{ММЛЖ}/\text{рост}^{2,7}$. Продольную деформацию миокарда ЛЖ в систолу (global longitudinal strain, GLS) исследовали в двухмерном режиме спекл-трекинг ЭхоКГ.

Проведена оценка особенностей течения АГ у 27 женщин с РМЖ на фоне проводимой ПХТ и в течение 12 мес после ее окончания. Также оценива-

ли появление начальных признаков бессимптомной дисфункции миокарда согласно критериям кардиотоксического поражения сердца после химиотерапии РМЖ антрациклинами, предложенным Европейским обществом кардиологов в 2022 г. [6]: ФВ ЛЖ $\geq 50\%$ и снижение GLS левого желудочка более чем на 15% от исходного значения.

В группу контроля включены 35 женщин с РМЖ без АГ в анамнезе, которым также проводилась терапия злокачественного новообразования схемами АС или ТАС. В данной группе оценивали развитие АГ и других сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе антрациклин-индуцированной дисфункции миокарда, в течение 12 мес после окончания ПХТ.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica 13.3 (StatSoft Inc., США). Количественные переменные представлены в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Для проверки статистических гипотез при сравнении двух независимых групп использовали критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости p для всех используемых процедур статистического анализа принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

До начала ПХТ исследованные группы женщин с РМЖ были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела и ФВ ЛЖ (табл. 1). У пациенток с АГ зарегистрирован значимо повышенный ИММЛЖ ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Кумулятивная доза доксорубина и применяемые схемы ПХТ в группах были сопоставимы. До начала ПХТ у 12 женщин с АГ зарегистрирована гипертоническая болезнь 1-й стадии, у 15 женщин – 2-й стадии.

Таблица 1

Исходная характеристика пациентов в зависимости от наличия АГ			
Показатель	Пациенты с АГ, $n = 27$	Пациенты без АГ, $n = 35$	p
Возраст, годы, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	51 (48; 56)	50 (46; 53)	0,318
Индекс массы тела, $\text{кг}/\text{м}^2$, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	25,2 (23,6; 26,9)	24,8 (23,1; 26,3)	0,183
Кумулятивная доза доксорубина, $\text{мг}/\text{м}^2$, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	360 (300; 360)	360 (300; 360)	0,893
Режим химиотерапии, n (%):			
– АС;	15 (55,6)	20 (57,1)	0,729
– ТАС	12 (44,4)	15 (42,9)	0,773
Лучевая терапия на левую половину грудной клетки, n (%)	9 (33,3)	11 (31,4)	0,851
Стадия ГБ, n (%):			
– 1-я;	12 (44,4)	–	–
– 2-я	15 (55,6)	–	–
ЧСС, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	72 (66; 77)	76 (68; 82)	0,095
Систолическое АД, мм рт. ст., $Me (Q_{25}; Q_{75})$	125 (120; 130)	115 (110; 120)	0,031
Диастолическое АД, мм рт. ст., $Me (Q_{25}; Q_{75})$	75 (70; 80)	70 (70; 80)	0,062
ФВ ЛЖ, %, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	63 (59; 66)	61,0 (58; 64)	0,261

Показатель	Пациенты с АГ, <i>n</i> = 27	Пациенты без АГ, <i>n</i> = 35	<i>p</i>
GLS, %, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	-19,3 (-17,8; 20,5)	-19,6 (-18,0; 20,7)	0,692
ИММЛЖ, г/м ² , <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	109,4 (89,3; 126,4)	85,2 (75,1; 92,8)	<0,001
Антигипертензивная терапия, <i>n</i> (%):			
– ингибиторы АПФ;	16 (59,3)	–	–
– БРА;	11 (40,7)	–	–
– ДАК;	17 (63,0)	–	–
– диуретики;	7 (25,9)	–	–
– β-адреноблокаторы	3 (11,1)	–	–

Примечание. Здесь и в табл. 2: АГ – артериальная гипертензия, АС – схема полихимиотерапии (доксорубин + циклофосфамид), ТАС – схема полихимиотерапии (доксорубин + циклофосфамид + доцетаксел), ФВЛЖ – фракция выброса левого желудочка, АД – артериальное давление, ГБ – гипертоническая болезнь, ЧСС – частота сердечных сокращений, ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка, АПФ – ангиотензинпревращающий фермент, БРА – блокаторы рецепторов ангиотензина, ДАК – дигидропиридиновые блокаторы кальциевых каналов, GLS – глобальная продольная деформация. *p* – вероятность ошибки первого рода.

Наблюдалась значимая взаимосвязь между ранее существовавшей АГ и развитием систолической дисфункцией левого желудочка через 12 мес после завершения химиотерапии (*p* = 0,01) (табл. 2): согласно

критериям Европейского общества кардиологов [6], признаки антрациклин-индуцированной кардиотоксичности зарегистрированы у 6 (22,2%) женщин с АГ и у 2 (5,7%) пациенток контрольной группы.

Таблица 2

Динамика основных клинических и эхокардиографических показателей в исследованных группах				
Показатель	Исходно	После окончания ПХТ	Через 12 мес после окончания ПХТ	<i>p</i>
Пациенты с АГ, <i>n</i> = 27				
Стадия ГБ, <i>n</i> (%):				
– 1-я;	12 (44,4)	12 (44,4)	10 (37,0)	0,416
– 2-я	15 (55,6)	15 (55,6)	17 (63,0)	0,416
ЧСС, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	72 (66; 77)	76 (71; 80)	70 (65; 74)	0,272
Систолическое АД, мм рт. ст., <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	125 (120; 130)	130 (120; 135)	125 (120; 130)	0,612
Диастолическое АД, мм рт. ст., <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	75 (70; 80)	80 (75; 85)	75 (70; 80)	0,749
ФВ ЛЖ, %, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	63 (59; 66)	62 (58; 66)	59 (55; 62)	0,083
GLS, %, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	-19,3 (-17,8; 20,5)	-18,2 (-16,9; 19,8)	-18,0 (-16,8; 19,4)	0,174
Развитие антрациклин-индуцированной дисфункции миокарда, <i>n</i> (%)	–	–	6 (22,2)	–
ИММЛЖ, г/м ² , <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	109,4 (89,3; 166,4)	107,8 (91,2; 127,5)	114,3 (90,1; 132,6)	0,153
Антигипертензивная терапия, <i>n</i> (%):				
– ингибиторы АПФ;	16 (59,3)	16 (59,3)	16 (59,3)	1,0
– БРА;	11 (40,7)	11 (40,7)	11 (40,7)	1,0
– ДАК;	17 (63,0)	27 (100,0)	27 (100,0)	0,023
– диуретики;	7 (25,9)	9 (33,3)	7 (25,9)	1,0
– β-адреноблокаторы;	3 (11,1)	6 (22,2)	8 (29,6)	0,041
– АМКР	–	–	2 (7,4)	0,932
Пациенты без АГ, <i>n</i> = 35				
Стадия ГБ, <i>n</i> (%):				
– 1-я;	–	–	2 (5,7)	–
– 2-я	–	–	–	–
ЧСС, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	76 (68; 82)	81 (75; 88)		
Систолическое АД, мм рт. ст., <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	115 (110; 120)	115 (110; 120)	115 (110; 120)	0,621
Диастолическое АД, мм рт. ст., <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	70 (70; 80)	70 (70; 80)	70 (70; 80)	0,811
ФВ ЛЖ, %, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	61,0 (58; 64)	60,0 (57; 64)	59 (57; 62)	0,354
GLS, %, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	-19,6 (-18,0; 20,7)	-18,7 (-17,5; 20,1)	-19,2 (-17,9; 20,5)	0,452
Развитие антрациклин-индуцированной дисфункции миокарда, <i>n</i> (%)	–	–	2 (5,7)*	–

Окончание табл. 2

Показатель	Исходно	После окончания ПХТ	Через 12 мес после окончания ПХТ	<i>p</i>
ИММЛЖ, г/м ² , <i>Me (Q₂₅; Q₇₅)</i>	85,2 (75,1; 92,8)	86,4 (74,2; 93,8)	87,1 (75,4; 93,1)	0,632
Антигипертензивная терапия, <i>n</i> (%):				
– ингибиторы АПФ;	–	–	2 (5,7)	–
– БРА;	–	–	–	–
– ДАК;	–	–	–	–
– диуретики;	–	–	–	–
– β-адреноблокаторы;	–	–	2 (5,7)	–
– АМКР	–	–	–	–

**p* = 0,01 по сравнению с группой с АГ.

У 15 женщин (55,6%) с АГ зарегистрировано ухудшение контроля АД после окончания ПХТ, что потребовало модификации антигипертензивной терапии путем добавления в схему лечения дополнительного препарата. В контрольной группе у двух человек в течение 12 мес после окончания ПХТ зарегистрировано развитие гипертензии 1-й стадии, контроль которой не был достигнут модификацией образа жизни, что потребовало назначения двух антигипертензивных препаратов. У женщин с АГ после окончания ПХТ отмечено незначительное увеличение ИММЛЖ.

Через 12 мес после окончания ПХТ у 13 женщин АГ имела контролируемый характер течения, что было достигнуто тройной антигипертензивной терапией; у двух женщин АГ приобрела резистентный характер течения, что потребовало назначения четырехкомпонентной схемы гипотензивной терапии с добавлением антагонистов минералокортикоидных рецепторов (рисунок).

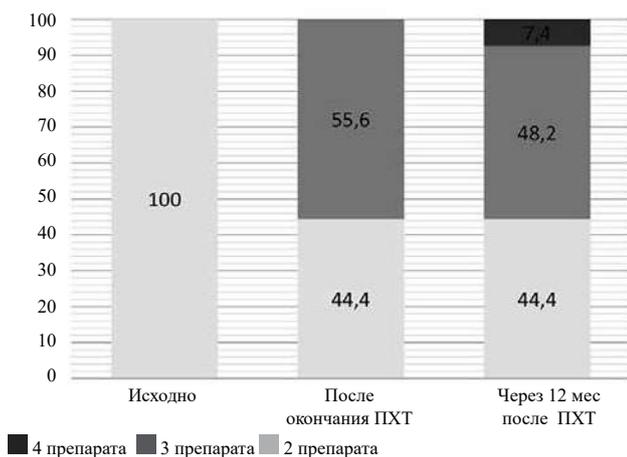


Рисунок. Количество антигипертензивных препаратов в группе больных с артериальной гипертензией, %

ОБСУЖДЕНИЕ

Антрациклины обладают широким спектром противоопухолевого действия, высокой эффективностью и являются одними из часто назначаемых

препаратов для лечения злокачественных новообразований. Однако их клиническое применение ограничено из-за чрезмерной генерации активных форм кислорода (АФК) и развитием кардиотоксичности с прогрессированием в сердечную недостаточность [5, 6]. Доказано, что наличие сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и АГ, является фактором риска развития дисфункции миокарда [5, 6].

В нашем исследовании мы подтвердили данное положение: развитие антрациклин-индуцированной кардиотоксичности через 12 мес после окончания ПХТ чаще (*p* = 0,01) регистрировалось у женщин с АГ по сравнению с контрольной группой. При этом практически отсутствуют исследования по влиянию антрациклинов на течение АГ, которая была манифестирована до начала противоопухолевой химиотерапии. В нашей работе у 55,6% больных с АГ зарегистрировано ухудшение контроля АД после окончания ПХТ. Возможно, что влияние антрациклинов на АД обусловлено развитием дисфункции эндотелия и активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой (РААС) и симпатoadреналовой систем на фоне и после применения данного класса препаратов, что подтверждается в ряде экспериментальных и клинических работ.

Так, в последнее время все больше внимания уделяется антрациклин-индуцированной эндотелиотоксичности [11]. Многие исследования подтвердили, что эндотелиотоксичность, индуцированная антрациклинами, как и кардиотоксичность и нефротоксичность, резко ограничивает их клиническое применение [5, 6, 11]. Соответственно, доксорубин может вызвать серьезное повреждение эндотелия сосудов. В настоящее время признано, что избыточная генерация АФК вызывает последующее развитие антрациклин-индуцированной цитотоксичности [12], которая может приводить к эндотелиальной дисфункции, влияя на течение АГ.

Так, по данным М.М. Said-Ahmed и соавт., введение кумулятивных доз доксорубина в дозах 10, 15 и 20 мг/кг в течение 2 нед приводило к дозо-

висимому повышению уровня эндотелина-1 (ЕТ-1) в плазме на 85, 76 и 97% соответственно. Но при этом уровень оксида азота (NO) в плазме крови не изменялся, в то время как продукция NO в миокарде достоверно увеличивалась [13]. В недавнем исследовании продемонстрировано снижение эффективности NO-зависимых механизмов регуляции сосудистого тонуса на фоне однократного применения химиотерапии в дозе 4 мг/кг [14]. Однако в ряде исследований продемонстрировано увеличение продукции NO, что связывают с апрегуляцией генов индуцибельной NO-синтазы (*iNOS*) и эндотелиальной NO-синтазы (*eNOS*) [15, 16]. Высокая концентрация NO, продуцируемого ферментами *iNOS* или *eNOS*, стимулирует образование пероксинитрита в результате реакции с супероксид-анионом. Образующийся пероксинитрит приводит к перекисному окислению липидов [17], что может приводить к повреждению эндотелиоцитов.

В исследованиях, направленных на изучение оси ЕТ-1/NO, наблюдалась низкая активность *eNOS* при выраженном повреждении эндотелия, что может приводить к повышению уровня ЕТ-1 [18]. J. Yamashita и соавт. показали, что мониторинг уровня ЕТ-1 в плазме крови может быть использован для выявления субклинической кардиотоксичности доксорубина [19]. Известно, что избыточный уровень внутриклеточного кальция, который вызывается антрациклинами, приводит к митохондриальной дисфункции, истощению высокоэнергетических фосфатов, повышению жесткости мышц, нарушению сократительной функции и гибели клеток. ЕТ-1 может индуцировать выработку инозитолфосфатов, которые повышают внутриклеточный уровень Ca^{2+} за счет его высвобождения из внутриклеточных хранилищ. Этот процесс приводит к эффекту перегрузки эндотелиоцитов кальцием [20].

К настоящему времени доказано влияние антрациклинов на активность РААС, которая является сложным гормональным комплексом, играющим значимую роль в нормальном функционировании как сердечно-сосудистой системы, так и в регуляции гидроэлектrolитного баланса организма. Дисбаланс одного из элементов РААС приводит к таким заболеваниям, как АГ, сердечная недостаточность и даже к опухолевым заболеваниям [21]. Исходя из имеющихся данных, представляется, что повышенная активность ангиотензина II (АП) является одним из ключевых событий в антрациклин-индуцированной эндотелиальной дисфункции. Значимое влияние АП может быть обусловлено повышенным его синтезом или усиленной передачей сигналов от рецепторов.

M. Zheng и соавт. отметили трехкратное повышение уровня АП в плазме крови по сравнению с контрольной группой животных при лечении доксорубином [22]. Высокие уровни АП наблюдались также в миокарде и паравентрикулярном ядре гипоталамуса (один из центров, регулирующих сердечно-сосудистую систему) [23]. Эти результаты показывают, что под влиянием антрациклинов АП действует не только на сердце и сосуды, но также влияет на регуляцию работы сердечно-сосудистой системы на центральном уровне. Доказана способность антрациклинов индуцировать возбуждение симпатической нервной системы на центральном уровне [24].

Кроме того, показано, что под влиянием антрациклинов повышается активность ренина, стимулируя более высокую степень превращения ангиотензиногена в ангиотензин I (АП) [25]. Значительное повышение уровня АП после введения доксорубина может быть косвенным признаком повышенной активности ренина. При этом препарат алискирен, являющийся ингибитором ренина, вызывал снижение концентрации АП [25].

Другой механизм связан с повышенной активностью ангиотензинпревращающего фермента. Длительное лечение доксорубином приводило к значительному, почти 2,3-кратному увеличению активности АПФ в сердце у хомяков по сравнению с контрольными животными [26].

АП вызывает свое действие через ангиотензиновые рецепторы 1-го (АТ-1R) и 2-го типа; при этом рецептор 1-го типа, по-видимому, играет ключевую роль в развитии антрациклин-индуцированной дисфункции эндотелия. Показано, что доксорубин стимулировал экспрессию мРНК АТ-1R при увеличении дозы препарата на клеточной линии кардиомиоцитов [27]. В отличие от АТ-1R, рецептор 2-го типа, который опосредует защитные эффекты АП, подавляется доксорубином [28].

Таким образом, можно сделать вывод, что антрациклины приводят к дисбалансу основных осей РААС, а именно к гиперактивации оси ангиотенноген/АП/АТ-1R. Следовательно, вмешательство доксорубина в секрецию эссенциальных эндотелиальных факторов и РААС, играющих важнейшую роль в функционировании сердечно-сосудистой системы, приводит к снижению ее адаптивности. В настоящее время появляется все больше доказательств того, что антрациклины могут напрямую увеличивать риск развития АГ. Потенциальные механизмы включают снижение плотности капилляров, нарушение неоваскуляризации, гистологические изменения сосудистой сети, включая гиперплазию оболочки

интимы, стеноз просвета и потерю гладкомышечных клеток [29]. Кроме того, вазомоторная дисфункция, возникающая в результате снижения активности eNOS, приводит к уменьшению генерации NO эндотелиальными клетками, потенциально способствуя развитию АГ [30–32].

Гипотензивная терапия, применимая для лечения АГ у больных, получающих химиотерапию, имеет некоторые особенности. В нашем исследовании через 12 мес после окончания ПХТ у 13 женщин АГ имела контролируемый характер течения, что было достигнуто тройной антигипертензивной терапией; у двух женщин АГ приобрела резистентный характер течения, что потребовало назначения четырехкомпонентной схемы гипотензивной терапии.

Естественно, изменение образа жизни и снижение потребления натрия рекомендуются независимо от используемой противоопухолевой терапии, так как они имеют эффект снижения АД у многих пациентов. Однако строгое соблюдение рекомендаций по немедикаментозному воздействию на повышенное АД является сложной задачей для многих пациентов [33].

На выбор антигипертензивных препаратов у онкологических больных влияет несколько факторов. Например, применение гидрохлортиазида (ГХТЗ) ассоциировалось с развитием немеланомного рака кожи в двух крупных исследованиях, выполненных в Дании [34] и Великобритании [35]. Авторы последних обнаружили связь между применением ГХТЗ и риском развития базальноклеточной и плоскоклеточной карциномой кожи. Однако исследования, проведенные на Тайване [36] и в Корее [37], не показали никакой связи применения ГХТЗ с развитием рака кожи. При этом тиазидоподобные диуретики, такие как хлорталидон и индапамид, не были ассоциированы с повышенным риском развития рака кожи, и поэтому некоторые эксперты рекомендуют использовать эти препараты, а не ГХТЗ, для лечения АГ [38].

В нескольких исследованиях было высказано предположение о том, что использование ингибиторов АПФ (иАПФ) может быть ассоциировано с повышенным риском развития рака легких. Однако эти исследования подверглись резкой критике из-за различных ограничений в сборе и интерпретации данных, что привело к выводу о недостаточности доказательств для изменения клинической практики в настоящее время [39]. Европейское общество кардиологов предлагает при АГ иАПФ блокаторы рецепторов ангиотензина (БРА) и дигидропиридиновые блокаторы кальциевых каналов (БКК) в качестве терапии первой линии. При развитии резистентной

АГ рекомендуется добавлять к терапии β-адреноблокаторы, спиронолактон и донаторы NO, такие как моно-, динитраты изосорбида или гидралазин [6].

Независимо от типа используемого препарата, для лечения гипертонии, вызванной противоопухолевой терапией, требуется более одного препарата. J.B. Cohen и соавт. предложили пациентам с АД выше целевого значения начинать лечение дигидропиридиновым БКК при отсутствии протеинурии и иАПФ/БРА в случае наличия протеинурии и титровать до эффективной дозы. Следующим шагом в управлении АД должно быть добавление препарата из того класса, который изначально не назначался (т.е. иАПФ/БРА в случае, если первым был начат БКК, и наоборот). Третьим шагом в усилении лечения должен быть диуретик, если нет противопоказаний, а затем антагонист минералокортикоидных рецепторов или β-адреноблокатор [3].

Таким образом, АГ является распространенным сопутствующим заболеванием, а также нежелательным явлением у онкологических больных, и поэтому должна находиться под тщательным наблюдением. Влияние противоопухолевой терапии на развитие АГ и эффективность ее лечения должно быть тщательно изучено, поскольку профилактика сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности имеет первостепенное значение как у активных онкологических больных, так и у людей, ранее перенесших злокачественное новообразование.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ранее существовавшая АГ играет очень важную роль в развитии кардиотоксичности, вызванной химиотерапией на основе антрациклинов, несмотря на качество контроля АД. ПХТ антрациклинами может ухудшать контроль АД у больных с АГ, что требует добавления новых антигипертензивных препаратов.

Несмотря на усилия понять, как различные противоопухолевые агенты могут увеличить риск развития АГ и влиять на ее течение, многие из этих механизмов до конца не определены, а клинических исследований, в которых оценивалась эффективность и безопасность конкретных антигипертензивных препаратов у больных, выживших после лечения злокачественных новообразований, недостаточно. Популяции выживших неоднородны и имеют широкий диапазон предшествующего лечения, и вполне вероятно, что диагностику и лечение АГ необходимо адаптировать к различным подгруппам. Понимание механизмов, ответственных за изменения АД у больных с опухолевыми заболеваниями, облегчит идентификацию новых терапевтических целей у пациентов с АГ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Муромцева Г.А., Концевая А.В., Константинов В.В., Артамонова Г.В., Гагагонова Т.М., Дупляков Д.В. и др. Распространенность факторов риска неинфекционных заболеваний в российской популяции в 2012–2013 гг. Результаты исследования ЭССЕ-РФ. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2014;13(6):4–11. DOI: 10.15829/1728-8800-2014-6-4-11.
2. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71(3):209–249. DOI: 10.3322/caac.21660.
3. Cohen J.B., Geara A.S., Hogan J.J., Townsend R.R. Hypertension in cancer patients and survivors: epidemiology, diagnosis, and management. *ACC CardioOncol.* 2019;1(2):238–251. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.11.009.
4. Jain M., Townsend R.R. Chemotherapy agents and hypertension: a focus on angiogenesis blockade. *Curr. Hypertens. Rep.* 2007;9(4):320–328. DOI: 10.1007/s11906-007-0058-7.
5. Васюк Ю.А., Гендлин Г.Е., Емелина Е.И., Шупенина Е.Ю., Балюзек М.Ф., Барина И.В. и др. Согласованное мнение российских экспертов по профилактике, диагностике и лечению сердечно-сосудистой токсичности противоопухолевой терапии. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(9):4703. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4703.
6. Lyon A.R., López-Fernández T., Couch L.S., Asteggiano R., Aznar M.C., Bergler-Klein J. et al. 2022 ESC Guidelines on Cardio-Oncology Developed in Collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS): Developed by the Task Force on Cardio-Oncology of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2022;43(41):4229–4361. DOI: 10.1093/eurheartj/ehac244.
7. Armstrong G.T., Oeffinger K.C., Chen Y., Kawashima T., Yasui Y., Leisenring W. et al. Modifiable risk factors and major cardiac events among adult survivors of childhood cancer. *J. Clin. Oncol.* 2013;31(29):3673–3680. DOI: 10.1200/JCO.2013.49.3205.
8. Kooijmans E.C., Bökenkamp A., Tjahjadi N.S., Tettero J.M., van Dulmen-den Broeder E., van der Pal H.J. et al. Early and late adverse renal effects after potentially nephrotoxic treatment for childhood cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2019;3(3):CD008944. DOI: 10.1002/14651858.CD008944.pub3.
9. Totzeck M., Mincu R.I., Mrotzek S., Schadendorf D., Rassa T. Cardiovascular diseases in patients receiving small molecules with anti-vascular endothelial growth factor activity: A meta-analysis of approximately 29,000 cancer patients. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2018;25(5):482–494. DOI: 10.1177/2047487318755193.
10. Li W., Croce K., Steensma D.P., McDermott D.F., Ben-Yehuda O., Moslehi J. Vascular and metabolic implications of novel targeted cancer therapies: focus on kinase inhibitors. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015;66(10):1160–1178. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.07.025.
11. Wojcik T., Szczesny E., Chlopicki S. Detrimental effects of chemotherapeutics and other drugs on the endothelium: A call for endothelial toxicity profiling. *Pharmacol. Rep.* 2015;67(4):811–817. DOI: 10.1016/j.pharep.2015.03.022.
12. Feng J., Wu Y. Endothelial-to-mesenchymal transition: potential target of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* 2023;23(3):231–246. DOI: 10.1007/s40256-023-00573-w.
13. Sayed-Ahmed M.M., Khattab M.M., Gad M.Z., Osman A.M. Increased plasma endothelin-1 and cardiac nitric oxide during doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Pharmacol. Toxicol.* 2001;89(3):140–144. DOI: 10.1034/j.1600-0773.2001.d01-148.x.
14. Иванова Г.Т. Влияние доксорубина на реактивность брыжеечных артерий крыс Вистар. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2022;108(11):1453–1467. DOI: 10.31857/S0869813922110036.
15. Aldieri E., Bergandi L., Riganti C., Costamagna C., Bosia A., Ghigo D. Doxorubicin induces an increase of nitric oxide synthesis in rat cardiac cells that is inhibited by iron supplementation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2002;185(2):85–90. DOI: 10.1006/taap.2002.9527.
16. Deng S., Kruger A., Schmidt A., Metzger A., Yan T., Gödtel-Armbrust U. et al. Differential roles of nitric oxide synthase isozymes in cardiotoxicity and mortality following chronic doxorubicin treatment in mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2009;380(1):25–34. DOI: 10.1007/s00210-009-0407-y.
17. Bahadır A., Kurucu N., Kadioğlu M., Yenilme E. The role of nitric oxide in doxorubicin-induced cardiotoxicity: experimental study. *Turk. J. Haematol.* 2014;31(1):68–74. DOI: 10.4274/Tjh.2013.0013.
18. Cao L., Huang C., Wang N., Li J. ET-1/NO: A controversial target for myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiology.* 2014;127(2):140. DOI: 10.1159/000355536.
19. Yamashita J., Ogawa M., Shirakusa T. Plasma endothelin-1 As a marker for doxorubicin cardiotoxicity. *Int. J. Cancer.* 1995;62(5):542–547. DOI: 10.1002/ijc.2910620509.
20. Luu A.Z., Chowdhury B., Al-Omran M., Teoh H., Hess D.A., Verma S. Role of endothelium in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *ACC Basic Transl. Sci.* 2018;3(6):861–870. DOI: 10.1016/j.jacbs.2018.06.005.
21. Vargas Vargas R.A., Varela Millán J.M., Fajardo Bonilla E. Renin-angiotensin system: Basic and clinical aspects-A general perspective. *Endocrinol. Diabetes Nutr. (Engl. Ed.)*. 2022;69(1):52–62. DOI: 10.1016/j.endien.2022.01.005.
22. Zheng M., Kang Y.M., Liu W., Zang W.J., Bao C.Y., Qin D.N. Inhibition of cyclooxygenase-2 reduces hypothalamic excitation in rats with adriamycin-induced heart failure. *PLoS One.* 2012;7(11):e48771. DOI: 10.1371/journal.pone.0048771.
23. Arozal W., Watanabe K., Veeraveedu P.T., Thandavarayan R.A., Harima M., Sukumaran V. et al. Beneficial effects of angiotensin II receptor blocker, olmesartan, in limiting the cardiotoxic effect of daunorubicin in rats. *Free Radic. Res.* 2010;44(11):1369–1377. DOI: 10.3109/10715762.2010.509399.
24. Jones L.W., Haykowsky M., Peddle C.J., Joy A.A., Pituskin E.N., Tkachuk L.M. et al. Cardiovascular risk profile of patients with HER2/neu-positive breast cancer treated with anthracycline-taxane-containing adjuvant chemotherapy and/or trastuzumab. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2007;16(5):1026–1031. DOI: 10.1158/10559965.EPI-06-0870.

25. Rashikh A., Pillai K.K., Najmi A.K. Protective effect of a direct renin inhibitor in acute murine model of cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2014;28(5):489–500. DOI: 10.1111/fcp.12054.
26. Okumura K., Jin D., Takai S., Miyazaki M. Beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibition in adriamycin-induced cardiomyopathy in hamsters. *Jpn. J. Pharmacol.* 2002;88(2):183–188. DOI: 10.1254/jjp.88.183.
27. Huang C.Y., Chen J.Y., Kuo C.H., Pai P.Y., Ho T.J., Chen T.S. et al. Mitochondrial ROS-induced ERK1/2 activation and HSF2-mediated AT1 R upregulation are required for doxorubicin-induced cardiotoxicity. *J. Cell Physiol.* 2018;233(1):463–475. DOI: 10.1002/jcp.25905.
28. Zong W.N., Yang X.H., Chen X.M., Huang H.J., Zheng H.J., Qin X.Y. et al. Regulation of angiotensin-(1–7) and angiotensin II type 1 receptor by telmisartan and losartan in adriamycin-induced rat heart failure. *Acta Pharmacol. Sin.* 2011;32(11):1345–1350. DOI: 10.1038/aps.2011.96.
29. Galán-Arriola C., Vélchez-Tschischke J.P., Lobo M., López G.J., de Molina-Iracheta A., Pérez-Martínez C. et al. Coronary microcirculation damage in anthracycline cardiotoxicity. *Cardiovasc. Res.* 2022;118(2):531–541. DOI: 10.1093/cvr/cvab053.
30. Gajalakshmi P., Priya M.K., Pradeep T., Behera J., Muthumani K., Madhuwanti S. et al. Breast cancer drugs dampen vascular functions by interfering with nitric oxide signaling in endothelium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2013;269(2):121–131. DOI: 10.1016/j.taap.2013.03.011.
31. Тепляков А.Т., Шилов С.Н., Попова А.А., Гракова Е.В., Березикова Е.Н., Неупокоева М.Н., Молоков А.В., Копьева К.В., Калюжин В.В. Состояние сердечно-сосудистой системы у больных с антрациклиновой кардиомиопатией. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017;16(3):127–136. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-127-136.
32. Тепляков А.Т., Шилов С.Н., Попова А.А., Березикова Е.Н., Гракова Е.В., Неупокоева М.Н., Копьева К.В., Ратушняк Е.Т., Степачев Е.И. Роль провоспалительных цитокинов в развитии антрациклин-индуцированной сердечной недостаточности. *Сибирский медицинский журнал.* 2020. Т. 35, № 2. С. 66–74. DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-2-66-74.
33. Askarnejad A., Alizadehasl A., Jolfayi A.G., Adimi S. Hypertension in cardio-oncology clinic: an update on etiology, assessment, and management. *Cardio-Oncology.* 2023;9(1):46. DOI: 10.1186/s40959-023-00197-8.
34. Pedersen S.A., Gaist D., Schmidt S.A.J., Hölmich L.R., Friis S., Pottegård A. Hydrochlorothiazide use and risk of non-melanoma skin cancer: A nationwide case-control study from Denmark. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2018;78(4):673–681.e9. DOI: 10.1016/j.jaad.2017.11.042.
35. Rouette J., Yin H., Pottegård A., Nirantharakumar K., Azoulay L. Use of hydrochlorothiazide and risk of melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Drug Saf.* 2021;44(2):245–254. DOI: 10.1007/s40264-020-01015-1.
36. Pottegård A., Pedersen S.A., Schmidt S.A.J., Lee C.N., Hsu C.K., Liao T.C. et al. Use of hydrochlorothiazide and risk of skin cancer: a nationwide Taiwanese case-control study. *Br. J. Cancer.* 2019;121(11):973–978. DOI: 10.1038/s41416-019-0613-4.
37. Park E., Lee Y., Jue M.S. Hydrochlorothiazide use and the risk of skin cancer in patients with hypertensive disorder: a nationwide retrospective cohort study from Korea. *Korean J. Intern. Med.* 2020;35(4):917–928. DOI: 10.3904/kjim.2019.218.
38. Faconti L., Ferro A., Webb A.J., Cruickshank J.K., Chwienczyk P.J. Hydrochlorothiazide and the risk of skin cancer. A scientific statement of the British and Irish Hypertension society. *J. Hum. Hypertens.* 2019;33(4):257–258. DOI: 10.1038/s41371-019-0190-2.
39. Rachow T., Schiff H., Lang S.M. Risk of lung cancer and renin-angiotensin blockade: a concise review. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2021;147(1):195–204. DOI: 10.1007/s00432-020-03445-x.

Вклад авторов

Березикова Е.Н., Шилов С.Н. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Попова А.А., Гракова Е.В. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи. Неупокоева М.Н., Копьева К.В., Юшин А.Ю. – анализ и интерпретация данных. Тепляков А.Т., Калюжин В.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Березикова Екатерина Николаевна – д-р мед. наук, профессор кафедры внутренних болезней им. академика Л.Д. Сидоровой, НГМУ, г. Новосибирск, cardio@enberezikova.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9630-0213>

Шилов Сергей Николаевич – д-р мед. наук, профессор кафедры патологической физиологии и клинической, НГМУ, г. Новосибирск, newsib54@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7777-6419>

Попова Анна Александровна – д-р мед. наук, зав. кафедрой поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск, annporova24@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2645-162X>

Неупокоева Мария Николаевна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск, maria.neupokoeva@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3102-8156>

Тепляков Александр Трофимович – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Vgelen1970@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0721-0038>

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

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

Калюжин Вадим Витальевич – д-р мед. наук, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhinvv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>

Юшин Антон Юрьевич – врач-эндокринолог, городская поликлиника № 24, г. Новосибирск, antyush@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-6565-7466>

(✉) **Шилов Сергей Николаевич**, newsib54@gmail.com

Поступила в редакцию 01.04.2024;
одобрена после рецензирования 12.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616-006.6:577.112.086.132:577.218
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-16-24>

Оценка функциональной пригодности лиофилизата таргетных каркасных белков с анкириновыми повторами для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в злокачественных опухолях

Варвашеня Р.Н.^{1,2}, Прач А.А.², Плотников Е.В.², Деев С.М.^{2,3}, Белоусов М.В.^{1,2}, Ларькина М.С.^{1,2}, Чернов В.И.^{2,4}

¹ Научно-образовательная лаборатория химико-фармацевтических исследований (НОЛХФИ), Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ) Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

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

³ Институт биоорганической химии (ИБХ) им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук Россия, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

⁴ Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить *in vitro* и *in vivo* функциональную пригодность лиофилизата таргетных каркасных белков с анкириновыми повторами DARPin G3-(GGGS)₃Cys, меченых ^{99m}Tc, для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в злокачественных опухолях.

Материалы и методы. Для наработки таргетного белка использовали модифицированную генетическую конструкцию с последовательностью, кодирующей белок DARPin G3-(GGGS)₃Cys. Для получения экспериментального препарата использовали лиофилизат, содержащий DARPin G3-(GGGS)₃Cys со вспомогательными веществами, и раствор натрия пертехнетата, ^{99m}Tc (500 МБк) при инкубации 60 °С, 30 мин. Анализ радиохимической чистоты (РХЧ) ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys проводили тонкослойной радиохроматографией. Для оценки специфичности *in vitro* использовали клеточные линии: SKOV-3 > BT-474 > DU-145. Константу диссоциации определяли с помощью анализа насыщения на SKOV-3 в диапазоне концентраций белка от 0,2 до 40 нМ. Для оценки таргетных свойств и биораспределения использовали мышей линии Nu/j, несущих ксенотрансплантаты SKOV-3 (HER2/neu позитивные) и ксенотрансплантаты Ramos (HER2/neu негативные).

Результаты. Получен радиокомплекс на основе ^{99m}Tc и лиофилизата таргетных белков DARPin G3-(GGGS)₃Cys с РХЧ более 96%. Связывание ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys с клетками является специфичным с K_D 3,9 ± 0,5 нМ и пропорционально уровню экспрессии HER2/neu в клетках. Поглощение ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys в ксенотрансплантатах SKOV-3 было значимо выше, чем в ксенотрансплантатах Ramos. ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys продемонстрировал быстрое выведение из крови, почечный клиренс, низкие уровни активности в слюнных железах и желудке. Уровень накопления активности в печени составил около 5–7 %ВД/г. Кроме того, ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys имел очень низкое поглощение в легких, мышцах, тонком кишечнике и костях.

✉ Варвашеня Руслан Николаевич, mr.varvashenya@mail.ru

Заключение. Лиофилизат таргетных каркасных белков DARPIn G3-(GGGS)₃Cys, меченый ^{99m}Tc, функционально пригоден для визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в опухолях, поскольку специфически связывается с рецептором, стабилен *in vivo* и имеет благоприятное биораспределение в органах и тканях. Радиокомплекс ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys получен по простой процедуре с высокой радиохимической чистотой.

Ключевые слова: злокачественные опухоли, Her2/neu, радионуклидная диагностика, DARPIn G3, оксотехнеций, лиофилизат

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

Источник финансирования. Работа выполнена за счет финансирования проекта НИ ТПУ (Приоритет 2030 – НИП/ИЗ-104-375/423-2023).

Соответствие принципам этики. Протокол исследования одобрен этическим комитетом СибГМУ (код протокола 7715, 20190826).

Для цитирования: Варвашеня Р.Н., Прач А.А., Плотников Е.В., Деев С.М., Белоусов М.В., Ларькина М.С., Чернов В.И. Оценка функциональной пригодности лиофилизата таргетных каркасных белков с анкириновыми повторами для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в злокачественных опухолях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):16–24. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-16-24>.

Assessing functional suitability of a lyophilized formulation containing designed ankyrin repeat proteins for radionuclide imaging of HER2/neu overexpression in malignant tumors

Varvashenya R.N.^{1,2}, Prach A.A.², Plotnikov E.V.², Deev S.M.^{2,3}, Belousov M.V.^{1,2}, Larkina M.S.^{1,2}, Chernov V.I.^{2,4}

¹ Science and Education Laboratory for Chemical and Pharmaceutical Research, Siberian State Medical University 2, Moscow Trakt, 634050, Russian Federation

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

³ Shemyakin – Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences 16/10, Miklukho – Maklaya Str., Moscow, 117997, Russian Federation

⁴ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Science 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study *in vitro* and *in vivo* the functional suitability of ^{99m}Tc-labeled lyophilized formulation containing designed ankyrin repeat protein (DARPIn) G3-(GGGS)₃Cys for radionuclide imaging of HER2/neu overexpression in malignant tumors.

Materials and methods. To create a targeted protein, a modified genetic construct with the sequence encoding DARPIn G3-(GGGS)₃Cys was used. To generate the experimental probe, we used a lyophilized formulation containing DARPIn G3-(GGGS)₃Cys with auxiliary substances and ^{99m}Tc sodium pertechnetate (500 MBq) incubated at 60 °C for 30 min. Radiochemical purity of ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys was analyzed by thin-layer radiochromatography. SKOV-3, BT-474, and DU-145 cell lines were used to test binding specificity *in vitro*. The dissociation constant was determined via a saturation binding assay on SKOV-3 cells with a range of protein concentrations from 0.2 to 40 nM. Nu/j mice bearing HER2-positive SKOV-3 xenografts and HER2-negative Ramos xenografts were used to evaluate the targeting properties and biodistribution.

Results. A radiocomplex based on ^{99m}Tc and a lyophilized formulation with DARPIn G3-(GGGS)₃Cys was obtained with the radiochemical purity of more than 96%. Binding of ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys to the cells was specific (K_D 3.9 ± 0.5 nM) and proportional to the level of HER2/neu expression in the cells. The uptake of ^{99m}Tc-G3-

(GGGS)₃Cys in SKOV-3 xenografts was significantly higher than in Ramos xenografts. ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys demonstrated rapid blood and renal clearance and had low activity in the salivary glands and stomach. Liver uptake was about 5–7%ID/g. In addition, ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys exhibited very low uptakes in the lungs, muscles, small intestine, and bones.

Conclusion. The ^{99m}Tc-labeled lyophilized formulation with DARPIn G3-(GGGS)₃Cys is functionally suitable for imaging HER2/neu overexpression in tumors, as it binds specifically to the receptor, is stable *in vivo*, and has favorable biodistribution in organs and tissues. The radiocomplex based on ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys was obtained by a simple method with high radiochemical purity.

Keywords: malignant tumors, Her2/neu, radionuclide diagnosis, DARPIn G3, oxotechnetium, lyophilized formulation

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 TPU project (Priority 2030 – NIP / IZ-104-375/423-2023).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol code 7715, 20190826).

For citation: Varvashenya R.N., Prach A.A., Plotnikov E.V., Deev S.M., Belousov M.V., Larkina M.S., Chernov V.I. Assessing functional suitability of a lyophilized formulation containing designed ankyrin repeat proteins for radionuclide imaging of HER2/neu overexpression in malignant tumors. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):16–24. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-16-24>.

ВВЕДЕНИЕ

Гиперэкспрессия трансмембранных тирозинкиназных рецепторов часто коррелирует с процессом возникновения злокачественных новообразований, которые в норме экспрессируются на поверхности всех эпителиальных клеток организма. Особый интерес представляет рецептор эпидермального фактора роста человека 2-го типа (HER2/neu), который играет важную роль в качестве онкорептора при злокачественных опухолях [1] молочной железы, желудочно-кишечного тракта, яичников и других. Этот рецептор чрезмерно экспрессируется во многих случаях рака яичников, молочной железы, пищевода, желудочно-кишечного тракта, раке легких и других видов рака [2].

Рак молочной железы (РМЖ) характеризуется тяжелым течением заболевания, низкими показателями общей и безрецидивной выживаемости, а также амплификацией гена *HER2/neu* в 15–20% случаев. Поэтому данный онкомаркер используется в качестве мишени для диагностики и таргетной терапии у пациентов с гиперэкспрессией рецептора HER2/neu [3].

Моноклональные антитела, конъюгаты антитело-цитотоксин и ингибиторы тирозинкиназы используют в качестве таргетных терапевтических лекарственных средств, которые зависят от специфического распознавания HER2/neu [4]. Первый этап заключается в установке наличия и (или) отсутствия гиперэкспрессии HER2/neu на поверхности опухоле-

вой клетки. Только после этого осуществляется лечение – второй этап. В качестве такого лекарственного средства используется трастузумаб (герцептин), который является золотым стандартом терапии больных HER-2/neu-позитивным РМЖ, существенно увеличивающим показатели общей и безрецидивной выживаемости [5]. Кроме того, терапевтические лекарственные средства, тропные к HER2/neu, также проходят клиническую оценку для лечения карциномы яичников [6], немелкоклеточного рака легкого [7] и карцинома эндометрия [8].

Для рутинного использования зарегистрированных препаратов и дальнейшего развития таких методов лечения необходимо точное определение уровня экспрессии HER2/neu в опухолях. Уровень экспрессии мишени напрямую связан с противоопухолевым эффектом, в случае низкой экспрессии пациенты будут подвергаться риску тяжелых побочных эффектов при использовании таргетных препаратов и цитотоксинов [9]. Главной проблемой применения терапевтических средств, тропных на HER2/neu, является изменчивость экспрессии рецептора в злокачественных опухолях [10].

Биопсия (иммуногистохимический метод и флуоресцентная гибридизация *in situ*) является рутинным методом определения экспрессии HER2/neu [11]. Однако биопсия осложняется при наличии множественных метастазов из-за инвазивности этой процедуры, практически невозможно оценить распространенность опухолевого процесса и обнаружить

изменения уровня экспрессии HER2/neu после неoadьювантной терапии [11]. Чтобы преодолеть недостатки инвазивной биопсии, была предложена радионуклидная молекулярная визуализация экспрессии HER2/neu *in vivo* [12].

На основе результатов доклинических [13] и некоторых клинических [12–14] исследований о различных типах агентов для молекулярной визуализации HER2/neu (антитела, каркасные белки, фрагменты антител, аптамеры, пептиды) можно заключить, что наиболее перспективными таргетными молекулами являются каркасные белки. Они обеспечивают более высокую контрастность изображений в короткие сроки (2–4 ч после инъекции) по сравнению с другими нацеливающими агентами [12].

Рекомбинантные белки с антириновидами повторами (DARPin), представляющие собой сконструированные высокоаффинные стабильные белки небольшого размера (14–18 кДа), являются перспективными при разработке радиофармацевтических лекарственных средств для визуализации онкоцепторов. DARPins с высоким сродством к HER2/neu были отобраны с использованием рибосомного дисплея и продемонстрировали очевидный потенциал для нацеливания на опухоль [15]. R. Goldstein и соавт. продемонстрировали возможность радионуклидной визуализации экспрессии HER2/neu в ксенотрансплантатах опухолей человека у мышей с использованием DARPins, меченных ^{111}In и ^{125}I [16]. В ходе дальнейших исследований установлено, что DARPin G3 является лучшим вариантом для разработки агентов для молекулярной визуализации [17].

Для визуализации в ядерной медицине чаще всего используется радионуклид $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (период полураспада 6 ч), обеспечивающий хорошее пространственное разрешение и низкую поглощенную дозу у пациентов. Технеций-99m производится из генераторов, содержащих ^{99}Mo (период полураспада 65,9 ч), которые могут быть доставлены в отдаленные больницы и обеспечивать $^{99\text{m}}\text{Tc}$ до 2 нед [18]. Таким образом, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ является привлекательной меткой для радионуклидной визуализации на основе однофотонной эмиссионной компьютерной томографии.

В I фазе клинических исследований был изучен вариант DARPin G3, меченный трикарбонилем одновалентного технеция [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Tc(CO) $_3$ посредством гистидин-содержащего тага ((HE) $_3$ – три(гистидилглутамат)) [13]. Клинические данные показали, что использование DARPin (HE) $_3$ -G3 для радионуклидной диагностики безопасно при воздействии на пациентов малых доз. Диагностическая визуализация с использованием DARPin (HE) $_3$ -G3, меченого $^{99\text{m}}\text{Tc}$, обеспечивала четкую визуализацию HER2-экспрес-

сирующего РМЖ железы через 4 ч после инъекции и надежно различала HER2-положительные и HER2-отрицательные опухоли.

К недостаткам этого экспериментального радиофармпрепарата для клинического использования относятся двухэтапная процедура мечения и необходимость сложной очистки от радиохимических примесей. Это побудило к дальнейшим исследованиям по оптимизации и совершенствованию радиоактивной метки DARPin G3 технецием-99m для более простой и быстрой одноэтапной процедуры. Предыдущие исследования с использованием вариантов DARPin G3 показали, что использование хелаторов на основе пептида, размещенного на С-конце, содержащего цистеин, для образования оксотехнециевого комплекса обеспечивает низкое поглощение в нормальных тканях и высокое поглощение активности опухолью [19]. Было также показано, что новые варианты DARPin G3, меченные комплексом оксотехнеция, обеспечивают похожий контраст изображения, как и клинически апробированный вариант DARPin (HE) $_3$ -G3 [19]. Один из улучшенных вариантов DARPin G3, содержащий хелатор Gly-Gly-Gly-Ser-Cys, соединенный через (Gly-Gly-Gly-Ser) $_2$ -линкер на С-конце и обозначенный как $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -G3-(GGGS) $_3$ Cys, был предложен для пилотных клинических исследований (NCT05923268).

Однако перед клиническими испытаниями необходимо изучение функциональной пригодности DARPin G3-(GGGS) $_3$ Cys в составе полной композиции в форме лиофилизата. На функциональную пригодность таргетной молекулы белковой природы влияют многие факторы, в частности выбор хелатирующего агента для связывания радионуклида $^{99\text{m}}\text{Tc}$, условия мечения, состав композиции (комбинация химических предшественников). Существенную роль на аффинность, таргетные свойства и биораспределение *in vivo* таких молекул оказывает вид лекарственной формы. Изменение состава лекарственной формы, переход белка из раствора в лиофильное состояние могут привести к снижению или полному отсутствию его функциональной пригодности для визуализации HER2/neu и требует оценки этих свойств в *in vitro* и *in vivo* экспериментах.

Следует отметить, что таргетные белки, содержащие аминокислоту цистеин, легко окисляются до неаффинных гомодимеров, что делает их очень чувствительными к технологическим режимам, которые используются в получении лиофилизатов, являющихся, несомненно, наиболее удобными и стабильными при хранении лекарственными формами для рутинного изготовления радиофармацевтических лекарственных препаратов в медицинской организации [18].

Целью настоящего исследования было исследовать *in vitro* и *in vivo* функциональную пригодность лиофилизата таргетных каркасных белков с анкириновыми повторами DARPin G3-(GGGS)₃Cys, меченых ^{99m}Tc, для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в злокачественных опухолях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нуклеотидная последовательность гена *DARPin G3* была выведена из аминокислотной последовательности DARPin G3, депонированной в PDB (номер доступа PDB: 2JAB) с учетом использования кодонов в высокоэкспрессируемых генах *Escherichia coli* с помощью свободно распространяемой программы DNABuilder (<http://www.innovationsinmedicine.org/software/DNABuilder/>). Геном был собран методом полимеразной цепной реакции из химически синтезированных олигонуклеотидов длиной 50 п.н., имеющих частично комплементарные последовательности. Экспрессию, выделение и очистку DARPin G3-(GGGS)₃Cys проводили согласно методике, описанной ранее [19].

Методика изготовления экспериментального препарата. Пертехнетат технеция-99m, [^{99m}Tc]TcO₄, был получен из коммерческого ^{99m}Mo/^{99m}Tc генератора ГТ-4К (ФГУП «Институт физической химии им. Л.Я. Карпова», г. Обнинск, Россия). Образцы получали с применением реагентов Fluka, Acros Organics (Великобритания), Panreac, Sigma Aldrich (США) и других марки х.ч. Во флакон, содержащий лиофилизированную смесь 3,3 мг DARPin G3-(GGGS)₃Cys, 0,66 мг D-маннозы, 0,33 мг ПЭГ-4000, 0,075 мг олова (II) хлорида дигидрата, 5 мг натрия глюконата, 0,1 мг тетранатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и фосфатного буфера, добавляли 500 мкл раствора натрия пертехнетата, ^{99m}Tc с активностью 500 МБк и перемешивали. Содержимое флакона инкубировали при 60 °С в течение 30 мин. После содержимое флакона доводили до 10 мл стерильным раствором 0,9%-го натрия хлорида. После перемешивания раствор фильтровали с помощью стерилизующей насадки на шприц с диаметром пор 0,2 мкм в стерильный депирогенизированный флакон. Анализ радиохимической чистоты экспериментальных образцов ^{99m}Tc-G3-(GGGS)₃Cys проводили методом хроматографии в тонком слое сорбента с использованием полосок стекловолна на силикагеле iTLC (Agilent Technologies Inc. Folsom, США) в элюирующей системе фосфатно-солевом буфере (pH = 7,4). Измерение радиоактивности на полосках iTLC в СРМ проводили с помощью радио-iTLC-сканера miniGITA Single (Elysia Raytest, Германия). Для получения стерильного раствора для

экспериментов на лабораторных животных радиоактивность измеряли на радиометре (РИС 1А, Амплитуда, Россия), оснащенного ионизационной камерой.

Радиоактивность в образцах *in vitro* и *in vivo* измеряли с помощью автоматизированного гамма-спектрометра с детектором NaI(Tl) Wizard 2480 (Pelkin Elmer, США). Клеточные линии раковых клеток человека SKOV-3 (карцинома яичников человека), BT-474 (карцинома молочной железы человека), экспрессирующие рецепторы HER2/neu, а также клеточная линия DU-145 (аденокарцинома простаты человека) с низким уровнем экспрессии HER2/neu были приобретены в ООО «ПраймБиоМед» (г. Москва, Россия). Клетки культивировали в среде Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640), дополненной 10%-й фетальной бычьей сыворотки (FBS), 2 mM L-глутамина, 100 МЕ/мл пенициллина и стрептомицина 100 мкг/мл, в увлажненном инкубаторе с 5%-м CO₂ при 37 °С.

Для оценки специфичности *in vitro* за 24 ч до эксперимента клетки высевали в планшеты по 6 лунок, плотность составила 7×10^5 клеток на лунку. Для одной клеточной линии использовали один планшет. В качестве контрольной группы использовали 100-кратный избыток немеченого белка DARPin G3-(GGGS)₃Cys. К трем чашкам опытной группы добавляли такой же объем среды для культивирования клеток. Чашки инкубировали при 37 °С 30 мин для насыщения рецепторов HER2/neu. После этого раствор [^{99m}Tc]Tc-G3-(GGGS)₃Cys добавляли в каждую чашку до финальной концентрации 1 нМ и инкубировали при 37 °С 1 ч. После инкубации среду собирали, клетки промывали фосфатным буфером и объединяли растворы, затем клетки отделяли трипсином и собирали. Активность фракций измеряли с помощью гамма-спектрометра и рассчитывали процент связанной с клетками активности в пересчете на 1 млн клеток. Эксперимент проводился при трехкратном повторении.

Методика определения равновесной константы диссоциации (K_D) была описана ранее [19]. Эксперимент проводили на клеточной линии SKOV-3. Радиоактивность измеряли с помощью гамма-спектрометра. Параметры K_D и максимальное количество сайтов связывания на клетку (B_{max}) рассчитывали методом нелинейной регрессии с использованием программы PRISM (Graphpad Software, США).

Для оценки таргетных свойств и биораспределения меченого ^{99m}Tc лиофилизата белка G3-(GGGS)₃Cys использовали иммунодефицитных мышей линии Nu/j, несущих ксенотрансплантаты SKOV-3 с высокой экспрессией HER2/neu, и ксенотрансплантаты Ramos с отсутствием экспрессии HER2/neu. Сам-

кам мышей Nu/J подкожно имплантировали десять млн клеток SKOV-3 или такое же количество клеток Ramos. Эксперименты проводили через 3 нед после имплантации. Средняя масса животных на момент проведения эксперимента составляла ($25,4 \pm 1,8$) г. Средняя масса опухоли составляла ($0,4 \pm 0,2$) и ($0,2 \pm 0,05$) г для ксенотрансплантатов SKOV-3 и Ramos соответственно. Мышам вводили 3 мкг $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ (40 кБк, 100 мкл в стерильном фосфатно-солевом растворе) в хвостовую вену. Кровь, органы и ткани, представляющие интерес, после эвтаназии животных, собирали и взвешивали, активность измеряли с помощью гамма-спектрометра. Расчет накопленной активности в органах рассчитывали как процент от введенной дозы на грамм образца (%ВД/г).

При планировании и проведении экспериментов над животными соблюдались все применимые международные и национальные руководящие принципы Российской Федерации по уходу и использованию животных. Протокол исследования на животных одобрен этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (код протокола 7715, 20190826).

Для определения значимых различий ($p < 0,05$) использовали *U*-критерий Манна–Уитни. Статистический анализ проводили с помощью программы Prism (версия 9.0.0 для Windows; GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Состав лиофилизата белка $\text{G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ для изготовления экспериментального образца был разработан как многокомпонентный, что обусловлено необходимостью применения двух групп вспомогательных веществ [19–21]. Первая группа направлена на защиту функциональности белка при технологии получения лиофилизата и сохранение его способности переходить в раствор при растворении лиофилизата. В качестве таких вспомогательных веществ использовали D-манозу и ПЭГ-4000. Вторая группа веществ необходима для радиоактивного мечения белка, в основе которого лежит процесс восстановления семивалентного ^{99m}Tc в пертехнетате натрия до пятивалентного с последующим образованием комплекса оксотехнеция с хелатной группой (-GGSC) белка. В качестве таких веществ использовали восстановитель олова дихлорид, солиганд натрия глюконат и ЭДТА. После добавления раствора элюата пертехнетата с генератора к лиофилизату смесь инкубировали при нагревании согласно процедуре [19]. Радиохимическая чистота радиокомплекса $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ составила 98 ± 1 %. Методика мечения раствора белка $\text{G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$, предложенная ранее [19], воспроизводится для лиофилизата с

получением радиокомплекса $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ высокой чистоты, не требующем очистки.

Для изучения специфичности к HER2/neu меченого ^{99m}Tc лиофилизата протеина $\text{G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ использовали клеточные линии с различным уровнем экспрессии рецептора: SKOV-3 > BT-474 > DU-145. Эксперимент проводили с блокированием рецепторов немеченым белком $\text{G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$. Изучение специфичности *in vitro* продемонстрировало высокий уровень специфического связывания с клетками и пропорционально уровню экспрессии HER2/neu в клетках. При этом блокирование рецепторов избытком немеченого белка отмечается значительное снижение связывания $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ во всех группах клеток ($p < 0,0005$) (рис. 1).

Оценка аффинности методом насыщения показала, что $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ связывается с рецепторами HER2/neu на поверхности клеток SKOV-3 с наномолярным значением K_D ($3,9 \pm 0,5$ нМ) (рис. 1), что характеризует меченый ^{99m}Tc белок, полученный из лиофилизата, как высокоаффинный к целевым рецепторам.

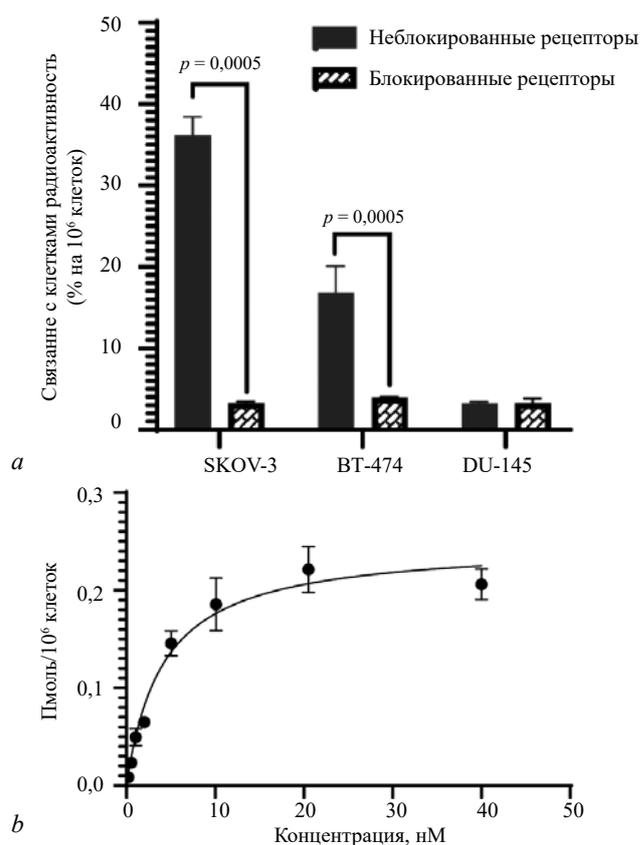


Рис. 1. Результаты *in vitro* оценки меченого ^{99m}Tc лиофилизата белка $\text{G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$: а – определение специфичности связывания с HER2/neu; б – кривая насыщения на HER2/neu-экспрессирующих клетках SKOV-3. Результаты представлены в качестве средних значений % на 10^6 клеток \pm стандартное отклонение из трех образцов

Сравнение биораспределения и накопления $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ в ксенотрансплантатах SKOV-3 с высокой экспрессией HER2/neu и Ramos с отсутствием экспрессии HER2/neu представлены на рис. 2. Параллельное сравнение биораспределения $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ в ксенотрансплантатах SKOV-3 и Ramos показало, что характер биораспределения аналогичен ($p > 0,05$), за исключением накопления в опухоли. Поглощение $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ в ксенотрансплантатах SKOV-3 было значительно ($p < 0,005$) выше, чем в ксенотрансплантатах Ramos. Это показывает, что уровень накопления коррелирует с экспрессией HER2/neu.

$^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ продемонстрировал быстрое выведение из крови и преимущественно почечный клиренс, при этом наблюдалось невысокое сохранение активности в почках 12–20 %ВД/г. Это может быть обусловлено быстрой интернализацией белка после реабсорбции в почках и высвобождения из клетки радиокатаболитов, содержащих остатки аминокислоты глицина в хелатной группе [17].

Низкие уровни накопления активности отмечаются также в слюнных железах и желудке, что свидетельствует о стабильности радиокомплекса *in vivo*, поскольку не наблюдался гидролиз комплекса с выделением свободного ^{99m}Tc , способного накапливаться в этих органах. Кроме того, вариант $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ имел очень низкое поглощение в легких, мышцах, тонком кишечнике и костях, что является благоприятным для визуализации метастаз в этих областях [22].

Уровень накопления активности в печени составил около 5–7 %ВД/г при соотношении опухоль/печень менее одного (около 0,7 раза), что является нежелательным для визуализации метастаз в печени. Однако биораспределение у мышей не полностью совпадает с биораспределением у человека, и можно ожидать, что в клинических исследованиях уровень накопления в печени не будет препятствовать визуализации метастаз в печени [23]. Судя по всему, выделение радиометаболитов через желчь играло незначительную роль, так как активность в желудочно-кишечном тракте с его содержимым была низкой (около 2%).

Можно предположить, что механизм удержания активности в печени не полностью обусловлен гепатобилиарной экскрецией, а возможно, это лиганд-рецепторное взаимодействие или иные механизмы. Экспрессия HER2/neu в печени присутствует и может обуславливать накопление активности рецептор-зависимого белка $\text{G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ в этом органе. Подбор оптимальной дозы белка в клинических исследованиях радиомеченых каркасных белков позволяет контролировать этот процесс и получать

желаемый контраст для визуализации метастазов в печени [14, 24].

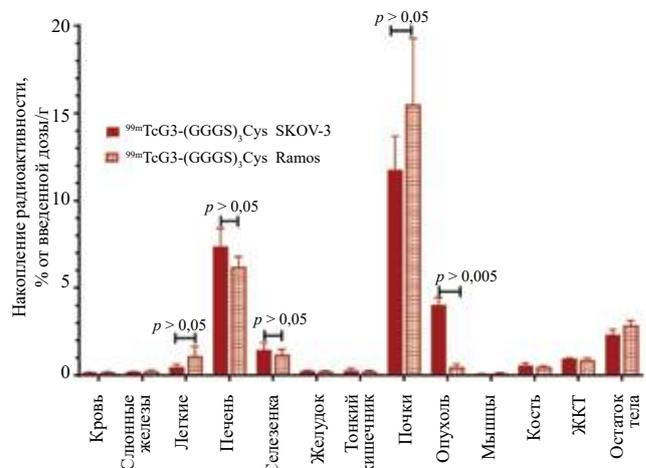


Рис. 2. Сравнительное биораспределение $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ через 4 ч после инъекции в ксенотрансплантатах SKOV-3 (высокая экспрессия HER2/neu) и Ramos (отрицательная экспрессия HER2/neu) у мышей Nu/j. Данные для желудочно-кишечного тракта с его содержимым и остаток тела представлены в виде %ВД на весь образец, для пяти мышей – в виде среднего значения %ВД/г ± стандартное отклонение

Поскольку прямого сравнения на одной партии мышей $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$, полученного из лиофилизата, и $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$, полученного из раствора белка, не подвергавшегося технологическим воздействиям, в данной работе не проводилось, нет возможности достоверно утверждать, есть ли какие-либо изменения в функциональной пригодности белка из лиофилизата. Однако если сравнить с опубликованными нами ранее данными [19] о биораспределении и целевых свойствах у мышей Nu/J, несущих SKOV-3 ксенотрансплантаты, то белок из лиофилизата в подобранной композиции имеет схожие свойства, как и нативный белок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования *in vitro* и *in vivo* подтвердили функциональную пригодность лиофилизата целевых каркасных белков с анкириновыми повторами DARPin $\text{G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$, меченых ^{99m}Tc , для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в злокачественных опухолях. Радиокомплекс $^{99m}\text{Tc-G3-(GGGS)}_3\text{Cys}$ изготавливается с высокой радиохимической чистотой без дополнительной очистки, специфически связывается с HER2/neu в опухолевых клетках, стабилен *in vivo* и имеет благоприятное биораспределение для дальнейшей трансляции в клинические исследования.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Roskoski R. Jr. Small molecule inhibitors targeting the EGFR/ErbB family of protein-tyrosine kinases in human cancers. *Pharmacol. Res.* 2019;139:395–411. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.11.014.
- Swain S.M., Shastry M., Hamilton E. Targeting HER2-positive breast cancer: advances and future directions. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2023;22(2):101–126. DOI: 10.1038/s41573-022-00579-0.
- Giordano S.H., Franzoi M.A.B., Temin S., Anders C.K., Chandrapaty S., Crews J.R. et al. Systemic therapy for advanced human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: ASCO guideline update. *J. Clin. Oncol.* 2022;40(23):2612–2635. DOI: 10.1200/jco.22.00519.
- Al-Batran S.E., Moorahrend E., Maintz C., Goetze T.O., Hempel D., Thuss-Patience P. et al. Clinical practice observation of trastuzumab in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *Oncologist.* 2020;25(8):e1181–1187. DOI: 10.1634/theoncologist.2020-0109.
- Swain S.M., Miles D., Kim S.B., Im Y.H., Im S.A., Semiglazov V. et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA): end-of-study results from a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2020;21(4):519–530. DOI: 10.1016/s1470-2045(19)30863-0.
- Lorusso D., Hilpert F., González Martin A., Rau J., Ottevaner P., Greimel E. et al. Patient-reported outcomes and final overall survival results from the randomized phase 3 PENELOPE trial evaluating pertuzumab in low tumor human epidermal growth factor receptor 3 (HER3) mRNA-expressing platinum-resistant ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2019;29(7):1141–1147. DOI: 10.1136/ijgc-2019-000370.
- Li B.T., Smit E.F., Goto Y., Nakagawa K., Udagawa H., Mazières J. et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 2022;386(3):241–251. DOI: 10.1056/NEJMoa2112431.
- Tymon-Rosario J., Siegel E.R., Bellone S., Harold J., Adjei N., Zeybek B. et al. Trastuzumab tolerability in the treatment of advanced (stage III-IV) or recurrent uterine serous carcinomas that overexpress HER2/neu. *Gynecol. Oncol.* 2021;163(1):93–99. DOI: 10.1016/j.ygyno.2021.07.033.
- Modi S., Jacot W., Yamashita T., Sohn J., Vidal M., Tokunaga E. et al. Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER2-Low advanced breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2022;387(1):9–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2203690.
- Брагина О.Д., Деев С.М., Гарбуков Е.Ю., Гольдберг В.Е., Чернов В.И., Толмачев В.М. Прямое сравнение диагностической эффективности радиофармацевтических препаратов на основе альтернативных каркасных протеинов [99mTc] Tc-ADAPT6 и [99mTc] Tc-(HE) 3-G3 у больных HER2-позитивным раком молочной железы. *Бюллетень сибирской медицины.* 2023;22(3):6–13.
- Sörensen J., Velikyan I., Sandberg D., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V. et al. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [68Ga]ABY-025 affibody PET/CT. *Theranostics.* 2016;6(2):262–271. DOI: 10.7150/thno.13502.
- Deyev S., Vorobyeva A., Schulga A., Proshkina G., Güler R., Löfblom J. et al. Comparative evaluation of two DARPIn variants: effect of affinity, size, and label on tumor targeting properties. *Mol. Pharm.* 2019;16(3):995–1008. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00922.
- Bragina O., Chernov V., Larkina M., Rybina A., Zelchan R., Garbukov E. et al. Phase I clinical evaluation of (99m)Tc-labeled affibody molecule for imaging HER2 expression in breast cancer. *Theranostics.* 2023;13(14):4858–4871. DOI: 10.7150/thno.86770.
- Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPin): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2015;55:489–511. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134654.
- Goldstein R., Sosabowski J., Livanos M., Leyton J., Vigor K., Bhavsar G. et al. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPIn) G3 for HER2 molecular imaging. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2015;42(2):288–301. DOI: 10.1007/s00259-014-2940-2.
- Vorobyeva A., Schulga A., Konovalova E., Güler R., Löfblom J., Sandström M. et al. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of (99m)Tc-labeled DARPIn G3. *Sci. Rep.* 2019;9(1):9405. DOI: 10.1038/s41598-019-45795-8.
- Tolmachev V., Orlova A., Sörensen J. The emerging role of radionuclide molecular imaging of HER2 expression in breast cancer. *Semin. Cancer Biol.* 2021;72:185–197. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.10.005.
- Bragina O., Chernov V., Schulga A., Konovalova E., Garbukov E., Vorobyeva A. et al. Phase I trial of (99m)Tc-(HE) (3)-G3, a DARPIn-based probe for imaging of HER2 expression in breast cancer. *J. Nucl. Med.* 2022;63(4):528–535. DOI: 10.2967/jnumed.121.262542.
- Larkina M., Plotnikov E., Bezverkhniia E., Shabanova Y., Tretyakova M., Yuldasheva F. et al. Comparative preclinical evaluation of peptide-based chelators for the labeling of DARPIn G3 with (99m)Tc for radionuclide imaging of HER2 expression in cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(21). DOI: 10.3390/ijms232113443.
- Malakhov M.P., Mattern M.R., Malakhova O.A., Drinker M., Weeks S.D., Butt T.R. SUMO fusions and SUMO-specific protease for efficient expression and purification of proteins. *J. Struct. Funct. Genomics.* 2004;5(1-2):75–86. DOI: 10.1023/b:Jsfg.0000029237.70316.52.
- Cleland J.L., Jones A.J. Stable formulations of recombinant human growth hormone and interferon-gamma for microencapsulation in biodegradable microspheres. *Pharm. Res.* 1996;13(10):1464–1475. DOI: 10.1023/a:1016063109373.
- Riihimäki M., Thomsen H., Sundquist K., Sundquist J., Hemminki K. Clinical landscape of cancer metastases. *Cancer Med.* 2018;7(11):5534–5542. DOI: 10.1002/cam4.1697.
- Bragina O., Chernov V., Schulga A., Konovalova E., Hober S., Deyev S. et al. direct intra-patient comparison of scaffold protein-based tracers, [(99m)Tc]Tc-ADAPT6 and [(99m)Tc]Tc-(HE)3-G3, for imaging of HER2-positive breast cancer. *Cancers (Basel).* 2023;15(12). DOI: 10.3390/cancers15123149.
- Bragina O., von Witting E., Garousi J., Zelchan R., Sandström M.,

Orlova A. et al. Phase I study of (99m)Tc-ADAPT6, a scaffold protein-based probe for visualization of HER2 expression

in breast cancer. *J. Nucl. Med.* 2021;62(4):493–499. DOI: 10.2967/jnumed.120.248799.

Вклад авторов

Варвашеня Р.Н. – проведение радиохимических исследований, выполнение экспериментов *in vivo*, *in vitro*, подготовка теста статьи. Прач А.А. – выполнение экспериментов *in vivo*, *in vitro*. Плотников Е.В., Ларькина М.С. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи. Деев С.М. – разработка концепции и дизайна исследования. Белоусов М.В. – интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания. Чернов В.И. – обоснование рукописи, разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи.

Информация об авторах

Варвашеня Руслан Николаевич – аспирант, лаборант-исследователь, НОЛХФИ, СибГМУ, г. Томск, mr.varvashenya@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0002-4282-3198>

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, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4374-6422>

Деев Сергей Михайлович – д-р биол. наук, профессор, академик РАН, руководитель лаборатории молекулярной иммунологии ИБХ им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, biomem@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3952-0631>

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>

Ларькина Мария Сергеевна – д-р фармацевт. наук, профессор, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск, marialarkina@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1176-2441>

Чернов Владимир Иванович – член-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, chernov@tnimc.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8753-7916>

(✉) **Варвашеня Руслан Николаевич**, mr.varvashenya@mail.ru

Поступила в редакцию 21.03.2024;
одобрена после рецензирования 27.05.2024;
принята к публикации 30.05.2024

УДК 616.988-002.954-02:616.155.32
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-25-33>

Особенности субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов крови при клещевых инфекциях разной этиологии

Воронкова О.В., Ильинских Е.Н., Хасанова Р.Р., Есимова И.Е., Невская К.В., Карпова М.Р., Чернышов Н.А., Ямпольская А.В., Ямпольская О.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель – провести сравнительную оценку субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов периферической крови у больных клещевым энцефалитом (КЭ) и иксодовым клещевым боррелиозом (ИКБ) в остром периоде заболевания.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 22 больных с лихорадочной и менингеальной формами КЭ, 15 пациентов с безэритемной и эритемной формами ИКБ и 11 здоровых лиц. Определение субпопуляционного состава лимфоцитов в крови проводили методом проточной цитофлуориметрии. Пролиферативную активность лимфоцитов исследовали в реакции бластной трансформации. Цитокинпродуцирующую активность клеток исследовали в 24-часовых культурах мононуклеарных лейкоцитов; концентрацию цитокинов (интерлейкина (IL) 2, IL-4, IL-10, интерферона гамма (IFN γ)) определяли в культуральной жидкости методом иммуноферментного анализа.

Результаты. У пациентов с КЭ на фоне низкого по сравнению с контрольными значениями числа Т-лимфоцитов зарегистрировано повышение доли Т-хелперов/индукторов и выраженное снижение относительного и абсолютного количества Т-цитотоксических лимфоцитов. У больных ИКБ выявлено повышение числа Т-хелперов/индукторов и доли НК-клеток, а также сопоставимое с нормой количество Т-лимфоцитов и низкое содержание Т-цитотоксических клеток. Наиболее значимое снижение уровня ФГА-индуцированной лимфопротекции зарегистрировано у пациентов с КЭ. У пациентов обеих групп выявлено снижение секреции IL-2 в культуре мононуклеарных лейкоцитов, повышение наработки IL-4 и IL-10 и сопоставимый с нормой уровень продукции IFN γ .

Заключение. У больных КЭ на фоне относительной лимфоцитопении регистрируются изменения субпопуляционного состава лимфоцитов, характеризующиеся повышением доли Т-хелперов/индукторов при абсолютной недостаточности Т-цитотоксических лимфоцитов. При ИКБ наблюдается повышение доли НК-клеток, а дисбаланс соотношения Т-хелперы/Т-цитотоксические лимфоциты выражен сильнее, чем при КЭ. Изменения функционального фенотипа лимфоцитов вне зависимости от этиологического варианта инфекции характеризуются снижением резерва пролиферативной активности на фоне низкой секреции IL-2, повышением наработки IL-4 и IL-10 и недостаточной реактивностью лимфоцитов в отношении секреции IFN γ .

Ключевые слова: клещевой энцефалит, иксодовый клещевой боррелиоз, лимфоциты, цитокины

Конфликт интересов. Авторы гарантируют отсутствие потенциальных и явных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 22-15-20010, <https://rscf.ru/project/22-15-20010/>) и средств Администрации Томской области.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ (протокол № 9119/1 от 30.05.2022).

✉ Воронкова Ольга Владимировна, voronkova-ov@yandex.ru

Для цитирования: Воронкова О.В., Ильинских Е.Н., Хасанова Р.Р., Есимова И.Е., Невская К.В., Карпова М.Р., Чернышов Н.А., Ямпольская А.В., Ямпольская О.В. Особенности субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов крови при клещевых инфекциях разной этиологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):25–33. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-25-33>.

Features of subset composition and functional activity of blood lymphocytes in tick-borne infections of different etiologies

Voronkova O.V., Ilyinskikh E.N., Hasanova R.R., Esimova I.E., Nevskaya K.V., Karpova M.R., Chernyshov N.A., Yampolskaya A.V., Yampolskaya O.V.

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

ABSTRACT

Aim. To perform a comparative assessment of subset composition and functional activity of peripheral blood lymphocytes in patients with tick-borne encephalitis (TBE) and ixodid tick-borne borreliosis (ITBB) in the acute phase of the disease.

Materials and methods. The study involved 22 patients with febrile and meningeal TBE, 15 patients with ITBB with and without erythema, and 11 healthy controls. Subset composition of blood lymphocytes was determined by flow cytometry. The blast transformation assay was applied to assess lymphocyte proliferation. Cytokine-producing activity of cells was studied in 24-hour incubated mononuclear cell cultures. Cytokine concentrations (interleukin (IL)-2, IL-4, IL-10, interferon (IFN) γ) were determined in the supernatants by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results. Patients with TBE demonstrated an increase in the proportion of helper – inducer T-cells, a pronounced decrease in the proportion and absolute count of cytotoxic T cells, and low T lymphocyte count compared to the control values. The study in ITBB patients revealed an increase in the helper – inducer T-cell count and the proportion of NK-cells, a decrease in the cytotoxic T cell count, and the T lymphocyte count comparable to normal values. The most significant decrease in the levels of phytohemagglutinin-induced lymphocyte proliferation was found in patients with TBE. Patients of both groups showed a decrease in IL-2 secretion in the mononuclear cell culture, a rise in IL-4 and IL-10 production, and IFN γ production levels comparable to control values.

Conclusion. The study of TBE patients revealed relative lymphocytopenia with changes in the subset composition of lymphocytes characterized by an increase in the proportion of helper – inducer T-cells and a decrease in the absolute cytotoxic T lymphocyte count. Patients with ITBB demonstrated an increase in the proportion of NK-cells and a more pronounced imbalance in the T-helper / cytotoxic T lymphocyte ratio. Changes in the functional phenotype of lymphocytes, regardless of the etiology of tick-borne infection, were characterized by reduced proliferative reserve, low IL-2 secretion, increased IL-4 and IL-10 production, and depressed reactivity of lymphocytes with respect to IFN γ secretion.

Keywords: tick-borne encephalitis, ixodid tick-borne borreliosis, lymphocytes, 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 study was supported by the Russian Science Foundation grant (No. 22-15-20010, <https://rscf.ru/project/22-15-20010/>) and the funds of the Tomsk Regional Administration.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 9119/1 of 30.05.2022).

For citation: Voronkova O.V., Ilyinskikh E.N., Hasanova R.R., Esimova I.E., Nevskaya K.V., Karpova M.R., Chernyshov N.A., Yampolskaya A.V., Yampolskaya O.V. Features of subset composition and functional activity of blood lymphocytes in tick-borne infections of different etiologies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):25–33. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-25-33>.

ВВЕДЕНИЕ

На фоне значительных успехов в области профилактики, диагностики и лечения большинства инфекционных заболеваний проблема клещевых природно-очаговых инфекций далека до своего полного решения. Частые случаи регистрации хронического течения иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ), выраженный полиморфизм клинических проявлений и особенности течения клещевого энцефалита (КЭ) (от легких стертых форм до прогрессивных и тяжелых) с развитием отдаленных осложнений свидетельствуют о недостаточности научных знаний о проблеме взаимоотношений «патоген – макроорганизм» [1, 2].

Как известно, патогенез любого инфекционного заболевания представляет собой сложный динамический процесс, в ходе которого реализуется патогенный потенциал возбудителя во взаимодействии с факторами врожденного и адаптивного иммунитета организма хозяина. При этом функциональная состоятельность и эффективное кооперативное взаимодействие антигенпредставляющих, регуляторных и эффекторных иммунных клеток в процессе иммунного ответа в значительной степени определяют не только возможность манифестации, но и варианты исходов инфекционного процесса [3, 4]. В ряде случаев отсутствие специфических клинических и лабораторных проявлений при некоторых формах трансмиссивных природно-очаговых инфекций, передаваемых иксодовыми клещами, обуславливает трудности дифференциальной диагностики на ранних этапах развития заболевания [5]. В связи с этим изучение особенностей и механизмов развития разных этиологических вариантов клещевых инфекций имеет не только теоретическую, но и практическую значимость, в частности, для выявления новых биомаркеров нарушений структурного и функционального фенотипа иммунных клеток, значимых для диагностики и прогноза заболеваний.

Цель исследования – провести сравнительную оценку субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов периферической крови у больных клещевым энцефалитом и иксодовым клещевым боррелиозом в остром периоде заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 37 пациентов с острыми клещевыми инфекциями, из них 22 больных с КЭ (лихорадочная и менингеальная формы, средний возраст пациентов $49,88 \pm 2,81$ лет) и 15 пациентов с ИКБ (эритемная и безэритемная формы, средний возраст $46,00 \pm 2,79$ лет). Диагноз устанавливали на основании собранного анамнеза и резуль-

татов объективного обследования, которое включало общеклинические лабораторные исследования и метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с определением в крови концентрации IgM и IgG к *Borrelia burgdorferi* s.l. и к вирусу КЭ, а также антигена вируса КЭ. Дополнительно у всех больных посредством ПЦР-диагностики (наборы серии «РеалБест», АО «Вектор-Бест», Россия) были исключены возвратная клещевая лихорадка, обусловленная инфицированием *Borrelia miyamotoi*, эрлихиоз и гранулоцитарный анаплазмоз человека. Контрольную группу составили 11 здоровых лиц (средний возраст $48,13 \pm 2,76$ лет). Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая при поступлении пациента в стационар (инфекционная клиника ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России).

Определение абсолютных и относительных значений отдельных субпопуляций лимфоцитов (Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), Т-хелперов/индукторов (CD3+CD4+CD45+), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+CD45+), истинных «натуральных киллеров» (NK-клетки) (CD3-CD56+CD45+) и В-лимфоцитов (CD19+CD3-)) проводили методом иммунофенотипирования с использованием флуоресцентно-меченых моноклональных антител (Elabscience, КНР) и последующего многоцветного цитометрического анализа на проточном цитофлуориметре Accuri C6 (BD Biosciences, США). Для правильного исключения из зоны анализа всех частиц, не соответствующих по размерам и гранулярности живым лимфоцитам, вводили необходимые логические ограничения в гистограммы распределения по малому и боковому светорассеянию (рис.). Оценивали долю позитивных клеток от общего количества случаев в процентах, применяя логические ограничения по отдельным маркерам. В каждой пробе анализировали не менее 10^4 лимфоцитов. Абсолютное содержание субпопуляций клеток определяли, исходя из их доли и абсолютного содержания лимфоцитов в крови, которое определяли на гематологическом анализаторе Sysmex XN1000 (Sysmex, Япония).

Спонтанную и стимулированную пролиферативную активность клеток крови исследовали в реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ). Культуральную суспензию готовили, смешивая в соотношении 1 : 4 гепаринизированную венозную кровь с питательной средой RPMI-1640, дополненной L-глутамином и эмбриональной телячьей сывороткой (ООО «БиолоТ», Россия). В одну из двух проб вносили фитогемагглютинин (ФГА) (Sigma, США) ($0,01 \text{ мг}/2,0 \times 10^6/\text{мл}$) и инкубировали при 37°C и 5%-й концентрации CO_2 в течение 72 ч. После

инкубации содержимое флаконов ресуспендировали, центрифугировали, из осадка готовили мазки, фиксировали и окрашивали азури-эозином. Интенсивность РБТЛ определяли стандартным морфологическим методом в процессе световой микроскопии,

анализируя количество неизменных и бластных форм лимфоцитов (%), а также рассчитывали индекс стимуляции как отношение показателя ФГА-индуцированной бласттрансформации лимфоцитов к спонтанной.

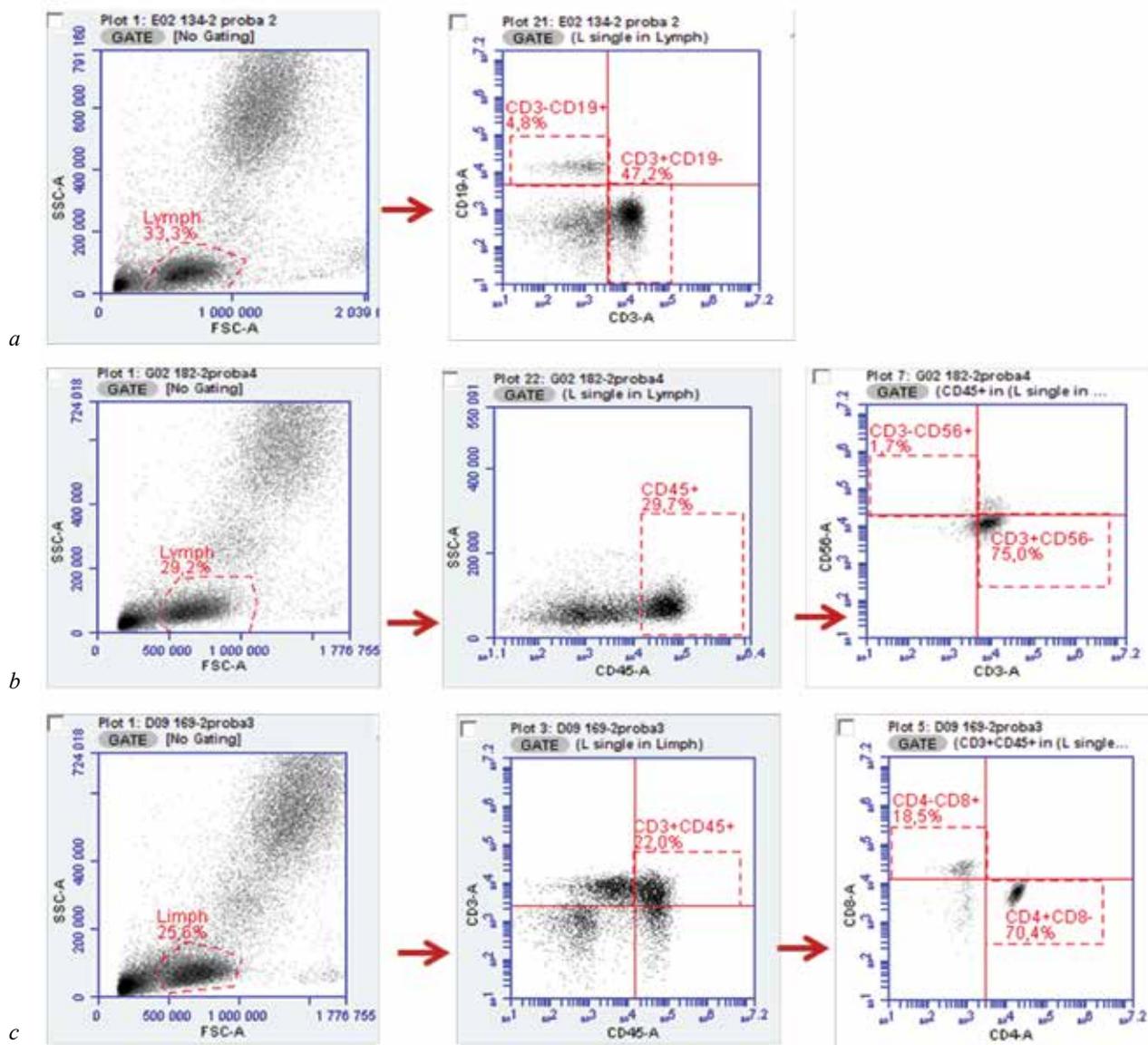


Рисунок. Распределение популяции лимфоцитов по субпопуляциям в зависимости от экспрессии поверхностных CD-маркеров: *a* – гистограмма распределения Т-лимфоцитов (CD3+) и В-лимфоцитов (CD19+); *b* – выделение гейта NK-клеток (CD3-CD56+) из общей популяции CD45-позитивных лимфоцитов; *c* – гистограмма распределения Т-хелперов/индукторов (CD4+) и Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8+) после логического ограничения по CD45 и CD3

Цитокинпродуцирующую активность клеток исследовали в 24-часовых первичных культурах мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из венозной крови методом градиентного центрифугирования на фиколе плотностью 1,077 г/см³ (ООО «БиолТ», Россия). Культивирование клеток осуществляли в концентрации 2 × 10⁶/мл в полной питательной среде

без и с добавлением ФГА (50 мкг/мл). Концентрацию цитокинов (интерлейкинов (IL) 2, IL-4, IL-10, а также интерферона гамма (IFN γ)) определяли в культуральной жидкости методом ИФА с использованием наборов «Вектор-Бест» (Россия); рассчитывали индекс стимуляции как отношение показателя ФГА-индуцированной продукции цитокина к спонтанной.

Результаты обрабатывали в программе Statistica 12.0 (StatSoft, США). Данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения (тест Шапиро – Уилка), представляли в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$), не подчиняющиеся – медианы и межквартильного интервала $Me (Q_1; Q_3)$. Анализ различий между выборками выполняли при помощи t -критерия Стьюдента либо U -критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. При уровне значимости $p < 0,05$ различия двух сравниваемых величин считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе показателей гемограммы в группе пациентов с КЭ на фоне повышения общего количества лейкоцитов в крови было зарегистрировано статистически значимое снижение доли лимфоцитов по сравнению с контрольными значениями (табл. 1). При этом абсолютное число лимфоцитов у больных КЭ было сопоставимо с нормой, равно как и у па-

циентов с ИКБ. По результатам иммунофенотипирования лимфоцитов крови у пациентов с КЭ на фоне низкого по сравнению с контрольными значениями числа Т-лимфоцитов было зарегистрировано повышение доли Т-хелперов/индукторов, а также выраженное снижение как относительного, так и абсолютного количества Т-цитотоксических лимфоцитов (в среднем в 1,8 и в 2 раза соответственно) (табл. 1).

У больных ИКБ количество Т-лимфоцитов было сопоставимо со значениями в контрольной группе, однако, как и у пациентов с КЭ, наблюдалось снижение числа Т-цитотоксических лимфоцитов, а повышение абсолютного числа численности Т-хелперов/индукторов носило абсолютный характер.

Количественные изменения данных субпопуляций лимфоцитов нашли отражение в индексах соотношения «Т-хелперы/Т-цитотоксические лимфоциты» – анализируемый показатель у больных оказался выше контрольных значений в среднем 2 раза (табл. 1).

Таблица 1

Общее количество лейкоцитов и субпопуляционный состав лимфоцитов в крови у больных клещевыми инфекциями, $Me (Q_1; Q_3)$								
Группа обследованных лиц	Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	Доля лимфоцитов в гемограмме (в числителе в %, в знаменателе – $\times 10^9/\text{л}$)	Количественный состав отдельных субпопуляций лимфоцитов (в числителе в %, в знаменателе – $\times 10^9/\text{л}$)					Индекс соотношения (Т-хелперы / Т-цитотоксические)
			НК-клетки	Т-хелперы/индукторы	Т-цитотоксические лимфоциты	Т-лимфоциты	В-лимфоциты	
Контрольная группа, $n = 11$	5,76 (4,32; 5,90)	36,00 (32,00; 37,01) 2,08 (1,45; 2,18)	11,02 (8,98; 12,97) 0,21 (0,19; 0,26)	49,32 (47,30; 51,12) 1,01 (0,66; 1,08)	31,00 (29,9; 32,10) 0,62 (0,47; 0,70)	80,32 (78,2; 82,03) 1,70 (1,09; 1,71)	9,07 (8,97; 9,8) 0,16 (0,14; 0,19)	1,59 (1,54; 1,70)
Больные КЭ, $n = 22$	8,36 (5,82; 10,99) $p_1 = 0,01$	20,65 (13,2; 28,9) $p_1 = 0,04$ 1,43 (1,00; 2,38)	11,80 (8,01; 13,52) 0,21 (0,12; 0,28)	58,22 (53,12; 69,1) $p_1 = 0,04$ 0,76 (0,56; 1,10)	17,37 (11,48; 22,45) $p_1 = 0,01$ 0,29 (0,17; 0,41) $p_1 = 0,01$	73,76 (66,81; 86,12) $p_1 = 0,04$ 1,12 (0,77; 1,84) $p_1 = 0,04$	9,31 (4,52; 12,66) 0,17 (0,06; 0,29)	2,85 (2,10; 5,68) $p_1 = 0,03$
Больные ИКБ, $n = 15$	7,23 (5,49; 8,57) $p_1 = 0,03$	34,40 (19,85; 43,7) $p_2 = 0,04$ 2,09 (1,72; 2,79)	14,92 (11,13; 21,53) $p_1 = 0,04$ $p_2 = 0,04$ 0,26 (0,13; 0,46)	60,99 (52,93; 64,26) $p_1 = 0,04$ 1,19 (1,14; 1,72) $p_1 = 0,04$ $p_2 = 0,03$	16,81 (14,84; 18,29) $p_1 = 0,01$ 0,34 (0,27; 0,40) $p_1 = 0,01$	77,14 (71,22; 81,87) 1,54 (1,46; 2,08)	7,83 (4,92; 10,27) 0,16 (0,09; 0,27)	3,69 (3,40; 4,20) $p_1 < 0,001$

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: p_1 – уровень значимости различий при сравнении с параметрами у здоровых лиц; p_2 – уровень значимости различий при сравнении с параметрами у пациентов с КЭ.

Следует отметить, что численность В-лимфоцитов в обеих группах обследованных пациентов была сопоставима с контрольными значениями. При этом у больных ИКБ было зарегистрировано статистически значимое повышение относительной численно-

сти НК-клеток по сравнению с соответствующими показателями у здоровых лиц.

В результате оценки пролиферативной активности лимфоцитов в культуре *in vitro* было установлено повышение по сравнению с параметрами

у здоровых лиц интенсивности спонтанной реакции бластной трансформации клеток только у пациентов с ИКБ (табл. 2).

Уровень ФГА-индуцированной лимфопротекции был значительно ниже контрольных значений у пациентов обеих групп, при этом наиболее значимое снижение данного показателя было зарегистрировано у пациентов с КЭ, что нашло отражение в изменении расчетных индексов ФГА-стимуляции (табл. 2).

Таблица 2

Результаты реакции бластной трансформации лимфоцитов крови у больных клещевыми инфекциями, $M \pm SD$			
Группа обследованных лиц	Реакция бластной трансформации лимфоцитов, %		Индекс стимуляции
	без добавления индуктора	в присутствии ФГА	
Контрольная группа, $n = 11$	$6,09 \pm 0,97$	$61,82 \pm 7,87$	$10,41 \pm 2,41$
Больные КЭ, $n = 22$	$7,55 \pm 3,31$	$26,78 \pm 11,52$ $p_1 < 0,001$	$3,79 \pm 1,19$ $p_1 < 0,001$
Больные ИКБ, $n = 15$	$10,40 \pm 2,48$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,003$	$49,63 \pm 7,12$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,002$	$4,98 \pm 1,18$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,03$

Наряду с пролиферативной активностью и экспрессионным профилем лимфоцитов периферической крови, одним из параметров, определяющих их функциональный фенотип, является способность к секреции иммунорегуляторных цитокинов. При выполнении настоящего исследования мы сосредоточили внимание на цитокинах (IL-2, -4, -10, IFN γ), оказывающих пара- и аутокринные эффекты на клетки за счет контроля всех стадий антигенспецифической пролиферации, дифференцировки и функциональной активности Т- и В-лимфоцитов [6–8]. При анализе цитокинпродуцирующей активности мононуклеарных лейкоцитов крови в культуре *in vitro*, у больных клещевыми инфекциями, независимо от их этиологического варианта, было выявлено снижение спонтанной и митоген-индуцированной наработки IL-2, наиболее выраженное у пациентов с ИКБ (табл. 3).

Интенсивность наработки IL-4 на базальном уровне у всех пациентов оказалась выше таковой у здоровых лиц, равно как и уровень спонтанной и ФГА-индуцированной секреции IL-10. Повышение продукции IL-4 в пробах с добавлением ФГА (в среднем в 2 раза по сравнению с контрольными значениями) было зарегистрировано у больных ИКБ (табл. 3).

Таблица 3

Концентрация цитокинов в культуральной среде 24-часовых культур мононуклеарных лейкоцитов крови у больных клещевыми инфекциями, $Me (Q_1; Q_3)$

Анализируемый показатель	Контрольная группа, $n = 11$	Больные КЭ, $n = 22$	Больные ИКБ, $n = 15$
Концентрация IL-2, пг/мл	без индуктора	44,52 (32,74; 112,13)	32,11 (11,56; 48,06) $p_1 = 0,01$
	в присутствии ФГА	93,50 (66,96; 275,88)	27,21 (24,28; 68,74) $p_1 = 0,005$
	индекс стимуляции	2,85 (1,57; 5,52)	2,20 (1,64; 2,60) $p_1 = 0,04$
Концентрация IL-4, пг/мл	без индуктора	2,92 (2,51; 4,93)	10,51 (6,50; 23,88) $p_1 = 0,01$
	в присутствии ФГА	19,72 (10,20; 22,32)	19,90 (10,38; 46,97)
	индекс стимуляции	4,00 (3,49; 8,83)	2,11 (1,89; 2,19) $p_1 < 0,001$
Концентрация IL-10, пг/мл	без индуктора	9,36 (2,45; 12,65)	37,28 (12,89; 53,71) $p_1 = 0,02$
	в присутствии ФГА	27,39 (12,87; 59,75)	88,66 (57,09; 141,46) $p_1 = 0,04$
	индекс стимуляции	4,72 (1,38; 11,09)	2,22 (2,13; 2,73) $p_1 = 0,02$
Концентрация IFN γ , пг/мл	без индуктора	26,96 (9,47; 43,61)	21,27 (14,82; 25,01)
	в присутствии ФГА	25,59 (22,45; 49,30)	24,39 (11,49; 41,25)
	индекс стимуляции	0,98 (0,51; 4,85)	1,02 (0,50; 2,79)

Следует отметить, что концентрация IFN γ в первичных культурах мононуклеарных лейкоцитов крови у больных клещевыми инфекциями не отличалась от таковой у здоровых доноров, как в образцах без индукции, так и в пробах с добавлением митогена (табл. 3). В результате анализа изменений расчетных индексов стимуляции было установлено их статистически значимое снижение относительно контрольных показателей у пациентов обеих групп для IL-2, IL-4 и IL-10, что свидетельствует о снижении резерва секреторной активности мононуклеарных лейкоцитов в отношении данных цитокинов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что содержание в периферической крови различных субпопуляций лимфоцитов в остром периоде инфекционного заболевания является результатом их динамического перераспределения в ходе активной миграции наивных лимфоцитов в периферические лимфоидные органы, где они взаимодействуют с антигенпредставляющими клетками, последующей пролиферации и выхода коммитированных клонов в кровь, миграции в ткани, возвращения в периферические лимфатические органы и апоптоза [9, 10]. Количественные и качественные характеристики инфекционнообусловленного иммунного ответа зависят от многих факторов, в том числе от типа антигена, его дозы и пути поступления в организм.

По данным ряда исследований, изменения популяционного и субпопуляционного спектра лимфоцитов, характеризующиеся снижением числа клеток, несущих маркеры Т-звена (CD3+, CD4+, CD8+), и повышением числа В-лимфоцитов, являются типичными для острого периода КЭ [11–13]. На фоне относительной лимфоцитопении у больных с лихорадочной и менингеальной формами КЭ мы зарегистрировали количественный дефицит популяции Т-лимфоцитов (за счет CD8+-лимфоцитов), тогда как численность В-клеток, равно как и количество натуральных киллеров, были сопоставимы с контрольными значениями. При этом нами был выявлен значительный дисбаланс в соотношении хелперных и цитотоксических субпопуляций лимфоцитов, а также выраженное снижение пролиферативной активности клеток в ответ на ФГА (см. табл. 2).

Вероятно, снижение численности CD8+-субпопуляции при КЭ является следствием недостаточного пролиферативного ответа клеток на вирусные антигены. Следует предположить также прямое цитотоксическое воздействие вируса КЭ и избирательное поражение Т-системы иммунитета, обусловленное его размножением в тимусе, контролирующем процессы

созревания, дифференцировки и функциональной активности Т-клеток.

Так, некоторые исследователи указывают на развитие «клонального истощения» коммитированных Т-лимфоцитов в условиях вирусной персистенции со смещением иммунного баланса в сторону Th2 [14, 15]. Это согласуется с полученными нами результатами по оценке цитокинпродуцирующей активности мононуклеарных клеток в остром периоде КЭ, а именно выявленным высоким уровнем наработки IL-10 и IL-4 в культуре при снижении секреции IL-2, а также недостаточной реактивностью лейкоцитов в отношении синтеза IFN γ (см. табл. 3). В условиях низкой наработки IL-2 лимфоциты не обладают достаточным резервом к усилению пролиферации в ответ на стимуляцию ФГА, который, вероятно, не компенсируется эффектами ряда других провоспалительных цитокинов, например TNF α , IL-1 β , IL-12 и др.

Натуральные киллерные клетки, являясь одними из компонентов врожденной иммунорезистентности, не обладают функцией специфического распознавания, как это имеет место в случае Т-цитотоксических клеток, а также в механизмах антителозависимой клеточной цитотоксичности [16]. Наряду с доминирующей ролью НК-клеток в иммунопатогенезе заболеваний вирусной этиологии, важной представляется их цитолитическая функция и в генезе бактериальных инфекций. При бактериальных инфекциях НК-клетки могут активироваться как за счет перекрестного взаимодействия с другими лейкоцитами, так и посредством прямого распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов [17].

На сегодняшний день имеются доказательства того, что НК-клетки экспрессируют паттерн-распознающие молекулы, такие как Toll- и NOD-подобные рецепторы [17, 18]. Весьма важным обстоятельством представляется обнаруженная способность боррелий индуцировать увеличение количества НК-клеток в начале заболевания [19, 20]. При этом цитолитическая активность натуральных киллеров не может служить эффективным механизмом элиминации внеклеточных патогенов, к которым относятся боррелии. Однако в условиях дефицита цитотоксических лимфоцитов и неэффективности антителогенеза, основную функцию по лимитированию инфекции, вероятно, берут на себя НК-клетки, подтверждением чему служит выявленное нами повышение их численности у больных ИКБ. При этом роль НК-клеток и Th1-лимфоцитов в иммунопатогенезе боррелиозной инфекции в большей степени определяется их способностью оказывать стимулирующее действие на фагоцитоз посредством синтеза цитокинов (IFN γ , IL-12), активирующих макрофаги [21, 22].

Несмотря на то, что у обследованных нами пациентов с ИКБ мы зарегистрировали повышение абсолютного числа Т-хелперной субпопуляции лимфоцитов, уровни базальной и ФГА-стимулированной секреции IFN γ в культуре мононуклеарных лейкоцитов не отличались от контрольных значений. При этом у больных ИКБ, так же, как и у пациентов с КЭ, был зарегистрирован низкий уровень продукции IL-2 при повышении секреции IL-4 и IL-10. Выявленные изменения цитокинсекреторного профиля мононуклеарных лейкоцитов у больных ИКБ представляются нам вполне закономерными и являются отражением эффекторной фазы иммунного ответа на боррелиозные антигены. Именно так реализуется кооперативное взаимодействие макрофагов и лимфоцитов, опосредованное цитокинами, которое обеспечивает накопление коммитированных Т-лимфоцитов-хелперов 2-го типа, обеспечивающих образование в лимфоидных органах необходимого пула плазматических клеток, синтезирующих антитела к антигенам боррелий.

В целом при анализе полученных результатов и сопоставлении их с данными литературы в опубликованных работах мы отметили значительную вариабельность изменений показателей иммунного статуса при клещевых инфекциях, как в части количественных изменений анализируемых параметров, так и их трактовки с позиции сложных механизмов иммунорегуляции [4, 11–13, 22]. При этом многие авторы отмечают корреляцию глубины депрессии либо степени активации отдельных звеньев врожденного и адаптивного иммунитета с тяжестью клинического течения заболевания, что, на наш взгляд, определяет актуальность продолжения исследований механизмов иммунологической реактивности организма при разных клинических формах клещевых инфекций, в том числе в динамике развития инфекционного процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что у больных КЭ на фоне относительной лимфоцитопении регистрируются изменения субпопуляционного состава лимфоцитов в крови, характеризующиеся повышением доли Т-хелперов/индукторов при абсолютной недостаточности Т-цитотоксических лимфоцитов. У пациентов с ИКБ дисбаланс соотношения Т-хелперы/Т-цитотоксические лимфоциты выражен сильнее, чем при КЭ, при этом наблюдается повышение относительного числа НК-клеток. Изменения функционального фенотипа лимфоцитов у больных с КЭ и ИКБ характеризуются равно выраженным снижением резерва пролиферативной активности на фоне низкой секреции IL-2, повышением наработки IL-4 и

IL-10 и недостаточной реактивностью лимфоцитов в отношении секреции IFN γ .

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Проворова В.В., Краснова Е.И., Хохлова Н.И., Савельева М.А., Филимонова Е.С., Кузнецова В.Г. Старые и новые клещевые инфекции в России. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2019;8(2):102–112. DOI: 10.24411/2305-3496-2019-12013.
2. Андаев Е.И., Никитин А.Я., Толмачёва М.И., Зарва И.Д., Яценко Е.В., Матвеева В.А. и др. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023;(1):6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-6-16.
3. Пинегин Б.В., Хаитов Р.М. Современные принципы создания иммуотропных лекарственных препаратов. *Иммунология*. 2019;40(6):57–62. DOI: 10.24411/0206-4952-2019-16008.
4. Андронова Н.В., Миноранская Н.С., Миноранская Е.И. Специфический иммунный ответ и некоторые отдаленные результаты при остром течении иксодового клещевого боррелиоза и микст-инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2011;100(1):54–57.
5. Филимонова Е.С., Бондаренко Е.И., Краснова Е.И., Проворова В.В., Криницына Э.В., Олейник А.Н. и др. Выявление маркеров возбудителей природно-очаговых инфекций, передающихся клещами. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2021;10(4):90–97. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-4-90-97.
6. Симбирцев А.С. Иммунофармакологические аспекты системы цитокинов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(1):84–95. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-84-95.
7. Ng C.T., Oldstone M.B. IL-10: achieving balance during persistent viral infection. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014;380:129–144. DOI: 10.1007/978-3-662-43492-5_6.
8. Welsh R., Bahl K., Marshall H., Urban S. Type 1 interferons and antiviral CD8 T-cell responses. *PLoS Pathog.* 2012;8(1):e1002352. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002352.2012. V.8:e1002352.
9. Marelli-Berg F.M., Fu H., Vianello F., Tokoyoda K., Hamann A. Memory T-cell trafficking: new directions for busy commuters. *Immunology*. 2010;130(2):158–165. DOI:10.1111/j.1365-2567.2010.03278.x.
10. Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Кофанова К.А., Хазиахматова О.Г., Шуплецова В.В. и др. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов (обзор). *Медицинская иммунология*. 2014;16(1):7–26. DOI: 10.15789/1563-0625-2014-1-7-26.
11. Крылова Н.В., Леонова Г.Н., Павленко Е.В., Запорожец Т.С., Смолина Т.П., Гажа А.К. и др. Комплексная оценка состояния иммунной системы при различных формах клещевого энцефалита в остром периоде. *Медицинская иммунология*. 2012;14(4-5):313–320.
12. Крылова Н.В., Леонова Г.Н. Некоторые особенности иммунопатогенеза клещевого энцефалита. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2007;3(29):21–24.

13. Blom K., Cuapio A., Sandberg J.T., Varnaite R., Michaëls-son J., Björkström N.K. et al. Cell-mediated immune responses and immunopathogenesis of human tick-borne encephalitis virus-infection. *Front. Immunol.* 2018;9:2174. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02174.
14. Stone E.T., Pinto A.K. T Cells in tick-borne flavivirus encephalitis: a review of current paradigms in protection and disease pathology. *Viruses.* 2023;15(4):958. DOI: 10.3390/v15040958.
15. Насырова Р.Ф., Рязанцева Н.В., Жукова Н.Г., Зима А.П., Жукова О.Б., Чечина О.Е. и др. Молекулярные и клеточные основы патогенеза клещевого энцефалита. *Бюллетень сибирской медицины.* 2006;(1):42–51.
16. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции НК-клеток человека. *Иммунология.* 2012;33(4):220–224.
17. Athié-Morales V., O'Connor G.M., Gardiner C.M. Activation of human NK cells by the bacterial pathogen-associated molecular pattern muramyl dipeptide. *J. Immunol.* 2008;180(6):4082–4089. DOI: 10.4049/jimmunol.180.6.4082.
18. Freud A.G., Mundy-Bosse B.L., Yu J., Caligiuri M.A. The broad spectrum of human natural killer cell diversity. *Immunology.* 2017;47(5):820–833. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.10.008.
19. Oosting M., Brouwer M., Vrijmoeth H.D., Pascual Domingo R., Greco A., Ter Hofstede H. et al. *Borrelia burgdorferi* is strong inducer of IFN- γ production by human primary NK cells. *Cytokine.* 2022;155:155895. DOI: 10.1016/j.cyto.2022.155895.
20. Scorza B.M., Mahachi K.G., Cox A.D., Toepp A., Pessoa-Pereira D., Tyrrell P. et al. Role of NK-like CD8+ T cells during asymptomatic *Borrelia burgdorferi* infection. *Infect. Immun.* 2022;90(5):e0055521. DOI: 10.1128/iai.00555-21.
21. Petnicki-Ocwieja T., Kern A. Mechanisms of *Borrelia burgdorferi* internalization and intracellular innate immune signaling. *Front. Cell Infect Microbiol.* 2014;4:175. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00175.
22. Tomasiewicz K., Chmielewska-Badora J., Zwolinski J., Murias-Brylowska E. Analysis of main T-cell subsets and activated T suppressor/cytotoxic cells in patients with *Borrelia burgdorferi* s. lato only infection and co-infections with *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp. and *Babesia microti*. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2016;23(1):111–115. DOI: 10.5604/12321966.1196864.

Вклад авторов

Воронкова О.В., Ильинских Е.Н. – разработка концепции и дизайна исследования, написание рукописи. Хасанова Р.Р., Есимова И.Е., Невская К.В., Карпова М.Р. – анализ и интерпретация данных. Чернышов Н.А., Ямпольская А.В., Ямпольская О.В. – выполнение лабораторных методов исследования.

Информация об авторах

Воронкова Ольга Владимировна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, voronkova-ov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9478-3429>

Ильинских Екатерина Николаевна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, СибГМУ, г. Томск, infconf2009@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7646-6905>

Хасанова Резеда Рахматулловна – канд. мед. наук, доцент кафедры биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, hasanova_rezeda@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3250-7688>

Есимова Ирина Евгеньевна – д-р мед. наук, доцент кафедры биологии и генетики, СибГМУ, г. Томск, orevi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7508-2878>

Невская Ксения Владимировна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, центр биологических исследований и биоинженерии, СибГМУ, г. Томск, nevskaya.kv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1659-8812>

Карпова Мария Ростиславовна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии и вирусологии, СибГМУ, г. Томск, mrkarпова@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7109-9955>

Чернышов Никита Алексеевич – аспирант, СибГМУ, nchernyschov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4008-5606>

Ямпольская Олеся Владимировна – студент, СибГМУ, г. Томск, lesyapolskaya.01@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3362-8307>

Ямпольская Анастасия Владимировна – студент, СибГМУ, г. Томск, nastya.yampolskaya13@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-2003-7225>

✉ **Воронкова Ольга Владимировна**, voronkova-ov@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.01.2024;
одобрена после рецензирования 13.03.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616.13-004.6-06:616-018.26:577.125.52
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-34-41>

Уровни молекул, секретируемых жировой тканью, у пациентов с коронарным атеросклерозом и высоким триглицерид-глюкозным индексом

Гарбузова Е.В.¹, Шрамко В.С.¹, Каштанова Е.В.¹, Полонская Я.В.¹, Стахнёва Е.М.¹, Кургузов А.В.², Чернявский А.М.², Рагино Ю.И.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. Б. Богаткова, 175/1

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

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение уровней адипоцитокинов, а также их ассоциаций со стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками у пациентов с высоким триглицерид-глюкозным индексом (ТГГ).

Материалы и методы. Исследование включало 109 мужчин 38–79 лет (средний возраст $62,28 \pm 8,19$ лет) с атеросклерозом коронарных артерий (КА), госпитализированных на операцию коронарного шунтирования (КШ). После микроскопического исследования фрагментов интима-медиа определялся тип атеросклеротической бляшки: стабильная/нестабильная. Высоким считался ТГГ $\geq 4,49$. Имели стабильные бляшки в КА 58 (60%) мужчин (у 28 из них (56%) ТГГ $\geq 4,49$), 39 (40%) имели нестабильные бляшки в КА (у 15 (39%) ТГГ $\geq 4,49$). Адипоцитокины в крови изучались при помощи мультиплексного анализа и панели Human Metabolic Hormone V3.

Результаты. В итоговый анализ вошли 97 пациентов. Уровень глюкозозависимого инсулинотропного полипептида (GIP) был в 1,53 раза выше у пациентов с ТГГ $\geq 4,49$ ($34,16 [18,71; 54,98]$ против $22,34 [15,02; 34,77]$, $p = 0,004$). У пациентов с ТГГ менее 4,49 уровень адипсина был выше у пациентов с нестабильными бляшками, чем у пациентов со стабильными, в 1,2 раза. У пациентов со стабильными бляшками и с ТГГ $\geq 4,49$ уровень GIP был в 1,88 раза выше, чем у пациентов с ТГГ менее 4,49 ($42,13 [25,34; 68,95]$ против $22,39 [17,00; 28,60]$, $p = 0,003$). У пациентов с нестабильными бляшками и ТГГ $\geq 4,49$ уровень пептида тирозин-тирозин (РYY) был в 1,46 раза выше, чем у пациентов с ТГГ менее 4,49 ($46,14 [30,49; 70,66]$ против $31,53 [24,71; 43,01]$, $p = 0,048$).

Заключение. У мужчин с коронарным атеросклерозом и ТГГ $\geq 4,49$ в крови более высокие уровни GIP и РYY. Уровень в крови адипсина более высокий с нестабильными АСБ у пациентов без ИР.

Ключевые слова: индекс ТГГ, коронарный атеросклероз, нестабильная атеросклеротическая бляшка, глюкозозависимый инсулинотропный полипептид, пептид тирозин-тирозин, адипсин

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

Источник финансирования. Исследование проведено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 24-25-00079.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальными комитетами по этике НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН и НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина (протокол № 2 от 05.06.2011).

✉ Гарбузова Евгения Витальевна, stryukova.j@mail.ru

Для цитирования: Гарбузова Е.В., Шрамко В.С., Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Стахнёва Е.М., Кургузов А.В., Чернявский А.М., Рагино Ю.И. Уровни молекул, секретируемых жировой тканью, у пациентов с коронарным атеросклерозом и высоким триглицерид-глюкозным индексом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):34–41. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-34-41>.

Adipocytokine levels in patients with atherosclerosis and high triglyceride – glucose index

Garbuzova E.V.¹, Shramko V.S.¹, Kashtanova E.V.¹, Polonskaya Ya.V.¹, Stakhneva E.M.¹, Kurguzov A.V.², Chernyavsky A.M.², Ragino Yu.I.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 E.N.Meshalkin National Medical Research Center
15, Rechkunovskaya Str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the levels of adipocytokines and their associations with stable and unstable atherosclerotic plaques in patients with a high triglyceride – glucose (TyG) index.

Materials and methods. The study included 109 men aged 38–79 years (mean age 62.28 ± 8.19 years) with atherosclerosis hospitalized for coronary artery bypass grafting (CABG). After microscopy of the intima – media layer, the type of atherosclerotic plaque was determined: stable / unstable. The TyG index ≥ 4.49 was considered as high. Fifty-eight (60%) men had stable plaques in the CA (28 (56%) of them had TyG ≥ 4.49); 39 (40%) men had unstable plaques in the CA (15 (39%) had TyG ≥ 4.49). Blood adipocytokine level was studied using the multiplex assay and the Human Metabolic Hormone Panel V3.

Results. The final analysis included 97 patients. The level of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) was 1.53 times greater in patients with TyG ≥ 4.49 (34.16 [18.71; 54.98] vs. 22.34 [15.02; 34.77], $p = 0.004$). In patients with TyG < 4.49 , the adipsin level was 1.2 times higher in patients with unstable plaques than in patients with stable ones. In patients with stable plaques and TyG ≥ 4.49 , the GIP level was 1.88 times higher than in patients with TyG < 4.49 (42.13 [25.34; 68.95] vs. 22.39 [17.00; 28.60], $p = 0.003$). In patients with unstable plaques and TyG ≥ 4.49 , the level of peptide tyrosine – tyrosine (PYY) was 1.46 times greater than in patients with TyG < 4.49 (46.14 [30.49; 70.66] vs. 31.53 [24.71; 43.01], $p = 0.048$).

Conclusion. Men with atherosclerosis and TyG ≥ 4.49 had higher blood levels of GIP and PYY. Blood adipsin levels were higher in patients with unstable plaques without insulin resistance.

Keywords: TyG index, atherosclerosis, unstable atherosclerotic plaque, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, peptide tyrosine – tyrosine, adipsin

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. 24-25-00079.

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 Committees at Research Institute of Internal and Preventive Medicine and E.N. Meshalkin National Medical Research Center (Protocol No. 2 of 05.06.2011).

For citation: Garbuzova E.V., Shramko V.S., Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V., Stakhneva E.M., Kurguzov A.V., Chernyavsky A.M., Ragino Yu.I. Adipocytokine levels in patients with atherosclerosis and high triglyceride – glucose index. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):34–41. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-34-41>.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение атеросклероза и нестабильных атеросклеротических бляшек (АСБ) имеет большое значение из-за их основной роли в патогенезе сердечно-сосудистых событий. Атеросклероз – это хроническое воспалительное заболевание, характеризующееся появлением атеросклеротических бляшек в стенках артерий, приводящее к стенозу и нарушению кровотока. Нестабильная атеросклеротическая бляшка, в частности, имеет клиническое значение, поскольку она склонна к разрыву, образованию тромбов, и последующим острым сердечно-сосудистым событиям. Недавние исследования делают акцент на роли воспаления, липидного обмена и механизмов дестабилизации бляшек в прогрессировании атеросклероза и развитии нестабильных бляшек, подчеркивая важность продолжения исследований в этой области для решения проблемы глобального бремени сердечно-сосудистых заболеваний [1–3].

Абдоминальное ожирение является хорошо установленным фактором риска развития и прогрессирования атеросклероза, в значительной степени из-за высвобождения провоспалительных адипокинов и цитокинов из висцеральной жировой ткани, что приводит к хроническому низкоинтенсивному воспалению и эндотелиальной дисфункции, которые играют ключевую роль в патогенезе атеросклероза [4]. Более того, инсулинорезистентность, отличительный признак метаболического синдрома, часто сопровождающего абдоминальное ожирение, может еще больше усугубить атеросклероз, способствуя дислипидемии, окислительному стрессу и воспалению, которые в совокупности способствуют образованию и прогрессированию атеросклеротических бляшек [5].

Было обнаружено, что индекс TUG, новый маркер инсулинорезистентности, тесно связан с атеросклерозом и сердечно-сосудистым риском, главным образом благодаря его тесной взаимосвязи с дислипидемией и нарушением метаболизма глюкозы, которые играют ключевую роль в патофизиологии атеросклероза [6]. Понимание сложной взаимосвязи между абдоминальным ожирением, инсулинорезистентностью и индексом TUG важно для разработки целенаправленных стратегий профилактики атеросклероза и связанных с ним сердечно-сосудистых осложнений.

Целью нашего исследования было изучение уровней адипоцитокинов (С-пептида, глюкозозависимого инсулилотропного полипептида (GIP), глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), интерлейкина-6 (IL-6), лептина, моноцитарного хемоаттрактантного

протеина-1 (MCP-1), панкреатического полипептида (PP), пептида тирозин-тирозин (PYY), фактора некроза опухоли альфа (TNF α), ингибитора активатора плазминогена (PAI-1), липокалина, грелина, глюкагона, адипонектина, адипсина, резистина, оментина, висфатина), а также их ассоциаций со стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками у пациентов с инсулинорезистентностью (ИР) по триглицерид-глюкозному индексу (TUG).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в рамках совместных научных исследований НИИТПМ – филиала ИЦГ СО РАН и НИМЦ им. Е.Н. Мешалкина. После получения письменного информированного добровольного согласия от каждого участника были забраны образцы крови и данные. Исследование одобрено локальными этическими комитетами обоих учреждений (протокол № 2 от 5.06.2011). Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 24-25-00079.

Исследование включало 109 мужчин 38–79 лет (средний возраст $62,28 \pm 8,19$ лет), которые имели стабильную стенокардию напряжения II–III функционального класса (ФК), без острого коронарного синдрома (ОКС), с атеросклерозом коронарных артерий (КА) по данным коронароангиографии, госпитализированных в клинику НИМЦ им. Е.Н. Мешалкина в период с 2011 по 2023 г. на операцию коронарного шунтирования (КШ).

Критерии включения, невключения, этапы сбора данных, обследования, и гистологического исследования образцов были подробно описаны в предыдущих работах [7].

После микроскопического исследования фрагментов интима-медиа (забранных во время операции КШ), определялся тип атеросклеротической бляшки: стабильная или нестабильная [8].

После КШ 6 пациентов покинули исследование по следующим причинам: развились осложнения, не удалось связаться с пациентом, а также был подписан добровольный отказ от участия. У 6 пациентов не удалось определить тип бляшки. В итоговый анализ вошли 97 пациентов. Наличие ИР у пациентов устанавливалось по индексу TUG (\ln [триглицериды (мг/дл) \times глюкоза (мг/дл)]/2). Оптимальная точка отсечения составила 4,49 при чувствительности 82,6% и специфичности 82,1% (AUC = 0,889; 95%-й доверительный интервал 0,854–0,924) [9].

Из исследуемой группы 58 (60%) мужчин в КА имели стабильные бляшки (28 (56%) из них характеризовались наличием более высокого индекса TUG $\geq 4,49$, что, по данным исследований, связано

с инсулинорезистентностью [9]), а 39 (40%) имели нестабильные бляшки в КА (15 (39%) из них ха-

рактеризовались наличием более высокого индекса $TYG \geq 4,49$).

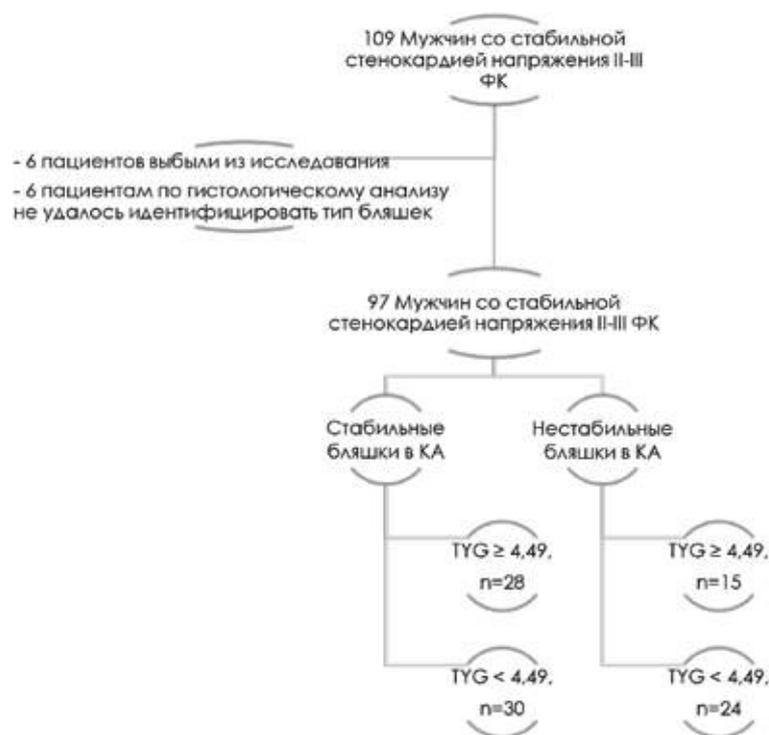


Рис. 1. Дизайн исследования.

КА – коронарные артерии, ФК – функциональный класс, TYG – триглицерид-глюкозный индекс

Биохимические исследования проводились энзиматическим методом на анализаторе Konelab 30i (Thermo, Финляндия). На проточном флуориметре Luminex MAGPIX при помощи мультиплексного анализа и панели Human Metabolic Hormone V3 (MILLIPLEX, Германия) были определены уровни С-пептида, глюкозозависимого инсулиотропного полипептида (GIP), глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), интерлейкина-6 (IL-6), лептина, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), панкреатического полипептида (PP), пептида тирозин-тирозин (PYY), фактора некроза опухоли α (TNFα), ингибитора активатора плазминогена (PAI-1), липокалина, грелина, глюкагона, адипонектина, адипсина, резистина, оментина, висфатина.

Статистический анализ проводился с помощью программного пакета SPSS 13.0. Для оценки распределения использовали тест Колмогорова – Смирнова. В связи с непараметрическим распределением количественных данных использовалась медиана интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Для сравнения групп применялся U -критерий Манна – Уитни (для двух независимых групп) и критерий Краскела – Уоллиса. Ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r_s) был использован в анализе зависимости количественных признаков выборочных данных из совокупностей. Качественные перемен-

ные представлены в виде абсолютных значений n и долей в %. Для оценки различий между качественными переменными использовался χ^2 по Пирсону. Уровень значимости принят как $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены данные пациентов с высоким и низким индексом TYG и стабильными/нестабильными бляшками. У пациентов с нестабильными бляшками и $TYG \geq 4,49$ сахарный диабет 2-го типа встречался чаще, чем у пациентов со стабильными бляшками и $TYG \geq 4,49$ (53% против 11%, $p = 0,006$) (табл. 1). Все пациенты имели установленный диагноз гипертонической болезни и получали антигипертензивную терапию для достижения целевых значений АД.

Состояние дислипидемии у пациентов обеих групп определялось повышением уровня липопротеинов и липидов выше оптимального значения [1]. Пациенты, включенные в исследование, имели очень высокий сердечно-сосудистый риск (ССР), поэтому дислипидемия определялась на уровне ЛПНП более 55 мг/дл и при уровне ТГ более 150 мг/дл. Все пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) получали терапию статинами в максимально переносимых дозировках независимо от наличия дислипидемии.

Таблица 1

Характеристика групп пациентов в зависимости от индекса ТУГ и типа бляшки (стабильная/нестабильная)						
Показатель	Пациенты со стабильными бляшками с ТУГ $\geq 4,49$, $n = 28$	Пациенты с нестабильными бляшками с ТУГ $\geq 4,49$, $n = 15$	p	Пациенты со стабильными бляшками и ТУГ $< 4,49$, $n = 30$	Пациенты с нестабильными бляшками и ТУГ $< 4,49$, $n = 24$	p
Средний возраст	63,00 [57,00; 67,50]	59,00 [54,00; 65,00]	0,338	64,00 [57,25; 70,75]	62,00 [56,25; 68,00]	0,567
ИМТ, кг/м ²	29,84 [26,97; 32,14]	29,72 [26,83; 31,70]	0,899	26,67 [25,35; 30,12]	29,11 [25,97; 32,74]	0,169
ОТ ≥ 94 см	16 (57,1%)	9 (60,0%)	0,856	10 (33,3%)	8 (33,3%)	0,933
ОТ, см	92,00 [88,00; 100,00]	93,50 [89,00; 100,50]	0,530	89,00 [82,75; 99,50]	88,00 [84,50; 94,00]	0,864
САД, мм рт. ст.	130,00 [121,25; 140,00]	125,00 [120,00; 142,00]	0,691	135,00 [127,00; 148,33]	137,00 [132,00; 143,00]	0,535
ДАД, мм рт. ст.	80,50 [80,00; 89,50]	80,00 [78,33; 81,67]	0,301	80,00 [75,00; 90,00]	80,00 [80,00; 89,50]	0,485
Статус курения, абс. %	17 (61%)	10 (67%)	0,784	24 (80%)	22 (92%)	0,230
СД 2-го типа, абс. %	3 (11%)	8 (53%)	0,006	4 (13%)	4 (17%)	0,732
Холестерин, ммоль/л	4,17 [3,46; 4,88]	4,50 [3,57; 5,09]	0,628	3,92 [2,51; 4,46]	3,51 [3,13; 4,42]	0,862
Триглицериды, ммоль/л	1,09 [1,02; 1,32]	0,86 [0,77; 1,44]	0,177	0,69 [0,58; 0,86]	0,62 [0,49; 0,78]	0,246
ЛПВП, ммоль/л	0,59 [0,47; 0,71]	0,61 [0,53; 0,70]	0,655	0,61 [0,52; 0,80]	0,70 [0,53; 0,89]	0,293
ЛПНП, ммоль/л	2,98 [2,47; 3,74]	3,46 [2,26; 3,79]	0,760	2,85 [1,67; 3,39]	2,41 [1,98; 3,40]	0,947
Глюкоза, ммоль/л	6,70 [5,63; 8,43]	6,80 [5,90; 8,00]	0,721	5,25 [4,83; 5,68]	5,25 [4,80; 6,08]	0,573

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ОТ – окружность талии, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, СД – сахарный диабет, ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности.

У всех пациентов была проведена оценка уровня адипоцитокинов (С-пептида, GIP, GLP-1, IL-6, лептина, MCP-1, PP, PYY, TNF α , PAI-1, липокалина, грелина, глюкогона, адипонектина, адипсина, резистина, оментина, висфатина) в подгруппах низкого (менее 4,49) и высокого ($\geq 4,49$) индекса ТУГ. Уровень GIP был в 1,53 раза выше у пациентов с ТУГ $\geq 4,49$ (34,16 [18,71; 54,98] против 22,34 [15,02; 34,77], $p = 0,004$) (рис. 2).

Следующим этапом стала оценка уровней адипоцитокинов в подгруппах низкого (менее 4,49) и высокого ($\geq 4,49$) индекса ТУГ у пациентов с нестабильными и стабильными атеросклеротическими бляшками в КА (табл. 2). У пациентов с ТУГ менее 4,49 уровень адипсина был выше у пациентов с нестабильными бляшками, чем у пациентов со стабильными, в 1,2 раза.

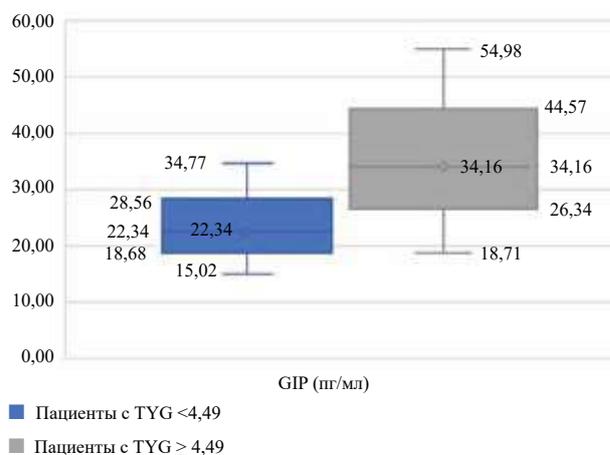


Рис. 2. Содержание GIP у пациентов с ТУГ менее 4,49 и ТУГ $\geq 4,49$, пг/мл

Таблица 2

Содержание адипоцитокинов в зависимости от индекса ТУГ и типа атеросклеротической бляшки, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)						
Показатель	Пациенты со стабильными бляшками с ТУГ $\geq 4,49$, $n = 28$	Пациенты с нестабильными бляшками с ТУГ $\geq 4,49$, $n = 15$	p	Пациенты со стабильными бляшками и ТУГ менее 4,49, $n = 30$	Пациенты с нестабильными бляшками и ТУГ менее 4,49, $n = 24$	p
С-пептид, нг/мл	1,40 [0,36; 2,43]	1,57 [0,65; 1,90]	0,838	0,76 [0,14; 1,64]	0,83 [0,41; 1,65]	0,403
GIP, пг/мл	42,13 [25,34; 68,95]	26,22 [16,18; 47,27]	0,165	22,39 [17,00; 28,60]	19,55 [12,42; 38,63]	0,824
GLP-1, пг/мл	308,62 [192,49; 742,65]	403,22 [156,31; 671,80]	0,610	275,78 [185,12; 595,60]	432,65 [216,1; 680,38]	0,159
IL-6, пг/мл	5,96 [1,83; 14,48]	7,74 [3,73; 13,35]	0,462	7,14 [2,50; 13,06]	6,55 [1,67; 18,59]	0,709
Лептин, пг/мл	5764,73 [3516,42; 8006,34]	5874,95 [1559,14; 12266,47]	0,894	2977,39 [869,98; 7650,03]	4426,24 [1105,64; 11135,62]	0,401

Показатель	Пациенты со стабильными бляшками с TУG \geq 4,49, $n = 28$	Пациенты с нестабильными бляшками с TУG \geq 4,49, $n = 15$	p	Пациенты со стабильными бляшками и TУG менее 4,49, $n = 30$	Пациенты с нестабильными бляшками и TУG менее 4,49, $n = 24$	p
МСР-1, пг/мл	259,25 [154,81; 348,13]	215,00 [182,92; 277,42]	0,610	226,53 [142,34; 334,38]	215,81 [135,90; 325,78]	0,986
РР, пг/мл	87,44 [55,29; 165,58]	87,23 [578,68; 138,54]	0,549	65,34 [36,94; 156,61]	65,35 [39,50; 139,91]	0,914
РУУ, пг/мл	46,97 [33,45; 58,99]	46,14 [30,49; 70,66]	0,908	43,01 [25,05; 73,71]	31,53 [24,71; 43,01]	0,105
TNF α , пг/мл	5,52 [3,43; 7,27]	5,66 [4,36; 7,19]	0,593	5,24 [3,11; 7,19]	5,80 [4,75; 6,70]	0,441
РАI-1, нг/мл	30,54 [13,56; 42,04]	20,55 [12,01; 46,98]	0,858	18,19 [13,34; 32,14]	21,04 [15,32; 31,66]	0,354
Липокалин, нг/мл	551,70 [270,83; 798,91]	386,98 [196,64; 770,38]	0,537	374,40 [173,47; 597,15]	399,19 [204,80; 642,77]	0,932
Грелин, пг/мл	17,29 [10,19; 37,55]	13,06 [9,23; 17,29]	0,109	17,29 [9,56; 23,62]	9,23 [9,23; 23,62]	0,288
Глюкагон, пг/мл	10,07 [5,89; 23,44]	7,39 [32,68; 28,38]	0,554	10,83 [3,71; 27,04]	7,87 [3,25; 15,28]	0,304
Адипонектин, мкг/мл	32,43 [15,03; 43,15]	13,85 [7,04; 30,45]	0,428	24,27 [13,80; 38,31]	27,91 [15,65; 41,89]	0,608
Адипсин, мкг/мл	9,69 [6,97; 15,96]	9,14 [7,48; 13,10]	0,067	9,39 [5,14; 12,89]	11,13 [10,08; 15,77]	0,032
Резистин, нг/мл	29,02 [13,81; 43,90]	40,76 [22,16; 62,09]	0,650	40,00 [8,95; 63,49]	29,67 [8,08; 67,54]	0,572
Оментин, нг/мл	0,84 [0,65; 1,27]	0,89 [0,73; 1,64]	0,380	1,15 [0,52; 1,38]	0,92 [0,82; 1,38]	0,827
Висфатин, нг/мл	76,84 [17,28; 135,20]	23,86 [17,84; 74,09]	0,320	101,47 [23,86; 127,87]	66,15 [22,60; 113,46]	0,581

Примечание. GIP – глюкозозависимый инсулиотропный полипептид, GLP-1 – глюкагоноподобный пептид-1, IL-6 – интерлейкин-6, МСР-1 – моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, РР – панкреатический полипептид, РУУ – пептид тирозин-тирозин, TNF α – фактор некроза опухоли альфа, РАI-1 – ингибитор активатора плазминогена.

У пациентов со стабильными бляшками и с TУG \geq 4,49 уровень GIP был в 1,88 раза выше, чем у пациентов со стабильными бляшками и TУG менее 4,49 (42,13 [25,34; 68,95] против 22,39 [17,00; 28,60], $p = 0,003$). У пациентов с нестабильными бляшками и TУG \geq 4,49 уровень РУУ был в 1,46 раза выше, чем у пациентов с нестабильными бляшками и TУG менее 4,49 (46,14 [30,49; 70,66] против 31,53 [24,71; 43,01], $p = 0,048$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружение рецепторов к GIP на поверхности жировых клеток [10] привело к предположению об участии GIP в жировом обмене [11, 12]. Потребление пищи, богатой жирами, сильнее стимулирует выделение GIP, чем углеводы или белки, а диета с высоким содержанием жиров ведет к увеличению экспрессии гена *GIP* и увеличению его концентрации в крови. На клеточном уровне активация рецептора к GIP на адипоците приводит к анаболическим эффектам, включая увеличение поступления глюкозы в ткани, активации липопротеинлипаз и синтез свободных жирных кислот.

Эти данные свидетельствуют, что GIP играет важную роль в жировом метаболизме. Исследование Е.А. Шестаковой показало достоверно значимо более высокие уровни GIP в группе пациентов с ИМТ \geq 35 кг/м² по сравнению с лицами с более низким ИМТ как натощак, так и после приема пищи. Также у лиц с инсулинорезистентностью (определенной по показателю НОМА-IR) секреция GIP была достоверно выше по сравнению с лицами без нее [13]. В нашем исследовании уровень GIP был в 1,53 раза выше у

пациентов с ИР по индексу TУG у пациентов с коронарным атеросклерозом, причем больше за счет подгруппы пациентов со стабильными бляшками.

Исследование О.Н. Ukkola и соавт. предполагает, что высокая концентрация РУУ в сыворотке крови натощак независимо связана с ожирением резистентностью к инсулину [14]. Связь между высоким РУУ и высоким уровнем инсулина была очевидна среди участников исследования как с сахарным диабетом 2-го типа, так и с нормальным уровнем глюкозы. Более ранние данные предполагали, что разные формы РУУ могут оказывать различное влияние на метаболизм инсулина [15]. Интересно, что низкий уровень РУУ в сыворотке крови был связан с резистентностью к инсулину у родственников первой степени у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа [16]. Может ли высокий уровень инсулина влиять на секрецию РУУ или секрецию других кишечных пептидов, оказывающих воздействие на концентрацию РУУ, остается неизвестным. В проведенном нами исследовании у пациентов с нестабильными бляшками с ИР по индексу TУG уровень РУУ был в 1,46 раз выше, чем у пациентов с нестабильными бляшками без ИР.

Адипсин образуется в процессе липолиза и приводит к увеличению чувства голода [17]. Сообщается, что адипсин выше у людей с ожирением. Кроме того, у людей с избыточной массой тела часто наблюдается повышение уровня адипсина [18]. Т. Ohtsuki и соавт. показали, что у пациентов с ИБС без ожирения выше уровень адипсина в сыворотке крови [19]. При этом уровень адипсина в крови у пациентов с ИБС значительно и положительно связан с частотой развития атеросклеротической бляшки

с тонкой покрывкой [20]. В проведенном исследовании у пациентов с ТУГ менее 4,49 уровень адипсина был выше у пациентов с нестабильными бляшками, чем у пациентов со стабильными бляшками, что может свидетельствовать об ассоциации адипсина с прогрессированием атеросклеротического очага.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У мужчин с коронарным атеросклерозом и ИР в крови отмечены более высокие уровни GIP в общей группе и PYY у пациентов с нестабильными АСБ. Уровень в крови адипсина более высокий у пациентов с нестабильными АСБ у пациентов без ИР.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Ежов М.В., Кухарчук В.В., Сергиенко И.В., Алиева А.С., Анциферов М.Б., Аншелес А.А., Арабидзе Г.Г. и др. Нарушения липидного обмена. Клинические рекомендации 2023. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(5):5471. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5471.
- Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L. et al. ESC Scientific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J*. 2020;41(1):111–188. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz455.
- Libby P., Buring J.E., Badimon L., Hansson G.K., Deanfield J., Bittencourt M.S. et al. Atherosclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2019;5(1):56. DOI: 10.1038/s41572-019-0106-z.
- Вербовой А.Ф., Вербовая Н.И., Долгих Ю.А. Ожирение – основа метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм*. 2021;18(2):142–149. DOI: 10.14341/omet12707.
- Bays H.E., Jones P.H., Orringer C.E., Brown W.V., Jacobson T.A. National Lipid Association Annual Summary of Clinical Lipidology 2016. *J. Clin. Lipidol*. 2016;10(1Suppl.):S1–43. DOI: 10.1016/j.jacl.2015.08.002.
- Morales-Gurrola G., Simental-Mendía L.E., Castellanos-Juárez F.X., Salas-Pacheco J.M., Guerrero-Romero F. The triglycerides and glucose index is associated with cardiovascular risk factors in metabolically obese normal-weight subjects. *J. Endocrinol. Invest*. 2020;43(7):995–1000. DOI: 10.1007/s40618-020-01184-x.
- Garbuzova E.V., Shramko V.S., Kashtanova E.V., Polonskaya Y.V., Stakhneva E.M., Kurguzov A.V. et al. Adipokine-cytokine profile in patients with unstable atherosclerotic plaques and abdominal obesity. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24(10):8937. DOI: 10.3390/ijms24108937.
- Waksman R., Seruys P.W., Schaar J. Handbook of the vulnerable plaque. 2nd ed. London, 2006;1–48. DOI: 10.3109/9781439804537.
- Salazar J., Bermúdez V., Calvo M., Olivar L.C., Luzardo E., Navarro C. et al. Optimal cutoff for the evaluation of insulin resistance through triglyceride-glucose index: A cross-sectional study in a Venezuelan population. *F1000Res*. 2017;6:1337. DOI: 10.12688/f1000research.12170.3.
- Yip R.G., Boylan M.O., Kieffer T.J., Wolfe M.M. Functional GIP receptors are present on adipocytes. *Endocrinology*. 1998;139(9):4004–4007. DOI: 10.1210/endo.139.9.6288.
- Holst J.J. On the physiology of GIP and GLP-1. *Horm. Metab. Res*. 2004;36(11-12):747–754. DOI: 10.1055/s-2004-826158.
- Meier J.J., Nauck M.A. Clinical endocrinology and metabolism. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide/gastric inhibitory polypeptide. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*. 2004;18(4):587–606. DOI: 10.1016/j.beem.2004.08.007.
- Шестакова Е.А., Ильин А.В., Шестакова М.В., Дедов И.И. Глюкозозависимый инсулинотропный полипептид – новое звено в развитии ожирения. *Ожирение и метаболизм*. 2015;12(1):16–19. DOI: 10.14341/omet2015116-19.
- Ukkola O.H., Puurunen V.P., Piira O.P., Niva J.T., Lepojärvi E.S., Tulppo M.P. et al. High serum fasting peptide YY (3-36) is associated with obesity-associated insulin resistance and type 2 diabetes. *Regul. Pept*. 2011;170(1-3):38–42. DOI: 10.1016/j.regpep.2011.05.006.
- Boey D., Sainsbury A., Herzog H. The role of peptide YY in regulating glucose homeostasis. *Peptides*. 2007;28(2):390–395. DOI: 10.1016/j.peptides.2006.07.031.
- Boey D., Heilbronn L., Sainsbury A., Laybutt R., Kriketos A., Herzog H. et al. Low serum PYY is linked to insulin resistance in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes. *Neuropeptides*. 2006;40(5):317–324. DOI: 10.1016/j.npep.2006.08.002.
- Lo J.C., Ljubicic S., Leibiger B., Kern M., Leibiger I.B., Moede T. et al. Adipsin is an adipokine that improves β cell function in diabetes. *Cell*. 2014;158(1):41–53. DOI: 10.1016/j.cell.2014.06.005.
- Василенко М.А., Кириенкова Е.В., Скуратовская Д.А., Затолокин П.А., Миронюк Н.И., Литвинова Л.С. Роль продукции адипсина и лептина в формировании инсулинорезистентности у больных абдоминальным ожирением. *Доклады Академии наук*. 2017;475(3):336–341. DOI: 10.7868/S0869565217210228.
- Ohtsuki T., Satoh K., Shimizu T., Ikeda S., Kikuchi N., Satoh T. et al. Identification of adipsin as a novel prognostic biomarker in patients with coronary artery disease. *J. Am. Heart Assoc*. 2019;8(23):e013716. DOI: 10.1161/JAHA.119.013716.
- Sun R., Qiao Y., Yan G., Wang D., Zuo W., Ji Z. et al. Association between serum adipsin and plaque vulnerability determined by optical coherence tomography in patients with coronary artery disease. *J. Thorac. Dis*. 2021;13(4):2414–2425. DOI: 10.21037/jtd-21-259.

Информация об авторах

Гарбузова Евгения Витальевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория клинических, биохимических, гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, stryukova.j@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5316-4664>

Шрамко Виктория Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория лаборатория клинических, биохимических, гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, nosova@211.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0436-2549>

Каштанова Елена Владимировна – д-р биол. наук, доцент, зав. лабораторией лклинических, биохимических, гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, elekstanova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2268-4186>

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

Стахнёва Екатерина Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических, биохимических, гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, stahneva@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0484-6540>

Кургузов Алексей Витальевич – науч. сотрудник, центр хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, aleksey_kurguzov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1345-2199>

Чернявский Александр Михайлович – д-р мед. наук, профессор, руководитель центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина, г.Новосибирск, amchern@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9818-8678>

Рагино Юлия Игоревна – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, ragino@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4936-8362>

(✉) **Гарбузова Евгения Витальевна**, stryukova.j@mail.ru

Поступила в редакцию 11.03.2024;
одобрена после рецензирования 04.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 615.212:577.354.26

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-42-48>

Анальгетическая активность нового модулятора каннабиноидного CB₁-рецептора

Гуркин Н.В.^{1,2}, Быков В.В.^{1,2}, Быкова А.В.², Мотов В.С.², Ларченко В.В.^{1,2}, Ильина И.В.³, Хазанов В.А.², Волчо К.П.³, Салахутдинов Н.Ф.³, Венгеровский А.И.¹

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

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

³ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 9

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить анальгетическую активность, влияние на двигательные функции и потенциальное ulcerогенное действие нового производного 2*H*-хромена – модулятора каннабиноидного CB₁-рецептора (шифр – CHR).

Материалы и методы. Анальгетическую активность соединения CHR изучали при введении в желудок мышам в эффективной дозе 5 мг/кг на моделях острой хемогенной боли (формалиновый тест), острой висцеральной боли (тест «уксусные корчи») и термической соматической боли (тесты «горячая пластина» и отдергивание хвоста от теплового излучения) в сравнении с действием трамадола, морфина или диклофенака натрия в дозах 20, 4 или 10 мг/кг соответственно. Влияние на двигательные функции соединения CHR при однократном введении в дозе 5 мг/кг в желудок мышам оценивали в тесте «открытое поле». Потенциальное ulcerогенное влияние соединения CHR в дозе 5 мг/кг при многократном введении в желудок крысам сравнивали с действием диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг.

Результаты. В эксперименте с субплантарным введением формалина мышам производное 2*H*-хромена CHR уменьшало количество болевых реакций на 43–63% ($p < 0,05$). При внутрибрюшинном введении мышам уксусной кислоты оно снижало количество «корчей» на 50% и не уступало анальгетическому эффекту диклофенака натрия и трамадола. В тесте «горячая пластина» соединение CHR увеличивало латентное время до наступления болевой реакции на 34% ($p < 0,05$). В тесте отдергивания хвоста от теплового излучения увеличивало срок до появления термической боли на 32% ($p < 0,05$). Соединение CHR в эффективной дозе 5 мг/кг не изменяло двигательную активность мышей в тесте «открытое поле» и не вызывало образования эрозий и язв в слизистой оболочке желудка при многократном введении крысам.

Заключение. Производное 2*H*-хромена CHR в эффективной дозе 5 мг/кг оказывает выраженное анальгетическое действие при экспериментальной хемогенной, висцеральной и термической боли, по анальгетическому действию не уступает опиоидным анальгетикам трамадолу и морфину и нестероидному противовоспалительному средству диклофенаку натрия, использованном в эффективных дозах. Соединение CHR в эффективной дозе не тормозит двигательные функции и не обладает ulcerогенным влиянием.

Ключевые слова: производное 2*H*-хромена, анальгетическая активность, влияние на двигательные функции, потенциальное ulcerогенное действие, мышцы, крысы

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

✉ Гуркин Никита Вячеславович, preclin9_dep@iphar.ru

Источник финансирования. Исследование выполнено с привлечением собственных средств.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальными этическими комитетами СибГМУ (протокол № 20/23 от 08.12.2023) и ООО «Ифар» (протокол № 127/2022 от 14.02.2022).

Для цитирования: Гуркин Н.В., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С., Ларченко В.В., Ильина И.В., Хазанов В.А., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф., Венгеровский А.И. Анальгетическая активность нового модулятора каннабиноидного CB₁-рецептора. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):42–48. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-42-48>.

Analgesic activity of a new cannabinoid CB₁ receptor modulator

Gurkin N.V.^{1,2}, Bykov V.V.^{1,2}, Bykova A.V.², Motov V.S.², Larchenko V.V.^{1,2}, Il'ina I.V.³, Khazanov V.A.², Volcho K.P.³, Salakhutdinov N.F.³, Vengerovskii A.I.¹

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Innovative Pharmacology Research LLC (IPHAR LLC)

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

³ Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

9, Akademika Lavrentjeva Av., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the analgesic activity, the effect on motor functions, and the potential ulcerogenic effect of a new 2*H*-chromene derivative, a cannabinoid CB₁ receptor modulator (code name – CHR).

Materials and methods. The analgesic activity of the CHR compound was studied when injected intragastrically at an effective dose of 5 mg / kg in mouse models of acute chemogenic pain (formalin test), acute visceral pain (the acetic acid-induced writhing test), and thermal nociception (hot plate test and tail-flick test). It was compared to the effect of tramadol and morphine or diclofenac sodium at doses of 20, 4 or 10 mg / kg, respectively. The effect of a single intragastric injection of the CHR compound at a dose of 5 mg / kg on motor activity was evaluated in the open field test. The potential ulcerogenic effect of the CHR compound at a dose of 5 mg / kg with repeated intragastric administration was compared with the effect of diclofenac sodium at a dose of 10 mg / kg.

Results. With subplantar administration of formalin to mice, the 2*H*-chromene derivative reduced the number of pain reactions by 43–63% ($p < 0.05$). With intraperitoneal administration of acetic acid to mice, it reduced the number of writhing responses by 50% and had the same analgesic effect as diclofenac sodium and tramadol. In the hot plate test, the CHR compound increased the latency time to painful stimuli by 34% ($p < 0.05$). In the tail-flick test, it increased the latency time to painful thermal sensations by 32% ($p < 0.05$). The CHR compound at an effective dose of 5 mg / kg did not change the motor activity of mice in the open field test and did not cause the formation of erosions and ulcers in the gastric mucosa when administered repeatedly to rats.

Conclusion. The 2*H*-chromene derivative CHR at an effective dose of 5 mg / kg has a pronounced analgesic effect in mouse models of chemogenic, visceral, and thermal pain, which is as strong as that of tramadol, morphine, and diclofenac sodium used at effective doses. The CHR compound at an effective dose does not inhibit motor functions and does not have an ulcerogenic effect.

Keywords: 2*H*-chromene derivative, analgesic activity, effect on motor functions, potential ulcerogenic effect, mice, rats

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 carried out using the authors' own funds.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 20/23 of 08.12.2023) and IPHAR LLC (Protocol No. 127 /2022 of 14.02.2022).

For citation: Gurkin N.V., Bykov V.V., Bykova A.V., Motov V.S., Larchenko V.V., P'ina I.V., Khazanov V.A., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Vengerovskii A.I. Analgesic activity of a new cannabinoid CB₁ receptor modulator. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):42–48. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-42-48>.

ВВЕДЕНИЕ

Каннабиноиды – группа природных и синтетических соединений с выраженным анальгетическим действием. Они активируют CB₁-рецепторы в спинальных ганглиях, задних рогах спинного мозга, большом ядре шва, центральном сером веществе, лимбической системе и коре больших полушарий [1–3]. При активации метаботропных ассоциированных с G_i-белком пресинаптических CB₁-рецепторов тормозится продукция цАМФ, снижается проницаемость потенциал-зависимых кальциевых каналов, открываются каналы для выхода из нейронов ионов калия [4]. Развивающаяся гиперполяризация препятствует выделению глутаминовой кислоты и ее участию в передаче болевых потенциалов [1, 5]. Применение каннабиноидов как анальгетиков ограничено из-за их психотропных свойств, в частности риска развития катаlepsии и лекарственной зависимости [2, 6].

Среди производных 2H-хромена наиболее выраженной анальгетической активностью обладает модулятор каннабиноидных CB₁-рецепторов, обозначенный шифром CHR [7, 8]. Соединение CHR имеет хроменовую структуру, характерную для каннабихромена. Этот каннабиноид обладает анальгетическими и противовоспалительными свойствами [9].

Цель работы – изучить анальгетическую активность, влияние на двигательные функции и потенциальное ulcerогенное действие нового производного 2H-хромена – модулятора каннабиноидного CB₁-рецептора (шифр – CHR).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Производное 2H-хромена представляет собой (2*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-диметил-2-(тиофен-2-ил)октагидро-2H-хромен-4-ол (рис. 1). Оно синтезировано в ФГБУН НИОХ СО РАН (г. Новосибирск) [7].

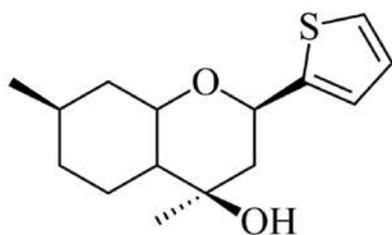


Рис. 1. Структурная формула соединения CHR

Эксперименты выполняли в испытательном центре ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар», г. Томск, Россия) на свободных от патогенной микрофлоры 96 мышьях самцах стока CD-1 и 15 крысах самцах стока Sprague Dawley. Животных содержали в стандартных пластиковых клетках фирмы VELAZ (Чехия) при температуре воздуха 20–23 °С, влажности не более 50%, воздухообмене (вытяжка : приток) 8 : 10, световом режиме (день : ночь) 1 : 1. Содержание животных и уход за ними осуществляли в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Директива 2010/63/EU). Исследование проведено с соблюдением принципов и правил надлежащей лабораторной практики, одобрено этическими комитетами Сибирского государственного медицинского университета (протокол 20/23 от 08.12.2023) и ООО «Ифар» (протокол 127/2022 от 14.02.2022).

Во всех экспериментах соединение CHR в эффективной дозе 5 мг/кг вводили в желудок животным за 1 ч до воздействия агентов, вызывающих боль. Эффективная доза установлена в предварительно проведенных поисковых экспериментах. Соединение CHR растворяли в 2%-м водном растворе твин-80 (neoFroxx GmbH, Германия). Контрольные животные получали этот растворитель по схеме, аналогичной схеме введения соединения CHR. В Российской Федерации не зарегистрированы анальгетики группы каннабиноидов, поэтому в качестве препаратов сравнения использовали наиболее часто назначаемые анальгетики для купирования боли различной интенсивности – опиоидные анальгетики трамадол в дозе 20 мг/кг [10] и морфин в дозе 4 мг/кг (оба – «Московский эндокринный завод», г. Москва, Россия) [11], а также нестероидное противовоспалительное средство диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг («Хемофарм», Сербия) [12, 13]. Трамадол и диклофенак натрия в водном растворе вводили животным в желудок, морфин в изотоническом растворе натрия хлорида – подкожно. Животных выводили из экспериментов цервикальной дислокацией (мыши) и в камере, заполненной углекислым газом (крысы).

Формалиновый тест. Мышам (четыре группы по шесть животных) вводили 0,02 мл 0,5%-го водного раствора формалина (Sigma-Aldrich, США) под

плантарный апоневроз задней конечности. В течение 60 мин фиксировали болевую реакцию по количеству полилизываний и потряхиваний поврежденной задней лапки. В первые 10 мин развивалась острая боль (фаза I), обусловленная прямой активацией ноцицепторов аллогенами, в последующие 50 мин – тоническая боль (фаза II), вызванная воспалением. Через 60 мин животных выводили из эксперимента, измеряли массу лапки, отрезанной по голеностопному суставу [14].

Тест «уксусные корчи». Мышам (четыре группы по шесть животных) вводили внутривенно 0,75%-й водный раствор уксусной кислоты (Sigma-Aldrich, США) в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела. В течение 20 мин оценивали количество сокращений брюшных мышц («корчей») и срок до наступления первой «корчи» [14].

Тест «горячая пластина». Мышей (три группы по шесть животных) помещали на нагретую до 55 ± 1 °С металлическую поверхность (термостол НWT-75, Россия). Измеряли время до наступления первой болевой реакции, регистрируемой по отдергиванию и облизыванию лапок. Мыши находились на горячей пластине не более 1 мин во избежание травмирования [14].

Тест отдергивания хвоста от теплового излучения. Хвост мышей (три группы по шесть животных) помещали под тепловое излучение альгезиметра лабораторного (Hugo Sachs Elektronik, Германия). Измеряли время до отдергивания хвоста [14].

Влияние соединения CHR на двигательные функции мышей изучали в тесте «открытое поле» (две группы по шесть животных). Мышам вводили соединение CHR в дозе 5 мг/кг. Через 1 ч после введения оценивали двигательную активность с помощью инфракрасного актиметра LE 8811 и программы Actitrack (Panlab, Испания) [14].

Для исследования потенциального ulcerогенного действия интактным крысам (три группы по пять особей) четырехкратно с интервалом 24 ч вводили в желудок соединение CHR в дозе 5 мг/кг или диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг. Через 3 ч после последнего введения животных выводили из эксперимента и оценивали состояние слизистой оболочки желудка с помощью микроскопа стереоскопического («На-

блюдательные приборы», г. Санкт-Петербург, Россия) при $\times 10$. Степень поражения слизистой оболочки характеризовали в баллах: 0 – отсутствие повреждений, 0,5 – локализованная гиперемия слизистой оболочки, 1 – генерализованная гиперемия слизистой оболочки, охватывающая большую часть (более 50%) или всю слизистую оболочку желудка, 2 – наличие до трех кровоизлияний без эрозивных повреждений, 3 – наличие более трех кровоизлияний или эрозивных повреждений, 4 – наличие более трех эрозивных повреждений или не более двух язвенных поражений, 5 – наличие более двух язвенных поражений, тотальное истончение слизистой оболочки желудка [14].

Результаты обрабатывали статистически с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft, США). Согласно критерию Шапиро – Уилка, данные не подчинялись закону нормального распределения и представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1; Q_3)$. Размеры выборок являются минимально достаточными для статистической обработки и не противоречат этическим принципам «3R» [15]. Статистическую значимость различий между показателями групп оценивали по критерию Краскела – Уоллиса с последующим апостериорным попарным сравнением с помощью критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В формалиновом тесте производное 2H-хромена CHR в дозе 5 мг/кг уменьшало количество полилизываний и потряхиваний поврежденной задней лапки мышей в фазе острой боли (реакция на аллоген) на 43%, в фазе тонической воспалительной боли – на 63% ($p < 0,05$, табл. 1). Эффекты вещества CHR были не слабее, чем действие морфина в дозе 4 мг/кг и трамадола в дозе 20 мг/кг ($p > 0,05$). Эти опиоидные анальгетики снижали количество болевых реакций в обеих фазах на 47–83%. Масса конечностей мышей, получавших соединение CHR, составляла 45 (36; 55) мг и не отличалась от массы у мышей, получавших твин-80 (47 (38; 49) мг). Это означает, что анальгетическое действие производного 2H-хромена CHR не связано с противовоспалительным влиянием.

Таблица 1

Количество реакций на боль в формалиновом тесте при введении соединения CHR (5 мг/кг), трамадола (20 мг/кг) и морфина (4 мг/кг) в желудок мышам, $Me (Q_1; Q_3)$, $n = 6$				
Количество реакций на боль	2%-й водный раствор твин-80 (контроль)	Соединение CHR	Трамадол	Морфин
Фаза острой боли	54 (52; 56)	30 (26; 34)*	32 (24; 38)*	26 (24; 28)*
Фаза тонической боли	24 (20; 25)	9 (5; 13)*	4 (3; 5)*	2 (1; 7)*

* здесь и в табл. 2: $p < 0,05$ по сравнению с показателями контроля.

На модели висцеральной боли «уксусные корчи» производное 2H-хромена CHR проявляло анальгетический эффект, сопоставимый с действием диклофенака натрия и трамадола ($p < 0,05$, табл. 2). Соединение CHR уменьшало количество «корчей» на 50%, диклофенак натрия и трамадол – на 52 и 56% соответственно. При этом вещество CHR не влияло на срок до наступления первой «корчи» и не повышало болевой порог.

Таблица 2

Анальгетическая активность в тесте «уксусные корчи» соединения CHR (5 мг/кг), диклофенака натрия (10 мг/кг) и трамадола (20 мг/кг) при введении в желудок мышам, $Me (Q_1; Q_3), n = 6$				
Показатель	2%-й водный раствор твин-80 (контроль)	Соединение CHR	Диклофенак натрия	Трамадол
Время до появления первой «корчи», с	330 (315; 332)	507 (505; 508)	665 (660; 669)*	326 (316; 331)
Количество «корчей»	22 (21; 23)	12 (10; 13)*	11 (8; 15)*	11 (8; 14)*

В тесте «горячая пластина» соединение CHR в дозе 5 мг/кг удлиняло латентный период до наступления болевой реакции на 34% ($p < 0,05$), трамадол в дозе 20 мг/кг увеличивал данный показатель на 49% ($p < 0,05$). Анальгетическая активность CHR в дозе 5 мг/кг была сопоставима с эффектом трамадола ($p > 0,05$, рис. 2).

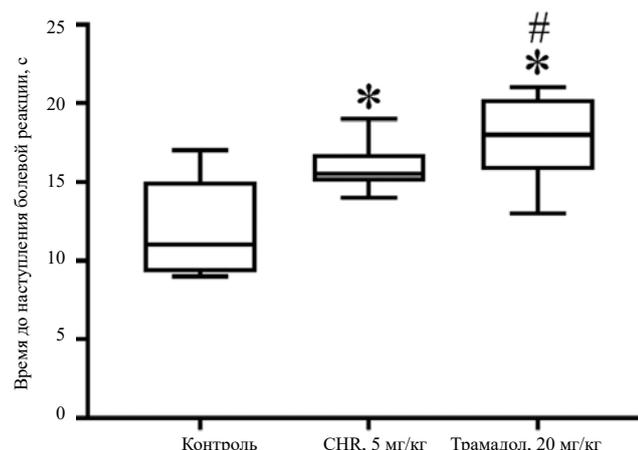


Рис. 2. Латентный период до появления болевой реакции в тесте «горячая пластина» при введении в желудок мышам соединения CHR и трамадола. * различия с показателем при введении твин-80 (контроль), $p < 0,05$, # различия с показателем животных, получавших соединение CHR, $p > 0,05$

Соединение CHR в дозе 5 мг/кг удлиняло в 1,3 раза, трамадол в дозе 20 мг/кг увеличивал вдвое время до отдергивания хвоста мышей от теплового излучения. Эти показатели отличались от показателя контроля при введении твин-80 ($p < 0,05$). Анальгетический эффект производного 2H-хромена на данной модели был выражен слабее, чем действие трамадола ($p < 0,05$).

Показатели двигательной активности мышей, получавших соединение CHR в дозе 5 мг/кг, сопоставимы с показателями животных контрольной группы, получавших растворитель — твин-80 ($p > 0,05$, табл. 3). Анальгетик CHR в эффективной дозе не влиял на поведение животных в тесте «открытое поле».

Таблица 3

Влияние соединения CHR (5 мг/кг) на двигательную активность мышей в тесте «открытое поле», $Me (Q_1; Q_3), n = 6$		
Показатель	2-й водный раствор твин-80 (контроль)	Соединение CHR
Количество движений	146 (119; 147)	131 (110; 153)
Средняя скорость движений, см/с	1 (0; 1)	1 (1; 2)
Общее пройденное расстояние, см	54 (34; 59)	66 (35; 77)
Количество стоек	2 (0; 4)	5 (5; 6)

Нестероидные противовоспалительные и анальгетические средства, особенно неселективные ингибиторы циклооксигеназы, оказывают ulcerогенное действие. Представляло интерес изучить влияние нового производного 2H-хромена со свойствами нестероидного анальгетика на слизистую оболочку желудка. Многократное введение вещества CHR не сопровождалось появлением гиперемии, эрозий и язв желудка, степень повреждения составляла 1 (1; 1) балл и не отличалась от степени повреждения в контроле ($p > 0,05$). После многократного введения диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг слизистая желудка истончалась, в ней определялись тотальная гиперемия, множественные эрозии и язвы, степень повреждения составляла 5 (5; 5) баллов ($p < 0,05$). Соединение CHR при многократном введении в желудок в эффективной дозе не обладает ulcerогенной активностью и, вероятно, не ингибирует циклооксигеназу-1 [16].

Производное 2H-хромена CHR проявляет высокую анальгетическую активность на моделях хемогенной боли, вызванной формалином и уксусной кислотой. В формалиновом тесте анальгетик в равной степени уменьшает количество болевых реакций

в острой и воспалительной фазах боли без влияния на воспаление. Можно предположить, что соединение CHR активирует СВ₁-рецепторы и вызывает гиперполяризацию болевых афферентов спинальных и супраспинальных структур [9].

На моделях термической соматической боли вещество CHR проявляло большую анальгетическую активность в тесте «горячая пластина», когда в болевом ответе участвуют преимущественно супраспинальные структуры – большое ядро шва, центральное серое вещество, лимбическая система и кора больших полушарий [14]. На модели отдергивания хвоста болевой ответ связан с активацией преимущественно спинальных ганглиев и задних рогов спинного мозга, поэтому эффект вещества CHR был выражен слабее [14]. В механизмы анальгетической активности соединения CHR наибольший вклад вносит активация СВ₁-рецепторов супраспинальных структур.

По данным исследований *in vitro*, соединение CHR прямо не связывается с каннабиноидными рецепторами и не влияет на активность ферментов метаболизма эндогенных каннабиноидов, хотя его анальгетическая активность устраняется антагонистом СВ₁-рецепторов римонабантом [17]. Это указывает на способность соединения CHR активировать СВ₁-рецепторы опосредованно. Один из вероятных механизмов – связывание с аллостерическим сайтом СВ₁-рецепторов, что изменяет их конформацию и повышает аффинитет к эндогенным каннабиноидам – анандамиду и 2-арахидонилглицеролу [18, 19]. В отличие от диклофенака натрия производное 2H-хромена CHR не оказывает ulcerогенного действия, характерного для нестероидных противовоспалительных средств. Оно также не влияет на двигательную активность животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании продемонстрирована анальгетическая активность производного 2H-хромена CHR на различных экспериментальных моделях боли. Анальгетический эффект соединения CHR на моделях хемогенной боли и в тесте «горячая пластина» не уступает эффектам трамадола, морфина и диклофенака натрия. Предполагаемый механизм действия соединения CHR – модуляция аллостерического сайта СВ₁-рецепторов, которая приводит к повышению их аффинитета к эндоканнабиноидам. Изучаемый анальгетик не повреждает слизистую оболочку желудка и не тормозит двигательную активность животных. Производное 2H-хромена CHR перспективно как средство фармакотерапии болевых синдромов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Fine P.G., Rosenfeld M.J. The endocannabinoid system, cannabinoids, and pain. *Rambam. Maimonides Med. J.* 2013;4(4):e0022. DOI: 10.5041/RMMJ.10129.
2. Hill K.P., Palastro M.D., Johnson B., Ditre J.W. Cannabis and Pain: A Clinical Review. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2017;2(1):96–104. DOI: 10.1089/can.2017.0017.
3. Maldonado R., Baños J.E., Cabañero D. The endocannabinoid system and neuropathic pain. *Pain.* 2016;157(Suppl.1):S23–S32. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000000428.
4. Howlett A.C. Cannabinoid receptor signaling. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2005;168:53–79. DOI: 10.1007/3-540-26573-2_2.
5. Tamba B.I., Stanciu G.D., Uritu C.M., Rezus E., Stefanescu R., Mihai C.T. et al. Challenges and opportunities in preclinical research of synthetic cannabinoids for pain therapy. *Medicina (Kaunas).* 2020;56(1):24. DOI: 10.3390/medicina56010024.
6. Shohami E., Horowitz M. Cannabinoids in health and disease. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 2016;27(3):175–179. DOI: 10.1515/jbcepp-2016-0045.
7. Nazimova E., Pavlova A., Mikhailchenko O., Il'ina I., Korchagina D., Tolstikova T. et al. Discovery of highly potent analgesic activity of isopulegol-derived (2R,4aR,7R,8aR)-4,7-dimethyl-2-(thiophen-2-yl)octahydro-2H-chromen-4-ol. *Med. Chem. Res.* 2016;25:1369–1383. DOI: 10.1007/s00044-016-1573-3.
8. Хаид Е.В., Павлова А.В., Михальченко О.С., Корчагина Д.В., Толстикова Т.Г., Волчо К.П., Хазанов В.А., Салахутдинов Н.Ф., изобретатели; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН), Общество с ограниченной ответственностью «Леофорс» (ООО «Леофорс»), правопреемники. Производные 2H-хромена в качестве анальгезирующих средств. Патент Российской Федерации RU 2555361. 10 июля 2015 г. РФ.
9. Zagožen M., Čerenak A., Kreft S. Cannabigerol and cannabichromene in *Cannabis sativa* L. *Acta Pharm.* 2020;71(3):355–364. DOI: 10.2478/acph-2021-0021.
10. Bandapati S., Podila K.S., Yadala V.R. Comparative study of anti-nociceptive effect of venlafaxine with tramadol by tail-flick test in animal model of mice. *Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol.* 2021;11(06):633–637. DOI: 10.5455/njp.p.2021.11.11307202001022021.
11. Saddy G.M., Abbott F.V. The formalin test in the mouse: a parametric analysis of scoring properties. *Pain.* 2000;89(1):53–63. DOI: 10.1016/S0304-3959(00)00348-1.
12. Goswami S.K., Rand A.A., Wan D., Yang J., Inceoglu B., Thomas M., Morisseau C., Yang G.Y., Hammock B.D. Pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase or genetic deletion reduces diclofenac-induced gastric ulcers. *Life Sci.* 2017;180:114–122. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.05.018.
13. Santos L.H., Feres C.A., Melo F.H., Coelho M.M., Nothenberg M.S., Oga S., Tagliati C.A. Anti-inflammatory, antinociceptive and ulcerogenic activity of a zinc-diclofenac complex in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2004;37(8):1205–1213. DOI: 10.1590/S0100-879X2004000800011.

14. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2013:944.
15. Russell W.M.N., Bunch R.L. The principles of humane experimental technique. London: Methuen, 1959:258.
16. Takeuchi K. Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. *World J. Gastroenterol.* 2012;18(18):2147–2160. DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2147.
17. Li-Zhulanov N.S., Пина I.V., Chicca A., Schenker P., Patrusheva O.S., Nazimova E.V. et al. Effect of chiral polyhydrochromenes on cannabinoid system. *Med. Chem. Res.* 2019;28:450–464. DOI: 10.1007/s00044-019-02294-9.
18. Lu D., Immadi S.S., Wu Z., Kendall D.A. Translational potential of allosteric modulators targeting the cannabinoid CB1 receptor. *Acta Pharmacol. Sin.* 2019;40(3):324–335. DOI: 10.1038/s41401-018-0164-x.
19. Mielnik C.A., Lam V.M., Ross R.A. CB₁ allosteric modulators and their therapeutic potential in CNS disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2021;106:110163. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2020.110163.

Вклад авторов

Быков В.В., Ларченко В.В. – разработка концепции и дизайна. Гуркин Н.В., Быкова А.В., Мотов В.С. – выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных. Ильина И.В., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф. – химический синтез соединения CHR. Хазанов В.А. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Венгеровский А.И. – окончательное редактирование и утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Гуркин Никита Вячеславович – аспирант, кафедра фармакологии, СибГМУ; мл. науч. сотрудник, отдел фармакологических исследований, ООО «Ифар», г. Томск, preclin9_dep@iphar.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1481-0421>

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

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

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

Ларченко Валентин Владимирович – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ; зам. генерального директора по клинической работе, начальник медицинского отдела, ООО «Ифар», г. Томск, clin_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1884-3164>

Ильина Ирина Викторовна – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория физиологически активных веществ, НИОХ СО РАН, г. Новосибирск, ilyina@nioch.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0006-7878-5305>

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

Волчо Константин Петрович – д-р хим. наук, профессор, профессор РАН, гл. науч. сотрудник, лаборатория физиологически активных веществ, НИОХ СО РАН, г. Новосибирск, volcho@nioch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4083-9324>

Салахутдинов Нариман Фаридович – член-корр. РАН, д-р хим. наук, профессор, руководитель отдела медицинской химии, зав. лабораторией физиологически активных веществ, НИОХ СО РАН, г. Новосибирск, anvar@nioch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8512-4309>

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

✉ Гуркин Никита Вячеславович, preclin9_dep@iphar.ru

Поступила в редакцию 21.02.2024;
одобрена после рецензирования 15.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616.132.2-008.64-092:616-018.74
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-49-58>

Роль маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенезе коронарной микроваскулярной дисфункции у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий

Копьева К.В.¹, Мальцева А.Н.¹, Мочула А.В.¹, Сморгон А.В.¹, Гракова Е.В.¹,
Гусакова А.М.¹, Калюжин В.В.², Завадовский К.В.¹

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

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение потенциала неинвазивной биомаркерной диагностики коронарной микроваскулярной дисфункции (КМД) и прогнозирования течения сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) при необструктивном атеросклеротическом поражении коронарного русла.

Материалы и методы. В 12-месячное наблюдательное исследование последовательно было включено 118 пациентов (шесть пациентов выбыло из исследования по причине утери контакта) с необструктивным поражением коронарных артерий (КА) и сохраненной фракцией выброса левого желудочка (ЛЖ) (62 [59; 64]%). В начале исследования с помощью иммуноферментного анализа в сыворотке крови оценивали уровень некоторых биомаркеров: N-концевого пропептида натрийуретического гормона В-типа (NT-proBNP), VEGF- васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и эндотелина-1. Резерв коронарного кровотока (CFR) исследовали в ходе динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии. В отсутствие обструктивного поражения КА, КМД определяли как глобальное снижение $CFR \leq 2$. С помощью эхокардиографии определяли параметры гемодинамики, диастолической дисфункции ЛЖ и миокардиального стресса. Глобальная продольная деформация ЛЖ (GLS) оценивалась с помощью 2D-speckle tracking.

Результаты. Пациенты были разделены на группы в зависимости от наличия КМД: в группу 1 вошли пациенты с КМД ($n = 43$), в группу 2 – больные без нее ($n = 75$). У больных в группе 1 сывороточные концентрации эндотелина-1 были выше в 1,9 раза ($p = 0,012$), VEGF – в 2,16 ($p = 0,008$), а NT-proBNP – выше в 2,6 раза ($p = 0,004$) по сравнению с больными в группе 2. По данным ROC-анализа, концентрации эндотелина-1 $\geq 6,9$ пг/мл ($AUC = 0,711$; $p = 0,040$) и VEGF $\geq 346,7$ пг/мл ($AUC = 0,756$; $p = 0,002$) были идентифицированы как маркеры, связанные с наличием КМД у больных с необструктивным поражением КА. Многофакторный регрессионный анализ показал, что только наличие КМД (отношение шансов (ОШ) 2,42; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ) 1,26–5,85; $p < 0,001$) и повышение уровня NT-proBNP $\geq 760,5$ пг/мл (ОШ 1,33; 95% ДИ 1,08–3,19; $p = 0,023$) являлись факторами, связанными с неблагоприятными событиями, а их сочетание увеличивало риск прогрессирования СНсФВ более чем в 3 раза (ОШ 3,18; 95% ДИ 2,76–7,98; $p < 0,001$), тогда как маркеры эндотелиальной дисфункции не являлись независимыми предикторами.

Заключение. Уровни эндотелина-1 $\geq 6,9$ пг/мл) и VEGF $\geq 346,7$ пг/мл могут быть использованы как неинвазивные маркеры для диагностики КМД. Однако маркеры эндотелиальной дисфункции не являлись независимыми предикторами прогрессирования СНсФВ у пациентов с необструктивным поражением КА в течение 12 мес наблюдения.

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

Ключевые слова: коронарная микроваскулярная дисфункция, эндотелиальная дисфункция, сердечная недостаточность, сохраненная фракция выброса, необструктивное поражение коронарных артерий

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках фундаментального научного исследования «Изучение механизмов структурного и функционального ремоделирования миокарда при разных фенотипах хронической сердечной недостаточности ишемической и неишемической этиологии» № 122020300045-5.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 204 от 18.11.2020).

Для цитирования: Копьева К.В., Мальцева А.Н., Мочула А.В., Сморгон А.В., Гракова Е.В., Гусакова А.М., Калужин В.В., Завадовский К.В. Роль маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенезе коронарной микроваскулярной дисфункции у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):49–58. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-49-58>.

The role of markers of endothelial dysfunction in the pathogenesis of coronary microvascular dysfunction in patients with non-obstructive coronary artery disease

Kopeva K.V.¹, Maltseva A.N.¹, Mochula A.V.¹, Smorgon A.V.¹, Grakova E.V.¹, Gusakova A.M.¹, Kalyuzhin V.V.², Zavadovsky K.V.¹

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

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

ABSTRACT

Aim. To study the potential of non-invasive biomarkers in the diagnosis of coronary microvascular dysfunction (CMD) and prediction of the course of heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) in non-obstructive coronary artery disease.

Materials and methods. The 12-month observational study included 118 consecutive patients (6 patients dropped out of the study due to contact loss) with non-obstructive coronary artery disease (CAD) and HFpEF (62 [59; 64]%). At the beginning of the study, serum levels of several biomarkers were assessed using the enzyme immunoassay: N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP), vascular endothelial growth factor (VEGF), and endothelin-1. Coronary flow reserve (CFR) was examined using dynamic single photon emission computed tomography. In the absence of obstructive CAD, CMD was defined as a global decrease in CFR ≤ 2 . Echocardiography was used to determine parameters of hemodynamics, LV diastolic dysfunction, and myocardial stress. LV global longitudinal strain (GLS) was assessed using 2D speckle tracking.

Results. The patients were divided into groups depending on the presence of CMD: group 1 included patients with CMD ($n = 43$), group 2 included those without it ($n = 75$). In patients in group 1, serum levels of endothelin-1 were 1.9 times higher ($p = 0.012$), levels of VEGF were 2.16 times higher ($p = 0.008$), and the concentration of NT-proBNP was 2.6 times higher ($p = 0.004$) than in patients in group 2. According to the ROC analysis, the concentrations of endothelin-1 ≥ 6.9 pg / ml (AUC = 0.711; $p = 0.040$) and VEGF ≥ 346.7 pg / ml (AUC = 0.756; $p = 0.002$) were considered as markers associated with the presence of CMD in patients with non-obstructive CAD. The multivariate regression analysis showed that only the presence of CMD (odds ratio (OR) 2.42; 95% confidence interval (95% CI) 1.26–5.85; $p < 0.001$) and an increase in NT-proBNP ≥ 760.5 pg / ml (OR 1.33; 95% CI 1.08–3.19; $p = 0.023$) were factors associated with adverse events, and their combination increased the risk of HFpEF progression by more than 3 times (OR 3.18; 95% CI 2.76–7.98; $p < 0.001$), whereas markers of endothelial dysfunction were not independent predictors.

Conclusion. Endothelin-1 ≥ 6.9 pg / ml and VEGF ≥ 346.7 pg / ml can be used as non-invasive markers for the diagnosis of CMD. However, markers of endothelial dysfunction were not independent predictors of HFpEF progression in patients with non-obstructive CAD during 12-month follow-up.

Keywords: coronary microvascular dysfunction, endothelial dysfunction, heart failure, preserved ejection fraction, non-obstructive coronary artery disease

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

Source of financing. The study was supported by the basic research “Studying the mechanisms of structural and functional myocardial remodeling in different phenotypes of chronic heart failure of ischemic and non-ischemic etiology” No. 122020300045-5.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Bioethics Committee at Cardiology Research Institute of Tomsk NRC (Protocol No. 204 of 18.11.2020).

For citation: Kopeva K.V., Maltseva A.N., Mochula A.V., Smorgon A.V., Grakova E.V., Gusakova A.M., Kalyuzhin V.V., Zavadovsky K.V. The role of markers of endothelial dysfunction in the pathogenesis of coronary microvascular dysfunction in patients with non-obstructive coronary artery disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):49–58. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-49-58>.

ВВЕДЕНИЕ

Коронарная микроваскулярная дисфункция (КМД) играет важную роль в механизмах обструктивных и необструктивных коронарных синдромов, а также их осложнений, в том числе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) [1–8]. Наличие КМД, как известно из работ последних нескольких лет, является ранним маркером сердечно-сосудистых заболеваний и тесно ассоциировано с более высокой частотой развития неблагоприятных клинических исходов по сравнению с лицами без данных нарушений микроциркуляции [2, 3]. При этом результаты исследований ряда авторов свидетельствуют о том, что важность наличия дисфункции микроциркуляторного русла в миокарде в клинической практике часто недооценивается. Несмотря на неопровержимые доказательства, подтверждающие взаимосвязь между коронарной эндотелиальной дисфункцией, недостаточной вазодилатационной функцией коронарного и системного микроциркуляторного русла и СНсФВ, патогенез нарушений микроваскулярного кровотока и его роль в инициации и прогрессировании СНсФВ, и в особенности на фоне необструктивного атеросклероза коронарных артерий, является предметом активного обсуждения [4, 5].

Интактный эндотелий артерий вырабатывает большое число биологически активных веществ, поддерживающих нормальную вазомоторную активность [6]. Нарушение баланса между вазодилатирующими и вазоконстрикторными факторами приводит к неоптимальному контролю тонуса и

структуры сосудов, характеризующееся нарушением или утратой гомеостатических механизмов, что приводит к повышенной экспрессии молекул адгезии, усилению окислительного стресса, гиперпродукции протромботических и провоспалительных факторов, увеличению пролиферации гладкомышечных клеток сосудов и повышению тонуса гладких мышц сосудов [6, 7]. Накопленные за несколько последних десятилетий данные продемонстрировали, что эндотелиальная дисфункция и нарушения коронарной вазомоторной функции играют решающую роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний [7]. Однако роль маркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий (КА) в патогенезе КМД остается малоизученной проблемой, так же, как и их значимость в стратификации риска прогрессирования СНсФВ в данной когорте пациентов.

Цель – изучение потенциала неинвазивной биомаркерной диагностики коронарной микроваскулярной дисфункции и прогнозирования течения СНсФВ при необструктивном атеросклеротическом поражении коронарного русла.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 204 от 18.11.2020) и проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации и стандартами надлежащей клинической практики.

В 12-месячное наблюдательное исследование включены 118 пациентов с сохраненной фракцией

выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) (62 [59; 64]%) без предшествующего анамнеза ишемической болезни сердца (ИБС), предъявляющие жалобы боль в груди, одышку или их сочетание, которые прошли обследование в НИИ кардиологии Томского НИМЦ с 2019 по 2022 г. Подробная характеристика критериев включения и исключения представлена в одной из наших предыдущих работ [8].

Оценка степени поражения коронарного русла проводилась посредством выполнения мультиспиральной компьютерной томографии. Полученные скантографические изображения обрабатывали на специализированной рабочей станции XelerisII (GEHealthcare, Израиль), оценивали миокардиальный кровоток в покое (rest-MBF, мл/мин/г) и при нагрузке на фоне введения стресс-агента аденозинтрифосфата (stress-MBF, мл/мин/г), рассчитывали резерв коронарного кровотока (MFR) по формуле $MFR = \text{stress-MBF}/\text{rest-MBF}$ [9], а наличие КМД диагностировали при значении резерва миокардиального кровотока (CFR) ≤ 2 [10, 11].

Трансторакальную эхокардиографию (2D, B-realtime, 2D-speckletracking) выполняли с использованием цифровой универсальной ультразвуковой системы Philips Affiniti 70. Оценивали наличие диастолической дисфункции ЛЖ (пик E, отношение E/A, lateral e', среднее отношение E/e', индексированный объем левого предсердия и пиковая скорость трикуспидальной регургитации) и систолической глобальной продольной деформации ЛЖ (GLS) [12].

Параметры миокардиального стресса, такие как конечная систолическая эластичность ЛЖ (Es), сердечно-сосудистое сопротивление (Ea), миокардиальный стресс ЛЖ в систолу (МСс) и диастолу (МСд), рассчитывались по формулам, отражающим особенности ремоделирования ЛЖ, и представленным в работе Т.А. Нечесовой и соавт. [13]. Содержание сывороточных биомаркеров (NT-proBNP, VEGF и эндотелина-1) определяли при выполнении иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов Biomedica (Австрия), «Вектор-Бест» (Россия) и RayBio (США) соответственно (рис. 1).



Рис. 1. Дизайн исследования: NT-proBNP – N-концевой пропептид натрийуретического гормона В-типа, VEGF – васкуло-эндотелиальный фактор роста, МСКТ-КАГ – мультиспиральная компьютерная томографическая коронарная ангиография, ПСМ – перфузионная скантография миокарда

Обработка полученных результатов осуществлялась с помощью статистических программ Statistica 10.0 и MedCalc 11.5.0.0. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_{25}; Q_{75})$, качественные – в виде абсолютных значений (абс.) и процентного соотношения (%). При сопоставлении количественных показателей в двух независимых группах использовали

критерий Манна – Уитни. При анализе качественных признаков анализировали таблицы сопряженности с применением критерия χ^2 Пирсона. Однофакторный регрессионный анализ с расчетом отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ) применяли для оценки влияния факторов на течение патологии. Многофакторный регрессионный анализ проводился с целью выявления независимых пре-

дикторов развития неблагоприятных исходов. Для выявления cut-off уровней биомаркеров применяли ROC-анализ с построением характеристических кривых и расчетом AUC (площади под кривой). Критические значения p для всех применяемых тестов принимали $\leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В зависимости от наличия или отсутствия КМД пациенты были включены в две группы: в группу 1 – пациенты с $CFR \leq 2$ (КМД+, $n = 42$), в группу 2 – больные с показателем $CFR > 2$ (КМД–, $n = 70$). Параметры миокардиального кровотока значимо различались между группами (рис. 2).

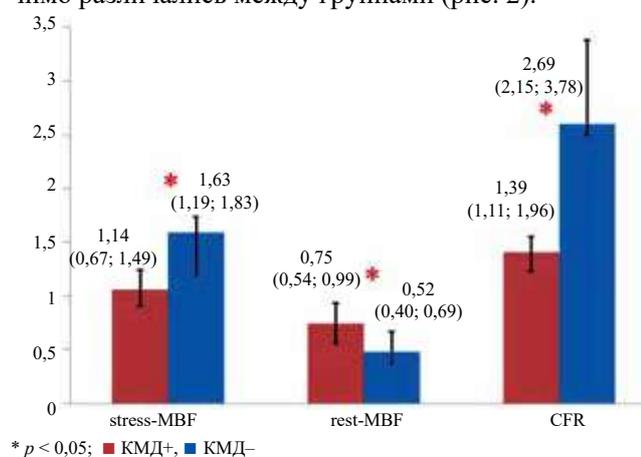


Рис. 2. Показатели миокардиального кровотока и резерв коронарного кровотока в зависимости от наличия коронарной микроваскулярной дисфункции (КМД): stress-MBF – миокардиальный кровоток при нагрузке, rest-MBF – миокардиальный кровоток в покое, CFR – резерв миокардиального кровотока.

Здесь и на рис. 3, 4: p – уровень статистической значимости различий

Анамнез сахарного диабета 2-го типа ($p = 0,003$), как и статус курильщика ($p = 0,012$), значительно чаще регистрировали среди пациентов с КМД. В данной группе у 80,9% обследованных диагностирована СНсФВ, тогда как в группе 2 пациентов с данным фенотипом сердечной недостаточности было статистически значимо ($p < 0,001$) меньше – 34,3%. В отношении остальных клинико-демографических параметров группы были сопоставимы (табл. 1).

Группа пациентов с КМД+ характеризовалась наличием структурных и функциональных изменений, соответствующих нарушению диастолической функции на фоне неокклюзирующего коронарного атеросклероза: снижением показателей латерального e' (на 35%; $p = 0,009$), депрессией GLS (на 25,1%; $p < 0,001$) и повышением пиковой скорости трикуспидальной регургитации (на 12%; $p = 0,011$), отношения E/e' (на 21,4%; $p = 0,041$), а также индексированного объема левого предсердия (на 51,2%; $p = 0,038$) соответственно по сравнению с пациентами с отсутствием нарушений коронарной микроциркуляции. Сходные изменения отмечались и в отношении параметров систолического и диастолического миокардиального стресса, превышавших в группе КМД+ на 6,3 ($p = 0,032$) и 6,8% ($p = 0,021$) соответствующие показатели пациентов группы КМД–. У пациентов группы 1, по сравнению с группой 2, значительно чаще ($p = 0,011$) отмечалось повышение уровня и другого независимого фактора кардиоваскулярного риска – сердечно-сосудистого сопряжения (Ea/Es) на 25,9% ($p = 0,032$), что характеризует снижение механической эффективности сердечно-сосудистой системы у пациентов с коронарной микроваскулярной дисфункцией на фоне не-обструктивного коронарного атеросклероза (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика пациентов на момент включения в исследование			
Показатель	Группа 1 (КМД+; $n = 42$)	Группа 2 (КМД-; $n = 70$)	p
Возраст, годы, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	61,5 (55,0; 66,0)	62,0 (60,0; 67,0)	0,124
Мужчины, n (%)	26 (61,9)	44 (62,8)	0,919
ИМТ, $кг/м^2$, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	29,7 (27,6; 32,0)	30,1 (27,7; 34,1)	0,254
Сахарный диабет 2-го типа, n (%)	11 (26,2)	5 (7,1)	0,003
ХОБЛ, n (%)	6 (14,3)	13 (18,6)	0,718
СНсФВ, n (%)	34 (80,9)	24 (34,3)	<0,001
Курение, n (%)	11 (26,2)	4 (5,7)	0,012
СКФ ($мл/мин/1,73 м^2$), $Me (Q_{25}; Q_{75})$	76,8 (63,0; 81,0)	78,0 (64,0; 87,0)	0,476
Общий холестерол, ммоль/л, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	4,65 (3,67; 5,25)	4,34 (3,54; 4,98)	0,932
ФВ ЛЖ, %, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	62 (58,5; 65,0)	63 (61; 66)	0,183
КСР, мм, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	40 (38; 43)	38,5 (36,5; 41,5)	0,524
КДР, мм, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	51,0 (48,7; 53,0)	50,5 (47,5; 52,5)	0,307
Lateral e' , $см/с$, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	5,56 (4,78; 6,45)	8,56 (8,01; 9,14)	0,008
ПСТР, $м/с$, $Me (Q_{25}; Q_{75})$	2,98 (2,95; 3,01)	2,61 (2,3; 2,76)	0,009
E/e' , $Me (Q_{25}; Q_{75})$	14 (13,5; 15,0)	11 (10; 12)	0,041

Окончание табл. 1

Показатель	Группа 1 (КМД+; n = 42)	Группа 2 (КМД-; n = 70)	p
ЛПОИ, мл/м ² , Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	38,3 (35,7; 51,1)	29,7 (27,5; 47,9)	0,038
GLS, %, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	-14,9 (-13,1; -21,9)	-21,3 (-16,3; -22,8)	0,004
МСд, дин/см ² , Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	154,23 (140,11; 159,65)	140,13 (129,23; 151,54)	0,027
МСс, дин/см ² , Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	172,18 (149,23; 192,34)	156,14 (134,23; 176,4)	0,022
Ea, мм рт. ст./мл, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	0,61 (0,54; 0,89)	0,55 (0,52; 0,64)	0,028
Es, мм рт. ст./мл, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	2,29 (1,67; 3,16)	2,78 (2,48; 3,09)	0,019
Ea/Es, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	0,27 (0,23; 0,56)	0,20 (0,18; 0,45)	0,032

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, СНсФВ – сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, КСР – конечный систолический размер левого желудочка, КДР – конечный диастолический размер левого желудочка, Lateral e' – ранняя диастолическая скорость движения боковой стенки левого желудочка, ПСТР – пиковая скорость трикуспидальной регургитации, E/e' – отношение пиковой скорости раннего диастолического трансмитрального потока к пиковой скорости раннего диастолического движения митрального кольца, ЛПОИ – индексированный объем левого предсердия, GLS – систолическая глобальная продольная деформация левого желудочка, МСд – миокардиальный стресс в диастолу, МСс – миокардиальный стресс в систолу, Ea – сердечно-сосудистое сопротивление, Es – конечная систолическая эластичность. p – уровень статистической значимости различий.

У больных в группе 1 концентрации эндотелина-1 были выше в 1,9 раза (p = 0,012), VEGF – в 2,16 (p = 0,008), а NT-proBNP – выше в 2,6 раза (p = 0,004) по сравнению с больными в группе 2 (рис. 3).

Выполнение ROC-анализа позволило установить, что диагностической ценностью в отношении

выявления коронарной микроваскулярной дисфункции у пациентов с необструктивным поражением КА обладала гиперэкспрессия VEGF ≥ 346,7 пг/мл (чувствительность 89,8%, специфичность 72,4%; AUC = 0,756; p = 0,002) и эндотелина-1 ≥ 6,9 пг/мл (чувствительность 84,6%, специфичность 65,6%; AUC = 0,711; p = 0,040) (рис. 4).

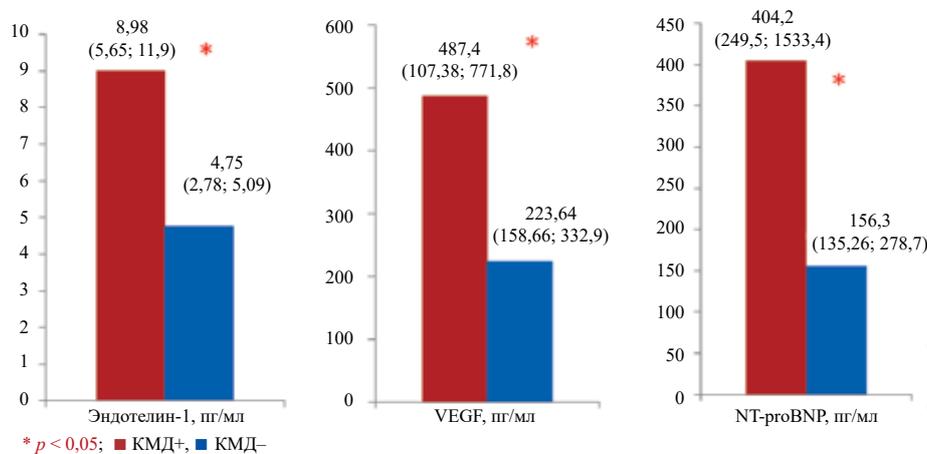


Рис. 3. Содержание исследуемых сывороточных биомаркеров у пациентов с наличием (КМД+) и отсутствием (КМД-) коронарной микроваскулярной дисфункции

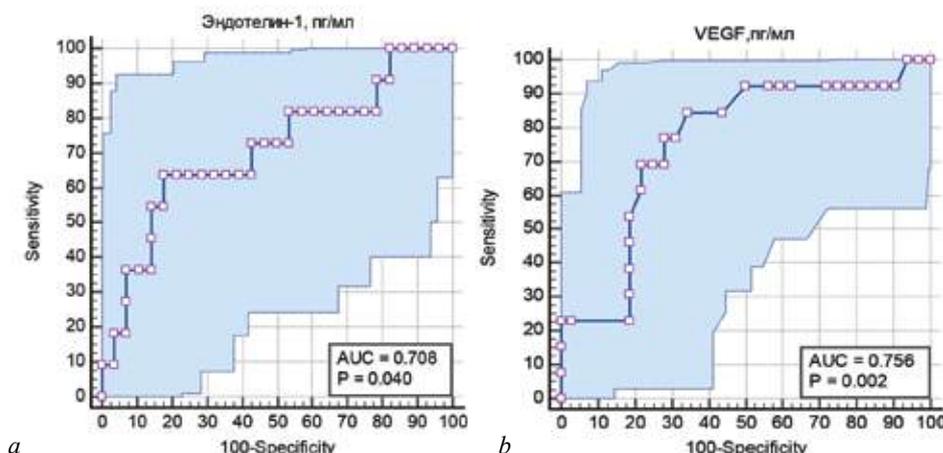


Рис. 4. Диагностическая значимость концентраций эндотелина-1 (a) и VEGF (b) при наличии коронарной микроваскулярной дисфункции (ROC-анализ), AUC – площадь под кривой

В течение 12 мес наблюдения у 25 (22,3%) пациентов зарегистрированы неблагоприятные события (рис. 5). В структуре неблагоприятных сердечно-сосудистых событий преобладал комплексный

показатель «прогрессирование СНсФВ или интенсификация диуретической терапии», в одном случае зарегистрирована внезапная сердечная смерть.

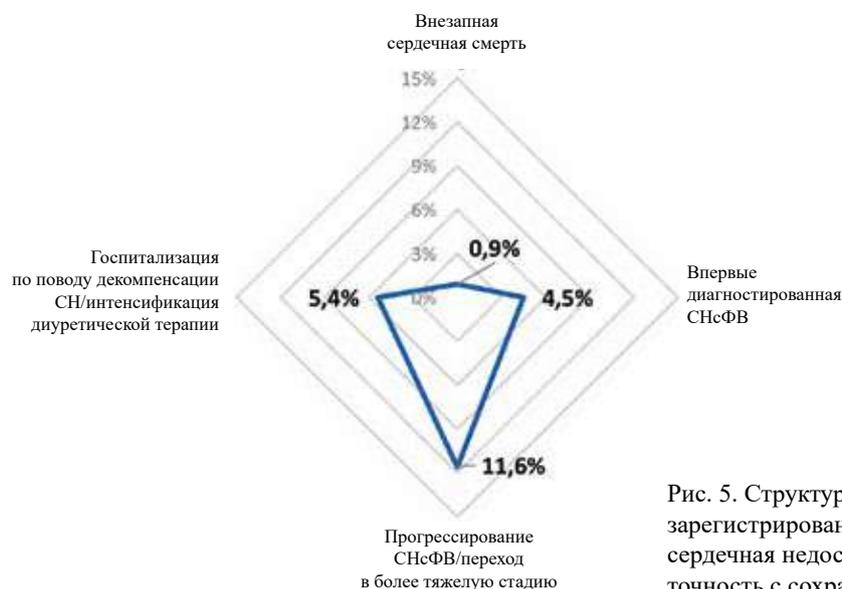


Рис. 5. Структура неблагоприятных событий, зарегистрированных в течение 12 мес наблюдения: СН – сердечная недостаточность, СНсФВ – сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса

Результаты однофакторного и многофакторного регрессионного анализа представлены в табл. 2. Каждый из перечисленных факторов: сахарный диабет 2-го типа, КМД, факт курения, гиперэкспрессия NT-proBNP $\geq 760,5$ пг/мл и повышение уровня эндотелина-1 $\geq 4,9$ пг/мл, увеличивал риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с неокклюзирующим коронарным атеросклерозом в 1,9; 2,7; 2,3, 2 и 1,9 раза соответственно.

Вместе с тем при оценке степени одновременного влияния включенных в анализ предикторов установлено, что факторами, ассоциированными с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, остаются КМД и гиперэкспрессия NT-proBNP $\geq 760,5$ пг/мл, а их сочетание увеличивало риск прогрессирования СНсФВ более чем в 3 раза (ОШ 3,18; 95% ДИ 2,76–7,98; $p < 0,001$); маркеры эндотелиальной дисфункции в то же время не являлись независимыми предикторами.

Таблица 2

Анализ влияния факторов риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий на исходы у пациентов с неокклюзирующим коронарным атеросклерозом			
Однофакторный регрессионный анализ			
Фактор	Отношение шансов	95% ДИ	p
Сахарный диабет 2-го типа	1,87	1,12–3,95	0,018
NT-proBNP ($< 760,5 / \geq 760,5$ пг/мл)	1,98	1,09–3,98	0,028
GLS ($> 18 \leq -18\%$)	1,98	0,99–5,98	0,002
Курение	2,13	1,23–2,97	0,039
Коронарная микроваскулярная дисфункция	2,72	1,65–6,03	$< 0,001$
Эндотелин-1 ($< 4,9 / \geq 4,9$ пг/мл)	1,95	0,98–5,87	0,002
VEGF ($< 464,7 / \geq 464,7$ пг/мл)	2,65	1,76–9,12	0,001
Многофакторный регрессионный анализ			
Коронарная микроваскулярная дисфункция	2,42	1,26–5,85	$< 0,001$
NT-proBNP ($< 760,5 / \geq 760,5$ пг/мл)	1,33	1,08–3,19	0,025
КМД+NT-proBNP	3,18	2,76–7,98	$< 0,001$

Примечание. NT-proBNP – N-концевой пропептид натрийуретического гормона В-типа, GLS – систолическая глобальная продольная деформация левого желудочка, VEGF – васкулоэндотелиальный фактор роста, КМД – коронарная микроваскулярная дисфункция, p – уровень статистической значимости.

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании установлено, что нарушение функции коронарной микроваскулярной сети тесно взаимосвязано с повышением в сыворотке крови уровня ряда молекулярных биомаркеров активации и повреждения эндотелия [14, 15]: уровни эндотелина-1 $\geq 6,9$ пг/мл и VEGF $\geq 346,7$ пг/мл могут быть использованы как неинвазивные маркеры для диагностики КМД. Однако маркеры эндотелиальной дисфункции, по нашим данным, не являлись независимыми предикторами прогрессирования СНсФВ у пациентов с необструктивным поражением КА в течение 12 мес, что, вероятно, может быть связано с более значимым влиянием на стадии неокклюзирующего коронарного атеросклероза факторов неспецифического воспаления – окислительного стресса, профибротических цитокинов и ремоделирования матрикса ЛЖ вследствие специфических изменений структуры саркомерного белка титина [16, 17].

Согласно ранее полученным данным, развитие КМД происходит за счет нарушения эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации, а также периваскулярного фиброза. При этом КМД является одним из ведущих механизмов развития СНсЛЖ у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий на фоне повышения сосудисто-желудочковой ригидности [16]. Данные процессы приводят к недостаточности миокардиальной перфузии, направляя цепь стартовавших дезадаптивных реакций организма по пути развития сердечно-сосудистого континуума [3–7]. Наши данные не противоречат вышеизложенной концепции, в частности, мы показали, что у пациентов с КМД диагностируются более тяжелые нарушения диастолической функции, а также депрессия механической эффективности сердечно-сосудистой системы, проявившееся повышением сердечно-сосудистого сопряжения (Ea/Es) и миокардиального стресса, связанных с ростом жесткости миокарда и повышенной пред- и постнагрузкой на ЛЖ.

Недавнее исследование S. Ohura-Kajitani и соавт. (2020) показало, что как NO–, так и эндотелий-опосредованная вазодилатация была заметно нарушена у пациентов с микрососудистой стенокардией [14]. В другом исследовании обнаружено, что коронарная микрососудистая эндотелиальная дисфункция может предшествовать эпикардиальной дисфункции, вызванной окислительным стрессом и воспалением на ранней стадии ИБС [18]. В исследовании, проведенном В. Lavin Plaza и соавт. (2020), показано, что локальное воспаление в сосудистой стенке приводит к дисфункции эндотелия и ускоряет раз-

витие и прогрессирование атеросклероза в периферических артериях [19], поэтому при выявлении системной эндотелиальной дисфункции пациентам необходима инициация раннего агрессивного медикаментозного лечения, направленного на восстановление эндотелиальной функции и коррекцию основных факторов риска.

В нашем исследовании также было установлено, что пациенты с КМД имели повышенный уровень сывороточных биомаркеров активации и повреждения эндотелия, что, вероятно, опосредовано влиянием целого ряда факторов риска (артериальная гипертензия, сахарный диабет, гиперхолестеринемия и т.д.) на развития функциональных и структурных изменений эндотелия на уровне сердца, так и сердечно-сосудистой системы в целом. В частности, мы обнаружили, что повышение содержания в сыворотке крови пациентов с необструктивным поражением коронарного русла, VEGF $\geq 346,7$ пг/мл и эндотелина-1 $\geq 6,9$ пг/мл, можно рассматривать в качестве показателя наличия коронарной микроваскулярной дисфункции.

Среди биомаркеров эндотелиальной дисфункции, только симметричный диметиларгинин (ADMA) и эндотелин-1 изучены больше всего у больных с КМД [20, 21]. Несколько исследователей сообщили о значительно более высоких уровнях ADMA и эндотелина-1 в плазме у пациентов с КМД по сравнению с контрольной группой, а также их ассоциации с неблагоприятными клиническими исходами [20, 22]. В нашем исследовании также установлена связь VEGF и эндотелина-1 с неблагоприятными исходами, связанными с прогрессированием СНсФВ, однако при проведении многофакторного анализа данные биомаркеры не являлись независимыми предикторами стратификации риска. Вероятно, это связано с относительно небольшой выборкой больных и малым количеством «жестких» конечных точек, таких как повторные госпитализации и смертельные исходы.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основными ограничениями данного исследования являлись относительно небольшая и неоднородная выборка больных и краткосрочный период наблюдения – 12 мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящей работы, которые стимулируют дальнейшие исследования в данном направлении, могут лечь в основу создания медицинских технологий стратификации риска КМД и ее ранней/доклинической диагностики, что определит выбор

персонализированного лечения социально значимой патологии и позволит снизить экономическое бремя, связанное с затратами на ее лечение.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Radico F., Zimarino M., Fulgenzi F., Ricci F., Di Nicola M., Jespersen L. et al. Determinants of long-term clinical outcomes in patients with angina but without obstructive coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur. Heart J.* 2018;39(23):135–2146. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy185.
- Del Buono M.G., Montone R.A., Camilli M., Carbone S., Narula J., Lavie C.J. et al. Coronary Microvascular Dysfunction Across the Spectrum of Cardiovascular Diseases: JACC State-of-the-Art Review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2021;78(13):1352–1371. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.07.042
- Taqueti V.R., Solomon S.D., Shah A.M., Desai A.S., Groarke J.D., Osborne M.T. et al. Coronary microvascular dysfunction and future risk of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur. Heart J.* 2018;39(10):840–849. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx721.
- Camicì P.G., Crea F. Coronary microvascular dysfunction. *N. Engl. J. Med.* 2007;356(8):830–840. DOI: 10.1056/NEJMr061889.
- Paulus W.J., Tschöpe C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013;62(4):263–271. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.02.092.
- Vanhoufte P.M., Shimokawa H., Feletou M., Tang E.H. Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. *Acta Physiol. (Oxf.)*. 2017;219(1):22–96. DOI: 10.1111/apha.12646.
- Schroder J., Michelsen M.M., Mygind N.D., Suhrs H.E., Bove K.B., Bechsgaard D.F. et al. Coronary flow velocity reserve predicts adverse prognosis in women with angina and no obstructive coronary artery disease: results from the iPOWER study. *Eur. Heart J.* 2021;42(3):228–239. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa944.
- Копьева К.В., Мальцева А.Н., Мочула А.В., Гракова Е.В., Сморгон А.В., Гусакова А.М. и др. Значимость маркеров воспаления у пациентов с коронарной микроваскулярной дисфункцией на фоне необструктивного поражения коронарных артерий. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(6):5399. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5399.
- Zavadovsky K.V., Mochula A.V., Boshchenko A.A., Vrublevsky A.V., Baev A.E., Krylov A.L. et al. Absolute myocardial blood flows derived by dynamic CZT scan vs invasive fractional flow reserve: Correlation and accuracy. *J. Nucl. Cardiol.* 2021;28(1):249–259. DOI: 10.1007/s12350-019-01678-z.
- Godo S., Suda A., Takahashi J., Yasuda S., Shimokawa H. Coronary microvascular dysfunction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2021;41(5):1625–1637. DOI: 10.1161/ATVBAHA.121.316025.
- Мочула А.В., Мочула О.В., Мальцева А.Н., Сулейманова А.С., Капилевич Н.А., Рябов В.В. и др. Количественная оценка миокардиального кровотока методом динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии миокарда: взаимосвязь с электрокардиографическими изменениями и биохимическими маркерами повреждения у пациентов с острым инфарктом миокарда. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2023;39(3):66–74. DOI: 10.29001/2073-8552-2023-39-3-66-74.
- Voigt J.U., Pedrizzetti G., Lysyansky P., Marwick T.H., Houle H., Baumann R. et al. Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*. 2015;16(1):1–11. DOI: 10.1093/ehjci/jeu184.
- Нечесова Т.А., Коробко И.Ю., Кузнецова Н.И. Ремоделирование ЛЖ: патогенез и методы оценки. *Медицинские новости*. 2008;(11):7–13.
- Ohura-Kajitani S., Shiroto T., Godo S., Ikumi Y., Ito A., Tanaka S. et al. Marked impairment of endothelium-dependent digital vasodilatations in patients with microvascular angina: evidence for systemic small artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2020;40(5):1400–1412. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.313704.
- Захарьян Е.А., Агеева Е.С., Шрамко Ю.И., Малый К.Д., Гуртовая А.К., Ибрагимова Р.Э. Современные представления о диагностической роли биомаркеров эндотелиальной дисфункции и возможностях ее коррекции. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2022;11(4S):194–207. DOI: 10.17802/2306-1278-2022-11-4S-194-207.
- Tah S., Valderrama M., Afzal M., Iqbal J., Farooq A., Lak M.A. et al. Heart failure with preserved ejection fraction: an evolving understanding. *Cureus*. 2023;15(9):e46152. DOI: 10.7759/cureus.46152.
- Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Черногорюк Г.Э., Терентьева Н.Н. и др. Роль белков эндосаркомерного скелета в механизмах диастолической дисфункции левого желудочка: фокус на титин. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(3):98–109. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-3-98-109.
- Dou H., Feher A., Davila A.C., Romero M.J., Patel V.S., Kamath V.M. et al. Role of Adipose tissue endothelial ADAM17 in age-related coronary microvascular dysfunction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2017;37(6):1180–1193. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309430.
- Lavin Plaza B., Phinikaridou A., Andia M.E., Potter M., Lorio S., Rashid I. et al. Sustained focal vascular inflammation accelerates atherosclerosis in remote arteries. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2020;40(9):2159–2170. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.314387.
- Theuerle J., Farouque O., Vasanthakumar S., Patel S.K., Burrell L.M., Clark D.J. et al. Plasma endothelin-1 and adrenomedullin are associated with coronary artery function and cardiovascular outcomes in humans. *Int. J. Cardiol.* 2019;291:168–172. DOI: 10.1016/j.ijcard.2019.04.008.
- Kaski J.C., Cox I.D., Crook J.R., Salomone O.A., Fredericks S., Hann C. et al. Differential plasma endothelin levels in subgroups of patients with angina and angiographically normal coronary arteries. Coronary Artery Disease Research Group.

Am. Heart J. 1998;136(3):412–417. DOI: 10.1016/s0002-8703(98)70214-5.
22. Lu T.M., Lee T.S., Lin S.J., Chan W.L., Hsu C.P. The prog-

nostic value of asymmetric dimethylarginine in patients with cardiac syndrome X. *PLoS One.* 2017;12(12):e0188995. DOI: 10.1371/journal.pone.0188995.

Вклад авторов

Копьева К.В. – получение и интерпретация клинических данных, составление базы данных, статистическая обработка данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Мальцева А.Н. – проведение скинтиграфических исследований, получение и интерпретация данных, составление базы данных, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Мочула А.В. – проведение скинтиграфических исследований и оценка параметров кровотока, получение и интерпретация данных, составление базы данных, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Сморгон А.В. – проведение эхокардиографических исследований, получение и интерпретация данных, составление базы данных, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Гракова Е.В. – интерпретация клинических данных, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Гусакова А.М. – определение уровней биомаркеров в сыворотке крови, получение и интерпретация данных, составление базы данных, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Калюжин В.В. – анализ литературы, интерпретация данных, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Завадовский К.В. – координация выполнения исследования, написание текста статьи, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи.

Информация об авторах

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

Мальцева Алина Николаевна – мл. науч. сотрудник, лаборатория радионуклидных методов исследования, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, maltseva.alina.93@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-1311-0378>

Мочула Андрей Викторович – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория радионуклидных методов исследования, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, mochula.andrew@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0883-466X>

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

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

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

Калюжин Вадим Витальевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhinvv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>

Завадовский Константин Валерьевич – д-р мед. наук, зав. отделом лучевой диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, konstzav@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-1513-8614>

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

Поступила в редакцию 07.05.2024;
одобрена после рецензирования 20.00.2024;
принята к публикации 30.05.2024

УДК 616.348-002.44-021.6-085.243:616.345-018.25-018.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-59-65>

Влияние даларгина на содержание бокаловидных клеток и муцинов в слизистой оболочке толстого кишечника при экспериментальном язвенном колите

Ляшев А.Ю.¹, Маль Г.С.¹, Солин А.В.²

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

² Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ БелГУ)
Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение протективного эффекта даларгина на содержание бокаловидных клеток и муцинов в слизистой оболочке толстого кишечника у мышей с экспериментальным язвенным колитом.

Материалы и методы. Язвенный колит моделировали у мышей линии Balb/C заменой в течение 5 сут питьевой воды 5%-м раствором декстрана сульфата натрия в кипяченой воде. Даларгин вводили подкожно в объеме 0,1 мл в дозе 100 мкг/кг массы тела 1 раз/сут в течение 7 сут с начала моделирования язвенного колита. Препарат сравнения сульфасалазин вводили в желудок в дозе 200 мг/кг 1 раз/сут в течение 7 сут. На 5, 7 и 28-е сут мышей выводили из эксперимента. На депарафинированных, окрашенных гематоксилином и эозином, альциановым синим (рН = 1,0) по Моури или реактивом Шиффа срезах дистального отдела ободочной кишки определяли количество бокаловидных клеток, содержание кислых и нейтральных муцинов.

Результаты. При модели язвенного колита в дистальном отделе ободочной кишки мышей снижается количество бокаловидных клеток (преимущественно в основании крипт), кислых и нейтральных муцинов. Даларгин эффективнее сульфасалазина увеличивает количество бокаловидных клеток, содержание кислых и нейтральных муцинов.

Заключение. Даларгин оказывает протективное влияние при экспериментальном язвенном колите.

Ключевые слова: модель язвенного колита, даларгин, сульфасалазин, бокаловидные клетки, муцины

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

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

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено региональным этическим комитетом КГМУ (протокол № 1 от 03.04.2023).

Для цитирования: Ляшев А.Ю., Маль Г.С., Солин А.В. Влияние даларгина на содержание бокаловидных клеток и муцинов в слизистой оболочке толстого кишечника при экспериментальном язвенном колите. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):59–65. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-59-65>.

✉ Ляшев Андрей Юрьевич, andr.liashev@yandex.ru

Effect of dalargin on the content of goblet cells and mucins in the colonic mucosa in experimental ulcerative colitis

Liashev A.Yu.¹, Mal G.S.¹, Solin A.V.²

*Kursk State Medical University
3, Karla Marxa Str., Kursk, 305041, Russian Federation*

*Belgorod State National Research University
85, Pobedy Str., Belgorod, 308015, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To investigate the protective effect of dalargin on the content of goblet cells and mucins in the colonic mucosa in a mouse model of ulcerative colitis.

Materials and methods. Ulcerative colitis was simulated in Balb/C mice by replacing drinking water with 5% sodium dextran sulfate in boiled water for 5 days. Dalargin was administered subcutaneously in a volume of 0.1 ml at a dose of 100 µg / kg of body weight once a day for 7 days from the beginning of ulcerative colitis simulation. Sulfasalazine as a reference-listed drug was administered intragastrically at a dose of 200 mg / kg once a day for 7 days. The mice were sacrificed on day 5, 7, and 28. The sections of the distal colon were prepared and stained with hematoxylin and eosin, alcian blue (pH = 1.0) according to Mowry or by PAS reaction. In the sections, the number of goblet cells and acid and neutral mucins was determined.

Results. In the mouse model of ulcerative colitis, the number of goblet cells (mainly at the bottom of the crypts), acid and neutral mucins decreased. Dalargin administration increased the number of goblet cells and the content of acid and neutral mucins in the colonic mucosa more effectively than sulfasalazine.

Conclusion. Dalargin has a protective effect in ulcerative colitis.

Keywords: ulcerative colitis, dalargin, sulfasalazine, goblet cells, mucins

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

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

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee Kursk State Medical University (Protocol No. 1 of 03.04.2023).

For citation: Liashev A.Yu., Mal G.S., Solin A.V. Effect of dalargin on the content of goblet cells and mucins in the colonic mucosa in experimental ulcerative colitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):59–65. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-59-65>.

ВВЕДЕНИЕ

Бокаловидные клетки (БК), наряду с всасывающими колоноцитами, энтероэндокринными клетками, являются основной клеточной популяцией слизистой оболочки толстого кишечника [1]. Бокаловидные клетки секретируют компоненты слизи, прежде всего муцины, составляющие основу защитного барьера слизистой оболочки. Муцин предупреждает пенетрацию патогенной и комменсальной микрофлоры, токсинов из просвета в стенку толстого кишечника, играет важную роль в регуляции врожденного иммунитета [2]. Выделяют два вида муцинов: секреторные и связанные с мембраной колоноцитов. Первые образуют внутренний слой слизи, непроницаемый для бактерий и высокомолекулярных ве-

ществ, вторые составляют основу гликокаликса [2]. Нарушение кишечного барьера, прежде всего разрушение слоя муцинов, приводит к значительному повышению проницаемости, пенетрации бактерий в слизистую оболочку и подслизистый слой, активации сначала нейтрофилов [3], затем макрофагов и лимфоцитов с последующим развитием иммунного воспаления – основы патогенеза язвенного колита (ЯК) [4].

Язвенный колит – хроническое, рецидивирующее заболевание толстого кишечника. Он развивается у людей в возрасте 20–40 лет, значительно ухудшает качество жизни пациентов и часто приводит к инвалидизации [5]. Несмотря на значительное количество исследований, посвященных изучению различных аспектов ЯК, его этиология и патогенез остаются

недостаточно выясненными, что обуславливает невысокую эффективность существующих методов его лечения [5]. В этой связи представляет интерес изучение влияния на развитие ЯК лекарственных средств, обладающих антиоксидантным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием.

Одним из таких лекарственных средств является даларгин, предложенный для лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Даларгин включают также в фармакотерапию острого панкреатита [6]. В связи с этим представляет интерес исследовать влияние даларгина на содержание муцинов в толстом кишечнике при модели ЯК.

Цель исследования – изучение протективного эффекта даларгина на количество БК и содержание муцинов в слизистой оболочке толстого кишечника у мышей с экспериментальным ЯК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 102 мышах самцах линии Balb/C массой тела 21–23 г, полученных из филиала «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства. Исследование выполнено с соблюдением положений Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000 г.), директивы Европейского сообщества (86/609ЕС) и Правил надлежащей лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016). Проведение экспериментов по теме диссертационного исследования одобрено региональным этическим комитетом (протокол заседания секции доклинических исследований № 1 от 03.04.2023).

Язвенный колит моделировали у мышей заменой в течение 5 сут питьевой воды 5%-м раствором декстрана сульфата натрия (ДСН) (Mg = 40 000, PanReas-AppliChem, Германия) в кипяченой воде [7]. Животных выводили из эксперимента при развитии острого ЯК на 5-е и 7-е сут и хронического ЯК – на 28-е сут.

Даларгин (НПО «Микроген», Россия) растворяли в физиологическом растворе хлорида натрия, вводили подкожно в объеме 0,1 мл ежедневно в дозе 100 мкг/кг массы тела 1 раз/сут в течение 7 сут с начала моделирования ЯК. По данным литературы, даларгин проявляет высокую фармакологическую активность при использовании в указанной дозе [6]. В качестве препарата сравнения вводили в желудок сульфасалазин (KRKA, Словения) в виде суспензии в физиологическом растворе в дозе 200 мг/кг массы тела в объеме 0,3 мл в течение 7 сут с начала моделирования ЯК [8].

Были сформированы следующие группы: 1) интактные мыши, $n = 6$; 2) контрольная № 1 (модель ЯК + подкожное введение физиологического раствора), $n = 24$; 3) контрольная № 2 (модель ЯК + введение в желудок физиологического раствора натрия хлорида), $n = 24$; 4) опытная № 1 (модель ЯК + введение даларгина), $n = 24$; 5) опытная № 2 (модель ЯК + введение сульфасалазина), $n = 24$.

На 5, 7 и 28-е сут мышей выводили из эксперимента цервикальной дислокацией под хлоралгидратным наркозом. Дистальный отдел толстого кишечника помещали в забуференный 10%-й раствор формалина. Депарафинированные срезы толстого кишечника толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и альциановым синим pH = 1,0 (АС) по Моури для выявления высокосульфатированных кислых муцинов (ВКМ) и реактивом Шиффа для определения нейтральных муцинов (НМ). Световую микроскопию выполняли на микроскопе Nikon Eclipse Ni с использованием программного обеспечения NIS Elements AR. Готовые окрашенные срезы полностью сканировали на сканере стекол Hamamatsu NanoZoomer-SQ Digital Slide Scanner (Япония). Полученные цифровые изображения анализировали в программе QuPath [9] с использованием метода цветовой деконволюции [10].

Для оценки в слизистой оболочке толстого кишечника количества ВКМ и содержания НМ гистологические препараты после обработки йодной кислотой оцифровывали, в полученных цифровых изображениях выделяли участки с продольно ориентированными криптами без язв и эрозий, но с выраженными признаками воспаления. Определяли количество БК на 1 крипту на срезах, окрашенных АС. Содержание ВКМ и НМ оценивали по интенсивности окрашивания БК альциановым синим и реактивом Шиффа после обработки йодной кислотой соответственно. Интенсивность окрашивания рассчитывали как среднее значение десятичного логарифма отношения яркости фона к яркости точки объекта на фотографии [11]. Интенсивность гистохимических реакций значительно варьировала даже в пределах контрольной группы, что связано с различиями в толщине срезов, времени фиксации и окраски. Для нивелирования этих различий, интенсивность окрашивания БК нормировали по интенсивности окрашивания расположенных рядом участков соединительной ткани.

При статистической обработке результатов нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка, гомогенность дисперсий – по критерию Левена. Статистические гипотезы проверяли с помощью непараметрического U -критерия Манна – Уитни. Применение непараметрической

статистики связано с небольшим размером выборок, разным характером распределения в вариационных рядах и неравенством дисперсий при сравнении групп. Материал представлен в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_1; Q_3)$. В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0,05$. Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica v. 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При модели ЯК в обеих контрольных группах мышей количество БК уменьшалось на 32,7–33,2% на 5-е сут, на 47,1–47,6% на 7-е сут, на 15,4–15,9% на 28-е сут эксперимента соответственно ($p = 0,0024$) (таблица). Прежде всего, число БК снижалось в основании крипт (рис.). Бокаловидные клетки расширялись, их площадь увеличивалась. У мышей с хроническим ЯК (28 сут) количество БК становилось на 25,7–61,5% выше, чем у животных с острым процессом (5–7-е сут) ($p = 0,0009$). На 5-е сут экспери-

мента в слизистой толстого кишечника содержание ВКМ снижалось в 3,43–3,75 раза, НМ – на 36,3%, на 7-е сут, соответственно, в 3,64–3,87 раза и на 38,2–39,3% ($p = 0,0024$) по сравнению с показателями интактных животных. У мышей с экспериментальным хроническим ЯК содержание муцинов было выше, чем у мышей с острым процессом, но снижалось по сравнению с их содержанием в интактной группе (ВКМ – на 42,5–43,3%, НМ – на 27,5–29,4%) ($p = 0,0024$).

Введение даларгина сопровождалось ростом количества БК у мышей с моделью ЯК на 5-е сут эксперимента на 3,6% ($p = 0,0011$), на 7-е сут – на 9,3% ($p = 0,0009$) по сравнению с их числом у контрольных животных. Даларгин не оказывал влияния на количество БК в криптах толстого кишечника мышей с моделью хронического ЯК, увеличивал уровень ВКМ на: 50,0% ($p = 0,0239$) на 5-е сут и на 54,8% ($p = 0,0136$) на 7-е сут эксперимента, повышал содержание НМ на 6,2% ($p = 0,0136$) на 5-е сут и на 7,9% ($p = 0,0009$) на 7-е сут.

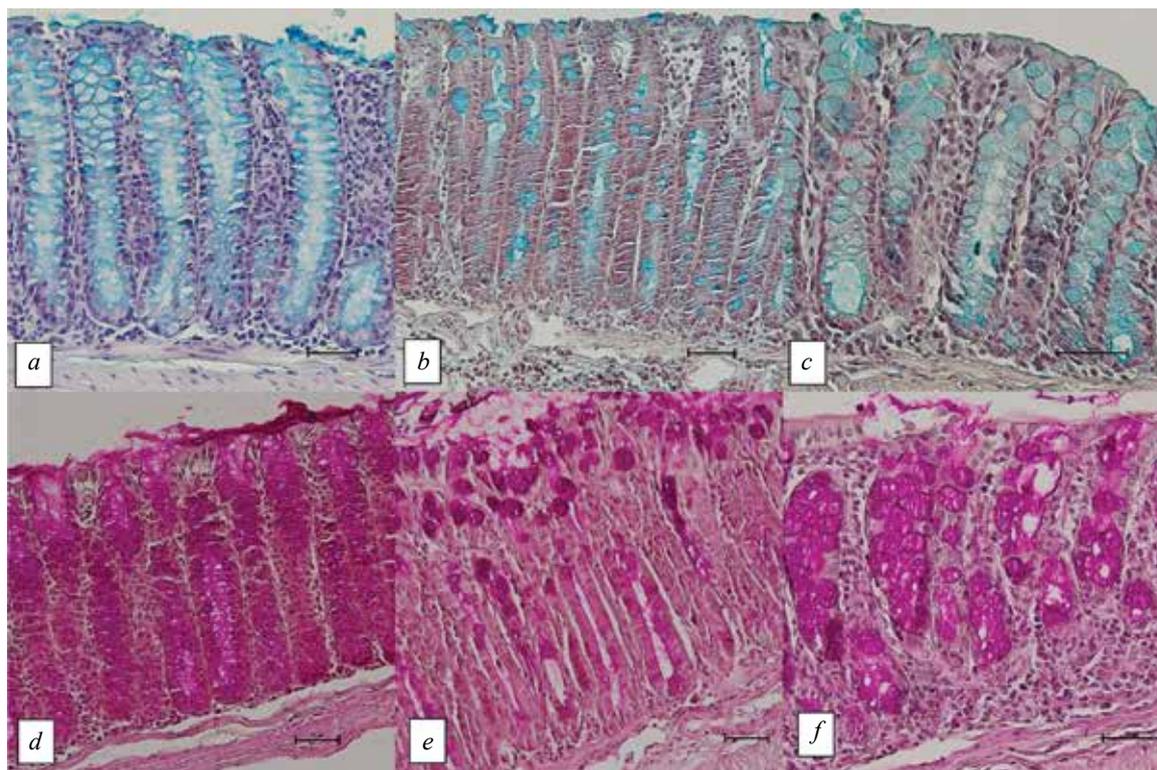


Рисунок. Бокаловидные клетки ободочной кишки самцов мышей линии Balb/C: *a-c* – окраска гематоксилином и эозином + альциановым синим, *d-f* – окраска гематоксилином и эозином + ШИК-реакция. *a, d* – контрольная группа, *b, e* – модель острого ЯК, *c, f* – модель хронического ЯК. Бар – 50 μm

Влияние даларгина и сульфасалазина на количество бокаловидных клеток в криптах, содержание высокосульфатированных кислых и нейтральных муцинов в толстом кишечнике мышей с экспериментальным язвенным колитом, $Me [Q_1; Q_3]$					
№ п/п	Экспериментальная группа	Срок эксперимента, сут	Количество бокаловидных клеток, n	Ig10 содержания нейтральных муцинов	Ig10 содержания высокосульфатированных кислых муцинов
Интактные животные			20,8 [20,7; 20,9]	1,02 [1,00; 1,09]	1,20 [1,12; 1,35]
2	Контрольная группа № 1 (модель ЯК + физиологический раствор натрия хлорида подкожно)	5	14,0 [13,9; 14,1] ^x $p = 0,0024$	0,65 [0,65; 0,66] ^x $p = 0,0024$	0,32 [0,27; 0,43] ^x $p = 0,0024$
		7	10,9 [10,7; 11,0] ^x $p = 0,0024$	0,63 [0,63; 0,64] ^x $p = 0,0024$	0,31 [0,28; 0,44] ^x $p = 0,0024$
		28	17,6 [17,3; 17,9] ^x $p = 0,0024$	0,72 [0,72; 0,73] ^x $p = 0,0024$	0,68 [0,58; 0,80] ^x $p = 0,0024$
3	Контрольная группа № 2 (модель ЯК + физиологический раствор натрия хлорида в желудок)	5	13,9 [13,7; 14,3] ^x $p = 0,0024$	0,65 [0,64; 0,66] ^x $p = 0,0024$	0,35 [0,29; 0,43] ^x $p = 0,0024$; $p = 0,0023$
		7	11,0 [10,8; 11,2] ^x $p = 0,0024$	0,64 [0,63; 0,64] ^x $p = 0,0024$	0,33 [0,28; 0,37] ^x $p = 0,0024$
		28	17,5 [17,4; 17,7] ^x $p = 0,0024$	0,74 [0,74; 0,75] ^x $p = 0,0024$	0,69 [0,54; 0,84] ^x $p = 0,0024$
4	Модель ЯК + даларгин в дозе 100 мкг/кг подкожно	5	14,5 [14,3; 14,6] [*] $p = 0,0011$; ¹ $p = 0,3720$	0,69 [0,68; 0,70] [*] $p = 0,0136$; ¹ $p = 0,2076$;	0,48 [0,38; 0,56] [*] $p = 0,0239$; ¹ $p = 1,00$
		7	13,0 [12,9; 13,2] ^{*1} $p = 0,0009$; ¹ $p = 0,0009$	0,68 [0,66; 0,71] ^{*1} $p = 0,0019$; ¹ $p = 0,0019$	0,48 [0,44; 0,60] [*] $p = 0,0136$; ¹ $p = 0,5635$
		28	18,0 [17,7; 18,6] $p = 0,0587$; ¹ $p = 0,7527$	0,78 [0,76; 0,80] ¹ $p = 0,0520$; ¹ $p = 0,0023$;	0,75 [0,68; 0,84] $p = 0,3184$; ¹ $p = 0,1722$
5	Модель ЯК + сульфасалазин в дозе 200 мкг/кг в желудок	5	14,3 [14,1; 14,5] [*] $p = 0,0011$	0,67 [0,66; 0,70] [*] $p = 0,0101$;	0,45 [0,38; 0,55] $p = 0,0831$
		7	12,1 [11,9; 12,3] [*] $p = 0,0009$	0,63 [0,62; 0,64] $p = 0,4623$	0,45 [0,39; 0,59] [*] $p = 0,0209$
		28	18,0 [17,7; 18,1] $p = 0,0587$	0,75 [0,74; 0,76] [*] $p = 0,0136$	0,65 [0,63; 0,75] $p = 0,8337$

$p < 0,05$ по сравнению с показателями: ^x – интактной группы; ^{*} – контрольной группы; ¹ – животных, получавших сульфасалазин.

При введении сульфасалазина в дозе 200 мг/кг мышам с экспериментальным язвенным колитом количество БК увеличивалось на 5-е сут на 2,9% ($p = 0,0011$), на 7-е сут – на 10,0% ($p = 0,0009$) по сравнению с числом этих клеток у животных контрольной группы № 2. Содержание ВКМ в течение всего эксперимента не изменялось, содержание НМ возрастало на 5-е сут на 3,1% ($p = 0,0101$), на 28-е сут – на 3,1% ($p = 0,0136$) по сравнению содержанием в контрольной группе № 2.

Даларгин на 7-е сут после моделирования ЯК повышал количество БК на 7,4% ($p = 0,0009$) по сравнению с показателем при введении сульфасалазина. Содержание НМ увеличивалось на 7-е сут на 7,9% ($p = 0,0019$, на 28-е сут на 8,3% $p = 0,0023$) только в эксперименте с введением даларгина.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования подтверждают данные литературы о снижении количества БК, содержания ВКМ и НМ в криптах толстого кишечника как у пациентов с ЯК [12], так и у мышей с экспериментальным ЯК [11]. В работе показано снижение числа БК преимущественно в основании крипт. Известно, что БК,

расположенные в основании крипт, у здоровых людей продуцируют антимикробный пептид WFDC2, у пациентов с ЯК его секреция нарушается [12]. Этот пептид ингибирует сериновые и цистеиновые протеазы, поэтому предупреждает преждевременное превращение внутреннего слоя слизи толстого кишечника в ее внешний слой. Внешний слой проницаем для бактерий, поступающих из просвета кишечника, и служит средой для развития комменсальной микрофлоры, внутренний слой непроницаем для бактерий и обеспечивает поддержание гомеостаза стенки толстого кишечника [13]. Разрушение внутреннего слоя под влиянием протеаз способствует проникновению бактерий в стенку толстого кишечника с развитием иммунного воспаления при ЯК [4].

Высокосульфатированные кислые муцины и другие кислые муцины эффективнее, чем НМ предупреждают разрушение защитного барьера слизистой толстого кишечника протеазами [13]. Содержание НМ повышено в слизистой толстого кишечника мышей с моделью ЯК [11]. В нашем исследовании количество НМ снижалось на протяжении всего эксперимента. Разнонаправленные изменения содержания НМ обусловлены формированием модели ЯК разной

степени тяжести у мышей различных линий. Содержание муцинов возрастает в слизистой толстой кишки при переходе острого ЯК в хронический.

Даларгин у мышей с моделью ЯК эффективнее сульфасалазина оказывает протективное влияние: увеличивает количество БК, содержание ВКМ и НМ. Даларгин как аналог лей-энкефалина активирует опиоидные δ - и μ -рецепторы [6]. Механизм терапевтического действия даларгина при воспалении толстого кишечника объясняется, по-видимому, активацией опиоидных μ -рецепторов, так как их активация селективным лигандом DAMGO (Н-Тур-D-Ala-Gly-N-MePhe-Gly-ol) оказывает протективное действие на развитие вызванного ДСН (декстраном сульфатом натрия) колита у мышей [14]. Даларгин, по-видимому, как и DAMGO, ослабляет тяжесть течения болезни, уменьшает активность миелопероксидазы, концентрацию провоспалительных цитокинов и простагландинов, ядерного фактора κB , усиливает продукцию антиапоптотического фактора Bcl-x1 [10]. Авторы связывают такое действие с активацией периферических μ -рецепторов, поскольку DAMGO не способен проникать через гематоэнцефалический барьер, а антагонист периферических μ -рецепторов СТАР (D-Phe-Cys-Тур-D-Trp-Arg-Pen-Thr-NH₂) устраняет его эффект [10].

Даларгин проявляет антиоксидантное и иммуномодулирующее действие [6]. Он тормозит активность мононуклеаров при их патологической активации [15] и, таким образом, снижает выраженность иммунного воспаления. Подавление перекисного окисления липидов не только ослабляет альтеративные изменения в очаге воспаления, но и предупреждает рост проницаемости кишечного барьера и пентрацию патогенных микробов в толщу кишечника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено протективное влияние даларгина на развитие экспериментального ЯК у мышей линии Balb/C: увеличение количества БК и содержания ВКМ и НМ в слизистой оболочке толстого кишечника. Эффект даларгина выражен больше, чем у сульфасалазина. Полученные данные позволяют рассматривать даларгин как компонент эффективной комбинации препаратов в терапии ЯК.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Gustafsson J.K., Johansson M.E.V. The role of goblet cells and mucus in intestinal homeostasis. *National Review of Gastroenterology and Hepatology*. 2022;19(12):785–803. DOI: 10.1038/s41575-022-00675-x.
- Ma J., Rubin B.K., Voynow J.A. Mucins, mucus and goblet cells. *Chest*. 2018;154(1):169–176. DOI: 10.1016/j.chest.2017.11.008.
- Давыдова Е.В., Осиков М.В., Кайгородцева Н.В. Влияние локальной озонотерапии на маркеры активности воспалительного процесса при экспериментальном язвенном колите. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(1):47–53. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-1-47-53.
- Ordás I., Eckmann L., Talamini M., Baumgart D.C., Sandborn W.J. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2012;380(9853):1606–1619. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0.
- Du L., Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2020;49(4):643–654. DOI: 10.1016/j.gtc.2020.07.005.
- Булгаков С.А. Пептидные лекарства в панкреатологии: состояние проблемы и перспективы. *Доказательная гастроэнтерология*. 2018;7(4):30–34. DOI: 10.17116/dokgastro2018704130.
- Хомякова Т.И., Золотова Н.А., Хочанский Д.Н., Хомяков Ю.Н. Моделирование острого и хронического колита у мышей. *Лечение и профилактика*. 2013;7(3):148–159.
- Мотов В.С., Быкова А.В., Быков В.В., Хазанов В.А., Венгерковский А.И. Протективное действие производного аминоксидина на модели язвенного колита у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(5):6–10. DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-5-6-10.
- Bankhead P., Loughrey B., Fernandez J.A., Dombrowski Y., McArt D.G., Dunne P.D. et al. QuPath: open source software for digital pathology image analysis. *Science Reports*. 2017;7(1):16878. DOI: 10.1038/s41598-017-17204-5.
- Ruifrok A.C., Johnston D.A. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Analytic and Quantitative Cytology and Histology*. 2001;23(4):291–299.
- Золотова Н.А., Хочанский Д.Н., Поликарпова А.В., Добрынина М.Т., Макарова О.В. Цитофизиологическая характеристика эпителиальных секреторных клеток разных отделов ободочной кишки при экспериментальном язвенном колите. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2016;5(2):29–37.
- Parikh K., Antanaviciute A., Fawcner-Corbett D., Jagielowicz M., Aulicino A., Lagerholm C. et al. Colonic epithelial diversity in health and inflammatory bowel disease. *Nature*. 2019;7749(567):49–55. DOI: 10.1038/s41586-019-0992-y.
- Pelaseyed T., Bergstrom J.H., Gustafsson J.K., Ermund A., Birchenough G.M.H., Schutte A. et al. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunological Reviews*. 2014;260(1):8–20. DOI: 10.1111/imr.12182.
- Anselmi L., Huynh J., Duraffourd C., Jaramillo I., Vegezzi G., Saccani F. et al. Activation of μ opioid receptors modulates inflammation in acute experimental colitis. *Neurogastroenterology and Motility*. 2015;27(4):509–523. DOI: 10.1111/nmo.12521.
- Платонова В.В., Севбитов А.В., Шакарьянц А.А., Дорофеев А.Е. Экспериментально-клиническое обоснование лечения больных одонтогенными флегмонами челюстно-лицевой области с использованием в комплексной терапии препарата даларгин. *Клиническая и лабораторная диагностика*. 2018;63(5):293–296. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-5-293-296.

Информация об авторах

Ляшев Андрей Юрьевич – мл. науч. сотрудник, лаборатория доклинических исследований лекарственных средств, НИИ экспериментальной медицины, КГМУ, г. Курск, andr.liashev@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7170-0416>

Маль Галина Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии, КГМУ, г. Курск, malgs@kursksmu.net, <http://orcid.org/0000-0003-2723-781X>

Солин Алексей Владимирович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры анатомии и гистологии, НИУ БелГУ, г. Белгород, medps@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6277-3506>

(✉) **Ляшев Андрей Юрьевич**, andr.liashev@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.07.2023;
одобрена после рецензирования 14.09.2023;
принята к публикации 25.01.2024

УДК 616.127-005.8:085.222.27:661.834:57.085.14

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-66-73>

Кардиопротекторный эффект аскорбата лития на модели инфаркта миокарда *in vivo*

Плотников Е.В.^{1,2,3}, Чернов В.И.^{1,4}, Мухомедзянов А.В.⁵, Маслов Л.Н.⁵, Юсубов М.С.¹, Ларькина М.С.^{1,2}, Артамонов А.А.⁶, Белоусов М.В.^{1,2}

¹ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

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

³ Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634021, г. Томск, ул. Алеутская, 4

⁴ Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

⁵ Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012 г. Томск, ул. Киевская, 111а

⁶ Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (ИМБП РАН)
Россия, 123007, г. Москва, Хорошёвское шоссе, 76А

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение кардиопротекторного действия аскорбата лития на модели инфаркта миокарда *in vivo*. В ходе исследований проводился поиск соединений, перспективных для терапии острого инфаркта миокарда.

Материалы и методы. Моделирование инфаркта миокарда проводили на крысах линии Вистар массой 250–300 г путем наложения лигатуры на левую коронарную артерию (продолжительность ишемии 45 мин) с последующим ослаблением лигатуры и реперфузией продолжительностью 120 мин. Все манипуляции выполнялись под хлоралозным наркозом с искусственной вентиляцией легких и регистрацией частоты сердечных сокращений, артериального давления и электрокардиограммы. Аскорбат лития вводили в дозе 100 мг/мл перед ишемией внутривенно. Определяли зону риска (ЗР) – зону ишемии/реперфузии, для чего миокард с затянутой лигатурой окрашивали 5%-м перманганатом калия, после чего делали последовательные срезы миокарда и определяли зону инфаркта. Дифференцировку зоны некроза миокарда от ЗР осуществляли путем окрашивания 1%-м раствором 2,3,5-трифенил тетразолия хлорида в течение 30 мин при 37 °С. Размер зоны инфаркта и зоны риска определяли планиметрическим методом. Концентрацию маркера повреждения миокарда креатинфосфокиназы-МВ (КФК-МВ) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом.

Результаты. Аскорбат лития статистически значимо уменьшал отношение зоны инфаркта к ЗР на 38% и снижал уровень КФК-МВ в сыворотке крови экспериментальных животных на 42% по сравнению с группой контроля. Аскорбат лития не повлиял на параметры гемодинамики на всех этапах развития коронаро-окклюзии и реперфузии.

Заключение. Установлено кардиопротекторное действие аскорбата лития при ишемии/реперфузии сердца *in vivo*.

✉ Ляшев Андрей Юрьевич, andr.liashev@yandex.ru

Ключевые слова: инфаркт миокарда, соли лития, ишемия, реперфузия, аритмии

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

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке программы «Приоритет 2030».

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 207 от 23.12.2020).

Для цитирования: Плотников Е.В., Чернов В.И., Мухомедзянов А.В., Маслов Л.Н., Юсубов М.С., Ларкина М.С., Артамонов А.А., Белоусов М.В. Кардиопротекторный эффект аскорбата лития на модели инфаркта миокарда *in vivo*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):66–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-66-73>.

Cardioprotective effect of lithium ascorbate in an *in vivo* model of myocardial infarction

Plotnikov E.V.^{1,2,3}, Chernov V.I.^{1,4}, Mukhomedzyanov A.V.⁵, Maslov L.N.⁵, Yusubov M.S.¹, Larkina M.S.^{1,2}, Artamonov A.A.⁶, Belousov M.V.^{1,2}

¹ National Research Tomsk Polytechnic University
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

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

³ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС) of the Russian Academy of Sciences
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634021, Russian Federation

⁴ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС) of the Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

⁵ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС) of the Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

⁶ Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences
76a, Khoroshevskoe Highway, Moscow, 123007, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the work was to study the cardioprotective effect of lithium ascorbate in an *in vivo* model of myocardial infarction. In the course of the study, we searched for compounds promising for therapy of acute myocardial infarction.

Materials and methods. Myocardial infarction was modeled in Wistar rats by ligating the left coronary artery (the duration of ischemia was 45 minutes) followed by ligature loosening and 120-minute reperfusion. All manipulations were performed under alpha-chloralose anesthesia with mechanical lung ventilation and recording heart rate, blood pressure, and ECG. Lithium ascorbate was administered intravenously at a dose of 100 mg / ml before ischemia. The area at risk (the ischemia / reperfusion zone) was detected by staining the myocardium with tightened ligature with 5% potassium permanganate. After that consecutive myocardial slices were prepared, and infarct size was determined. Differentiation of the infarct size from the area at risk was performed by staining with 1% 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride solution for 30 minutes at 37 °C. The infarct size and the area at risk were determined by the planimetric method. The serum concentration of myocardial damage marker creatine kinase-MB (CK-MB) was measured using ELISA kits.

Results. Lithium ascorbate reduced the infarct size / area at risk ratio by 38% and decreased the serum CPK-MB level in the experimental animals by 42% compared to the control group. Lithium ascorbate did not affect hemodynamics parameters during coronary artery occlusion and reperfusion.

Conclusion. The cardioprotective effect of lithium ascorbate in cardiac ischemia / reperfusion *in vivo* was found.

Keywords: myocardial infarction, lithium salts, ischemia, reperfusion, arrhythmias

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 Priority 2030 program.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee at Cardiology Research Institute of Tomsk NRMС (Protocol No. 207 of 23.12.2020).

For citation: Plotnikov E.V., Chernov V.I., Mukhomedyanov A.V., Maslov L.N., Yusubov M.S., Larkina M.S., Artamonov A.A.6, Belousov M.V. Cardioprotective effect of lithium ascorbate in an in vivo model of myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):66–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-66-73>.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности, и, несмотря на развитие эффективных мер неотложной помощи и первичной профилактики, их распространенность остается высокой во всем мире [1]. В России только от инфаркта миокарда умирает более 50 тыс. человек в год, что составляет более 2,5% смертности от всех причин [2]. В структуре ССЗ инфаркт миокарда остается наиболее распространенным острым состоянием с высокой летальностью. Этот факт указывает на целесообразность разработки новых более эффективных кардиопротекторных препаратов.

В настоящее время в комплексной терапии инфаркта миокарда основным подходом является быстрая реперфузия миокарда (хирургическая или фармакологическая), т.е. восстановление кровоснабжения ишемизированной ткани сердца. Сопутствующим подходом является кардиопротекция, которая включает фармакологическую защиту клеток миокарда в условиях ишемии и реперфузии сердца. В широком смысле кардиопротекция включает в себя все препараты и средства, способные сохранить насосную функцию сердца, уменьшить размер инфаркта и предотвратить появление жизнеугрожающих аритмий путем уменьшения или предотвращения повреждения миокарда.

К подобным препаратам относятся соединения из разных фармакологических групп, включая, например бета-блокаторы, которые имеют длительную историю применения и доказанную в клиниках кардиопротекторную активность. В ряде работ доказан кардиопротекторный эффект агонистов опиоидных рецепторов [3, 4]. Однако многие препараты не подтвердили своей эффективности в клинических исследованиях [5]. Поиск новых кардиопротекторных средств продолжается ввиду высокой актуальности и востребованности данного направления.

В то же время некоторые соединения остаются в стороне от широкого применения в кардиологии, несмотря на значительный кардиопротекторный потенциал. К этой группе можно отнести соли лития. Ранее было показано, что хлорид лития обладает нейропротекторным действием и позволяет уменьшить повреждение нейрональной ткани в зоне ишемического инсульта мозга [6–8]. Отметим, что соли лития широко используются в психиатрии для лечения аффективных расстройств в качестве нормотимиков, поэтому фармакокинетика и токсикология лития хорошо известна из клинической практики. Однако потенциал этих препаратов не ограничивается лечением психических патологий. В частности, доказано защитное действие лития при ишемических состояниях. В связи с этим сердечно-сосудистые заболевания являются наиболее перспективным объектом для литиевой терапии. Развитие этого направления требует изучения механизмов действия и поиска новых вариантов применения солей лития.

Накопленные к настоящему времени опубликованные данные позволяют заключить, что противоишемическое действие лития может проявляться не только по отношению к головному мозгу, но и по отношению к другим органам [9]. Важно отметить, что, несмотря на почти вековую историю применения лития в медицине, механизм действия солей лития при инфаркте миокарда не был изучен. Ранее было доказано, что литий обладает кардиопротекторным действием на изолированном миокарде [10]. В большинстве работ рассматриваются неорганические соли лития, в первую очередь хлорид и карбонат. Расширение терапевтического потенциала солей лития может реализовываться путем подбора анионного компонента с антиоксидантной активностью, что повышает антиоксидантные свойства соли и усиливает цитопротекторные свойства при окислительном стрессе.

Целью данной работы – изучение кардиопротекторного действия аскорбата лития при экспериментальном инфаркте миокарда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

В качестве тестируемого препарата применялся аскорбат лития, полученный для выполнения данных экспериментов *ex tempore* путем реакции между аскорбиновой кислотой и карбонатом лития (реагенты ACS, Sigma-Aldrich, США) по описанной методике [11]. Полученный белый порошок был проверен на подлинность с помощью инфракрасной (ИК) спектроскопии и элементного анализа. Аскорбат лития растворяли в физиологическом растворе и использовали в эксперименте путем внутривенного введения.

В качестве экспериментальных животных использовались крысы линии Вистар массой 250–300 г. Содержание животных проводилось в стандартных условиях, с естественным режимом дня и ночи и неограниченным доступом к пище и воде. Перед выполнением экспериментальных процедур животных случайным образом распределили на две группы по восемь крыс в каждой (контрольная и опытная группа). В опытной группе препарат вводили за 10 мин до ишемии в бедренную вену в концентрации 100 мг/мл в 1 мл физиологического раствора. Контрольной группе животных за 10 мин перед ишемией вводили аналогичный объем физиологического раствора в бедренную вену.

Для выполнения операции моделирования инфаркта миокарда использовалась α -хлоралоза (Sigma) в форме внутрибрюшной инъекции 60 мг/кг. Далее животных подключали к системе для искусственной вентиляции легких SAR-830 Series (CWE Inc., США). Измерение частоты сердечных сокращений (ЧСС) и артериального давления (АД) проводили посредством датчика давления SS13L (BIOPAC Systems Inc., Goleta, США). Датчик подключался к аппарату для электрофизиологических исследований MP35 (BIOPAC Systems Inc., Goleta, США). Электрокардиографический мониторинг также выполнялся на данном приборе, фиксация электрокардиограммы (ЭКГ) проводилась автоматически в течение всего эксперимента. Непосредственно оперативное вмешательство на сердце проводили по методу J.E. Schultz и соавт. [12].

Выполнялось лигирование левой коронарной артерии, что позволяло получить ишемию в ее бассейне. После 45 мин ишемии лигатуру снимали и восстановление кровотока подтверждали появлением эпикардиальной гиперемии. Период реперфузии продолжался 120 мин. Выявление зоны некроза и зоны риска миокарда проводили по методу, указанному в работе J. Neckar и соавт. [13]. Для этого после завершения периода реперфузии сердце извлекали и промывали ретроградно. Промывку выполняли физраствором через аорту.

Зону риска, т.е. область миокарда, подвергнутую ишемии-реперфузии, выявляли следующим образом. Лигатуру, наложенную для ишемии, вновь перевязывали, и ткань сердечной мышцы окрашивали через аорту 5%-м раствором перманганата калия. После промывки сердца соевым раствором его замораживали и нарезали перпендикулярно продольной оси срезами толщиной 1 мм с помощью прецизионного слайсера HSRA001-1 (Zivic Instruments, Pittsburgh, США) по стандартной гистологической методике.

Визуальную дифференцировку зоны некроза от зоны риска выполняли посредством обработки 1%-м раствором 2,3,5-трифенил тетразолия хлорида в течение 30 мин в термостате при 37 °С. В ходе данного процесса 2,3,5-трифенил тетразолий хлорид переходил из окисленного состояния в восстановленное под действием дегидрогеназ, что проявлялось в появлении стойкого окрашивания. В зоне некроза сердечной мышцы отсутствовали дегидрогеназы и, соответственно, эта зона не окрашивалась. В завершение обработки все срезы фиксировали (10%-й формалин, 24 ч). Полученные таким образом образцы тканей миокарда сканировали с разных сторон сканером HP Scanjet G4050. Размер зоны риска (ЗР) и зоны инфаркта (ЗИ) определяли планиметрическим методом. Размер ЗИ выражали в процентах от размера зоны гипоперфузии (ЗР) как соотношение ЗИ и ЗР. Определение активности КФК-МВ осуществляли с помощью ELISA-наборов (Cloud-CloneCorp, Wuhan, Китай), определение КФК-МВ в сыворотке крови – микропланшетного ридера Infinite 200 PRO (TecanGmbH, Австрия).

Статистический анализ данных проводился с использованием специализированного программного обеспечения GraphPadPrism 9 (Graph Pad Software, CA, США) и MS Excel (Microsoft, США). Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm m$). Статистическую значимость отличий выявляли с использованием критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка динамики ЧСС на различных этапах моделирования инфаркта при воздействии лития представлена на рис. 1. Оценка динамики артериального давления на различных этапах моделирова-

ния инфаркта при воздействии лития представлена на рис. 2. Результаты оценки параметров кардиопротекторного действия лития на модели инфаркта миокарда представлены в табл. 1, 2. Оценка нарушений ритма сердца в ходе ишемии/реперфузии показана в табл. 3.

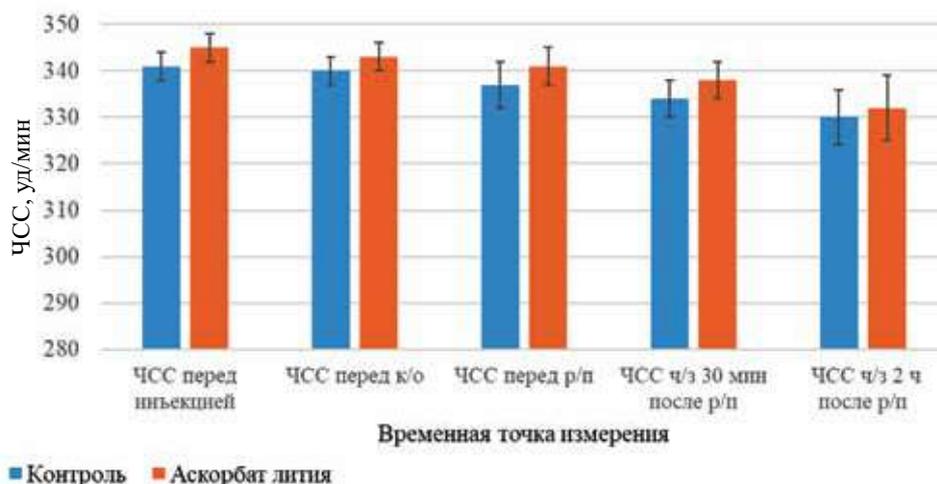


Рис. 1. Оценка частоты сердечных сокращений у животных в различных экспериментальных временных точках, уд/мин: к/о – коронароокклюзия (45 мин); р/п – реперфузия (120 мин)

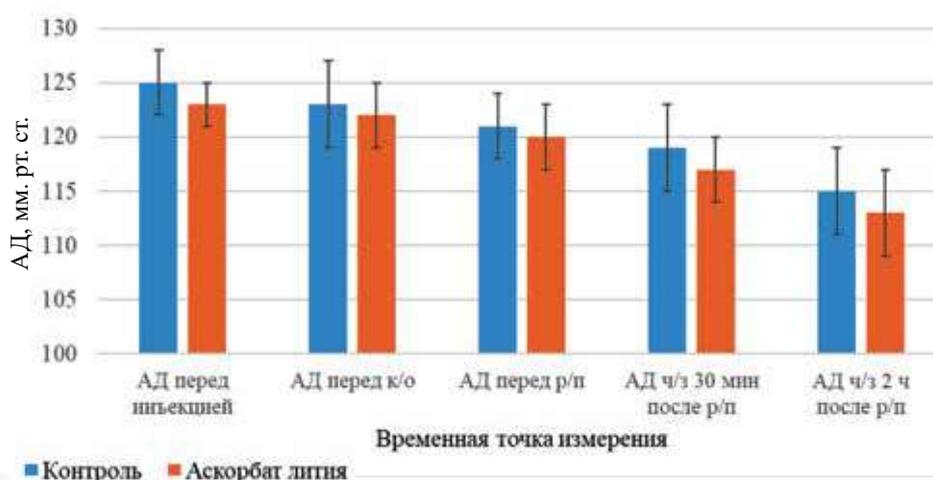


Рис. 2. Оценка артериального давления у животных в различных экспериментальных временных точках, мм рт. ст.: к/о – коронароокклюзия (45 мин); р/п – реперфузия (120 мин)

Таблица 1

Расчетные размеры и параметры зон инфаркта миокарда (ишемия 45 мин, реперфузия 120 мин) у экспериментальных животных, $M \pm m$					
Группа	Зона некроза, мг	Зона риска, мг	ЗН / ЗР, %	Масса правого желудочка, мг	Масса левого желудочка, мг
Контроль, $n = 8$	271 ± 52	561 ± 101	48 ± 3	187 ± 12	988 ± 11
Аскорбат лития, $n = 8$	$119 \pm 32^*$	394 ± 95	$30 \pm 2^*$	181 ± 10	± 11

* статистически значимое отличие от группы контроля, $p < 0,05$ (здесь и в табл. 2)

Таблица 2

Концентрация креатинфосфокиназы-МВ в сыворотке крови крыс с модельным инфарктом миокарда (коронароокклюзия 45 мин, реперфузия 120 мин), $M \pm m$	
Группа	Концентрация КФК-МВ в сыворотке крови, Ед/л
Контроль, $n = 8$	$104,3 \pm 13,2$
Аскорбат лития, $n = 8$	$60,5 \pm 10,4^*$

Таблица 3

Частота и виды аритмий у крыс с модельным инфарктом миокарда на этапе ишемии (коронароокклюзия 45 мин), %				
Группа	Ишемия (45 мин)			
	Без аритмий	Множественные желудочковые экстрасистолы	Желудочковая тахикардия	Желудочковая фибрилляция
Контроль, $n = 8$	0	100	87,5	25
Аскорбат лития, $n = 8$	12,5	87,5	62,5	12,5

Примечание. Данные показаны в % от соответствующей группы животных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальный препарат вводили животным опытной группы внутривенно (в/в) дозе 100 мг/мл в физрастворе в объеме 1 мл за 10 мин до начала ишемии. Группа контроля получала в/в физраствор в таком же объеме, при этом сразу после введения не отмечено значимого изменения гемодинамики (см. рис. 1, 2). Аскорбат лития не повлиял на частоту сердечных сокращений (см. рис. 1) и значение артериального давления (см. рис. 2) на всех этапах развития ишемического процесса. В ходе развития ишемического процесса отмечался небольшой тренд на снижение АД и ЧСС. Однако даже на финальном этапе реперфузии эти параметры значимо не отличались от исходных параметров животных.

Оценка ишемических повреждений миокарда при воздействии аскорбата лития показало уменьшение гибели кардиомиоцитов, что выражалось в статистически значимом снижении соотношения зоны инфаркта и зоны риска на 38% по сравнению с контролем (см. табл. 1). Уменьшение этого параметра отражает большую сохранность миокарда в зоне риска и пропорциональное снижение зоны ишемического повреждения ткани сердца при воздействии лития. Значительное снижение повреждения миокарда подтверждается биохимическим анализом уровня КФК-МВ в сыворотке крови экспериментальных животных (см. табл. 2). Установлено снижение

уровня КФК-МВ при инфаркте миокарда (кровь для исследования забирали на завершающем этапе после периодов коронароокклюзии и реперфузии) на фоне воздействия лития на 42% в сравнении с контрольной группой.

Таким образом можно заключить, что введение препарата лития перед ишемией сопровождалось выраженным кардиопротекторным действием, проявляющимся в уменьшении размера зоны инфаркта и снижении в сыворотке крови концентрации маркера повреждения клеток миокарда КФК-МВ. При этом введение аскорбата лития не сопровождалось ухудшением состояния гемодинамики на этапах коронароокклюзии и реперфузии у экспериментальных животных. В ходе всех манипуляций проводился мониторинг состояния ритма сердца, что является важным параметром в оценке эффективности действия кардиопротектора. В этом контексте важно отметить, что в клинической практике жизнеугрожающие желудочковые аритмии являются тяжелым осложнением, обычно сопровождаемым снижением сократительной способности миокарда [14]. Развитие подобных аритмий ухудшает прогноз состояния больных с инфарктом миокарда и часто приводит к летальному исходу [15].

В данной работе у исследованных животных в контрольной группе были установлены различные нарушения ритма, в том числе множественные желудочковые экстрасистолы, желудочковая тахикардия и желудочковая фибрилляция (см. табл. 3). Выявленные аритмии в целом имели обратимый характер и сменялись восстановлением синусного ритма, а в некоторых случаях переходом к другому нарушению сердечного ритма, поэтому у одного животного могло быть несколько типов аритмий. После 45-минутной ишемии нарушений ритма во всех экспериментальных группах не возникало, поэтому оценка антиаритмического эффекта производилась только в период ишемии. В группе введения аскорбата лития наблюдалось снижение количества нарушений ритма всех видов, включая наиболее опасную по прогнозу желудочковую фибрилляцию, но статистически значимых отличий от контроля в данном эксперименте не выявлено (см. табл. 3).

Представленные результаты сопоставимы с литературными данными, полученными на изолированных органах [16]. Для объяснения кардиопротекторного действия лития рассматривается несколько наиболее вероятных механизмов действия лития при ишемии, в том числе конкурентный антагонизм к основным биологическим ионам (Na, K), индукция синтеза оксида азота, влияние на протеинкиназы и связанные с ними метаболические пути. Известно

участие этих путей в реализации кардиопротекторного действия опиоидов [17]. Ранее показано, что воздействие на АТФ-зависимые калиевые каналы (K_{ATP} -каналы) играет существенную роль в кардиопротекции, реализации патологического процесса при инфаркте миокарда [18]. Являясь мишенью воздействия лития, эти каналы представляют собой белковые структуры, активность которых регулируется внутриклеточными нуклеотидами. Они действуют главным образом в мышцах и нейронах, где в условиях нехватки энергии в виде аденозин-трифосфорной кислоты они могут снизить возбудимость клетки, что в конечном итоге способствует ее выживанию в стрессовых условиях. Важно отметить, что литий может оказывать множественное действие на ряд мишеней одновременно в различных тканях [9]. Полученные результаты подразумевают дальнейшее изучение механизмов реализации кардиопротекторного действия солей лития.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования позволили выявить инфаркт-лимитирующий эффект аскорбата лития при отсутствии значимого влияния на гемодинамику. Показано уменьшение зоны некроза миокарда на 38% и снижение маркера повреждения клеток миокарда КФК-МВ в сыворотке крови на 42% в сравнении с группой контроля.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Mensah G., Fuster V., Murray C., Roth A.G. Global burden of cardiovascular diseases and risks, 1990-2022. *Journal of the American College of Cardiology*. 2023;82(25):2350–2473. DOI: 10.1016/j.jacc.2023.11.007.
- Здравоохранение в России, 2023: статистический сборник; под ред. С.М. Окладникова. М., 2023:179.
- Gross E., Hsu A., Gross G. Opioid-induced cardioprotection occurs via glycogen synthase kinase beta inhibition during reperfusion in intact rat hearts. *Circulation Research*. 2004;94(7):960–966. DOI: 10.1161/01.RES.0000122392.33172.09.
- Maslov L.N., Khaliulin I., Oeltgen P.R., Naryzhnaya N.V., Pei J.M., Brown S.A. et al. Prospects for creation of cardioprotective and antiarrhythmic drugs based on opioid receptor agonists. *Medicinal Research Review*. 2016;36(5):871–923. DOI: 10.1002/med.21395.
- Miura T., Miki T. Limitation of myocardial infarct size in the clinical setting: current status and challenges in translating animal experiments into clinical therapy. *Basic Research in Cardiology*. 2008;103(6):501–513. DOI: 10.1007/s00395-008-0743-y.
- Xu J., Culman J., Blume A., Brecht S., Gohlke P. Chronic treatment with a low dose of lithium protects the brain against ischemic injury by reducing apoptotic death. *Stroke*. 2003;34(5):1287–1292. DOI: 10.1161/01.STR.0000066308.25088.64.
- Leeds P.R., Yu F., Wang Z., Chiu C.T., Zhang Y., Leng Y. et al. A new avenue for lithium: intervention in traumatic brain injury. *ACS Chemical Neuroscience*. 2014;5(6):422–433. DOI: 10.1021/cn500040g.
- Плотников Е.В., Литвак М.М. Применение аскорбата лития в качестве церебропротекторного средства на модели ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуск «Инсульт»*. 2020;3(2):29–32. DOI: 10.17116/jnevro202012003229.
- Haupt M., Bähr M., Doeppner T.R. Lithium beyond psychiatric indications: the reincarnation of a new old drug. *Neural Regeneration Research*. 2021;16(12):2383–2387. DOI: 10.4103/1673-5374.313015.
- Faghihi M., Mirshadi F., Dehpour A. R., Bazargan M. Preconditioning with acute and chronic lithium administration reduces ischemia/reperfusion injury mediated by cyclooxygenase not nitric oxide synthase pathway in isolated rat heart. *European Journal of Pharmacology*. 2008;597(1-3):57–63. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.08.010.
- Tretyakova M.S., Drozd A.G., Belousov M.V., Brazovskiy K.S., Larkina M.S., Krivoshechekov S.V. et al. Study of the radiosensitizing action of lithium ascorbate under neutron and photon irradiation of tumor cells. *Drug Development & Registration*. 2023;12(2):185–189. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-185-189.
- Schultz J.E., Yao Z., Cavero I., Gross G.J. Glibenclamide induced blockade of ischemic preconditioning is time dependent in intact rat heart. *American Journal of Physiology*. 1997;272(2):2607–2615. DOI: 10.1152/ajpheart.1997.272.6.H2607.
- Neckár J., Szárszoi O., Herget J., Ostádal B., Kolár F. Cardioprotective effect of chronic hypoxia is blunted by concomitant hypercapnia. *Physiological Research*. 2003;52(2):171–175.
- Frampton J., Ortengren A.R., Zeitler E.P. Arrhythmias after acute myocardial infarction. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2023;96(1):83–94. DOI: 10.59249/LSWK8578.
- Sharma R., Chowdhary I., Sharma A. Arrhythmia and its risk factors post myocardial infarction: A prospective study. *Journal of Acute Disease*. 2022;11(1):26–31. DOI: 10.4103/2221-6189.336578.
- Linakis J.G., Savitt D.L., Schuyler J.E., Simon P.M., Raymond R.M. Lithium has no direct effect on cardiac function in the isolated, perfused rat heart. *Pharmacology & Toxicology*. 2000;87(1):39–45. DOI: 10.1111/j.0901-9928.2000.870107.x.
- Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Oeltgen P.R., Barzakh E.I., Krylatov A.V., Govindaswami M. et al. Activation of peripheral $\delta 2$ opioid receptors increases cardiac tolerance to ischemia/reperfusion injury: Involvement of protein kinase C, NO-synthase, KATP channels and the autonomic nervous system. *Life Sciences*. 2009;84(19-20):657–663. DOI: 10.1016/j.lfs.2009.02.016.
- Nichols C.G. Adenosine triphosphate-sensitive potassium currents in heart disease and cardioprotection. *Cardiac Electrophysiology Clinics*. 2016;8(2):323–335. DOI: 10.1016/j.ccep.2016.01.005.

Вклад авторов

Плотников Е.В. – разработка концепции проекта, выполнение исследований, написание статьи. Чернов В.И. – анализ данных с внесением ценного интеллектуального содержания, написание статьи. Мухомедзянов А.В. – выполнение операций *in vivo*, написание статьи. Маслов Л.Н. – разработка дизайна исследования *in vivo*, интерпретация результатов, написание статьи. Юсубов М.С. – анализ соединений лития, обработка результатов с внесением ценного интеллектуального содержания, написание статьи. Ларькина М.С. – химический синтез, написание статьи. Артамонов А.А. – статистическая обработка результатов, графическое оформление, написание статьи. Белоусов М.В. – анализ результатов исследования, написание статьи. Все авторы одобрили финальную версию статьи.

Информация об авторах

Плотников Евгений Владимирович – канд. хим. наук, доцент, ИМБП РАН, г. Москва; НИ ТПУ, СибГМУ, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, plotnikov.e@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4374-6422>

Чернов Владимир Иванович – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зам. директора по научной работе и инновационной деятельности Томского НИМЦ; зав. отделом радионуклидной терапии и диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; НИ ТПУ, г. Томск, chernov@tnimc.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5524-9546>

Мухомедзянов Александр Валерьевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, sasha_m91@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1808-556X>

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

Юсубов Мехман Сулейманович – д-р хим. наук, профессор, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск, yusubov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9233-1824>

Ларькина Мария Сергеевна – д-р фармацевт. наук, профессор, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, НИ ТПУ, г. Томск, larkina.ms@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1176-2441>

Артамонов Антон Анатольевич – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, ИМБП РАН, г. Москва, anton.art.an@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7543-9611>

Белоусов Михаил Валерьевич – д-р фармацевт. наук, профессор, зав. каф. фармацевтического анализа, СибГМУ, НИ ТПУ, г. Томск, belousov.mv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

(✉) Плотников Евгений Владимирович, plotnikov.e@mail.ru

Поступила в редакцию 04.03.2024;
одобрена после рецензирования 13.05.2024;
принята к публикации 23.05.2024

УДК 616.314.18-002.4-021.6:547.821
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-74-82>

Влияние нового производного 3-гидроксипиридина ЛХТ-2-20 на процессы свободнорадикального окисления при экспериментальном пародонтите

Порядин Г.В.¹, Захватов А.Н.², Яснецов В.В.^{3,4}, Скачилова С.Я.³, Хайдар Д.А.⁵, Тарасова Т.В.², Захаркин И.А.², Паршина А.Ю.², Симакина Е.А.³

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

² Национальный исследовательский Мордовский государственный университет (МГУ) им. Н.П. Огарёва Россия, Республика Мордовия, 430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68

³ Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ Россия, 142450, г. Старая Купавна, ул. Кирова, 23

⁴ Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук Россия, 123007, г. Москва, Хорошёвское шоссе, 76а

⁵ Российский университет дружбы народов (РУДН) Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: изучение влияния нового комплексного соединения ЛХТ-2-20 (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния-2-(3-бензоилфенил)-пропаноата) на процессы свободнорадикального окисления при экспериментальном пародонтите.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 195 белых беспородных мышках массой 19–23 г, 137 белых беспородных крысах массой 180–220 г. На модели экспериментального пародонтита изучено влияние нового комплексного соединения ЛХТ-2-20 (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния-2-(3-бензоилфенил)-пропаноата) на интенсивность свободнорадикального окисления и местное состояние тканей пародонта при курсовом внутривенном его применении. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного комплекса SPSS Statistics 20.0 с применением дисперсионного анализа (ANOVA) и параметрического критерия Тьюки.

Результаты. Соединение ЛХТ-2-20 снижало повышенные уровни первичных и вторичных продуктов липопероксидации (диеновых конъюгатов, малонового диальдегида в плазме и в эритроцитах при спонтанном и железоиндуцированном окислении) уже в ранние сроки эксперимента, приближая исследуемые показатели к референсным значениям к концу курсового лечения. Применение соединения ЛХТ-2-20 способствовало росту активности основных ферментов антиоксидантной системы (каталазы и супероксиддисмутазы), нормализуя данные показатели к концу эксперимента до исходных значений. На фоне коррекции свободнорадикальных процессов применение ЛХТ-2-20 способствовало ограничению местной воспалительной реакции тканей пародонта, что подтверждалось уменьшением отека и гиперемии десневого края, кровоточивости, глубины пародонтальных карманов и степени подвижности зубов.

Заключение. Результаты данного исследования подтверждают противовоспалительный потенциал соединения и множественность его эффектов за счет воздействия на механизмы оксидативного стресса. Целесообразность последующего изучения средства обоснована перспективой создания нового лекарственного

✉ Захватов Алексей Николаевич, zachvatan78@mail.ru

препарата и его последующего широкого клинического применения в составе комплексной терапии воспалительных процессов тканей пародонта.

Ключевые слова: производные 3-гидроксипиридина, пародонтит, оксидативный стресс, кровоточивость, патологическая подвижность

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

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

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом МГУ им. Н.П. Огарёва (протокол № 102 от 31.01.2021).

Для цитирования: Порядин Г.В., Захватов А.Н., Яснецов В.В., Скачилова С.Я., Хайдар Д.А., Тарасова Т.В., Захаркин И.А., Паршина А.Ю., Симакина Е.А. Влияние нового производного 3-гидроксипиридина ЛХТ-2-20 на процессы свободнорадикального окисления при экспериментальном пародонтите. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):74–82. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-74-82>.

The effect of a new 3-hydroxypyridine derivative LHT-2-20 on free radical oxidation in experimental periodontitis

Poryadin G.V.¹, Zakhvatov A.N.², Yasnetsov V.V.^{3,4}, Skachilova S.Ya.³, Khaydar D.A.⁵, Tarasova T.V.², Zakharkin I.A.², Parshina A.Yu.², Simakina E.A.³

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

² National Research Ogarev Mordovia State University, Medical Institute
68, Bolshevistskaya Str., Saransk, 430005, Russian Federation

³ All-Union Research Center for Safety of Biologically Active Compounds
23, Kirova Str., Staraya Kupavna, 142450, Russian Federation

⁴ State Scientific Center of the Russian Federation – Institute for Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences
76a, Khoroshovskoe Highway, Moscow, 123007, Russian Federation

⁵ Peoples' Friendship University of Russia
6, Miklukho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the effect of a new complex compound LHT-2-20 (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine-2-(3-benzoyl phenyl)-propanoate) on free radical oxidation in experimental periodontitis.

Materials and methods. The experimental study was performed on 195 white mongrel mice weighing 19–23 g and 137 white mongrel rats weighing 180–220 g. The effect of a new complex compound LHT-2-20 (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine-2-(3-benzoyl phenyl)-propanoate) on the intensity of free radical oxidation and the local state of periodontal tissues during a course of intragastric administration was studied on the experimental model of periodontitis. Statistical processing of the results was carried out using the SPSS Statistics 20.0 software package with the analysis of variance (ANOVA) and the parametric Tukey's test.

Results. The LHT-2-20 compound reduced elevated levels of primary and secondary lipoperoxidation products (conjugated dienes, malondialdehyde in plasma and in erythrocytes during spontaneous and iron-induced oxidation) already at the early stages of the experiment, bringing the studied parameters closer to the reference values by the end of the course of treatment. The use of the compound LHT-2-20 contributed to an increase in the activity of the main antioxidant enzymes (catalase and superoxide dismutase), normalizing them to baseline values by the end of the experiment. With the correction of free radical processes, the use of LHT-2-20 limited the local inflammatory

response in periodontal tissues, which was confirmed by a decrease in gingival edema and hyperemia, bleeding, depth of periodontal pockets, and tooth mobility.

Conclusion. The results of this study confirm the anti-inflammatory potential of the compound and the multiplicity of its effects due to the impact on the mechanisms of oxidative stress. The expediency of further study of the drug is justified by the prospect of creating a new drug and its subsequent wide clinical application as part of the complex therapy of periodontal inflammation.

Keywords: 3-hydroxypyridine derivatives, periodontitis, ROS, oxidative stress, bleeding, pathological mobility

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

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

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee at National Research Ogarev Mordovia State University (Protocol No. 102 of 31.01.2021).

For citation: Poryadin G.V., Zakhvatov A.N., Yasnetsov V.V., Skachilova S.Ya., Khaydar D.A., Tarasova T.V., Zakharkin I.A., Parshina A.Yu., Simakina E.A. The effect of a new 3-hydroxypyridine derivative LHT-2-20 on free radical oxidation in experimental periodontitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):74–82. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-74-82>.

ВВЕДЕНИЕ

На настоящий момент заболевания пародонта представляют собой важную медико-социальную проблему, что обусловлено широкой распространенностью данной патологии. В мировой структуре стоматологических заболеваний хронический пародонтит занимает 11-е место [1]. Аналогичная динамика прослеживается и в Российской Федерации: при оценке структуры стоматологической заболеваемости среди взрослого населения различных субъектов России определяется наличие высокой распространенности воспалительных заболеваний пародонта, что составляет 89%, при этом наибольший пик заболеваемости – 94,3% – приходится на возраст 40–45 лет [2]. Тем самым хронический пародонтит, несмотря на свою распространенность среди патологий челюстно-лицевой области, характеризуется выраженной тенденцией к увеличению показателей заболеваемости [1].

Большое значение в патогенезе воспалительно-деструктивных процессов пародонта принадлежит активации процессов свободнорадикального окисления и ингибированию антиоксидантной системы (АОС) [3]. В результате развивается дисбаланс между прооксидантной и антиоксидантной системами, приводящий к повышенному образованию активных форм кислорода (АФК). Данные патологические изменения создают предпосылки для формирования «окислительного стресса», характеризующегося повышенным образованием АФК и деструкцией клеточных образований [4]. Возникающие нарушения окислительного гомеостаза и системы капиллярно-

го кровотока, а также повышение сосудистой проницаемости способствуют формированию местных воспалительных изменений пародонта, характеризующихся гиперемией десневого края, геморрагическими проявлениями, патологическим увеличением глубины зубодесневых карманов с последующим возникновением вследствие этого патологической подвижности [5, 6].

Выраженная распространенность хронического пародонтита, непрерывное рецидивирующее течение, повышение количественной доли форм, сопровождающихся осложнениями, обуславливают необходимость разработки новых методов и средств лечения данной патологии [7]. В настоящее время одним из компонентов терапии хронического пародонтита являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), применяемые в различных формах [8]. Несмотря на их выраженный противовоспалительный эффект, данный класс препаратов имеет ограниченное применение вследствие частого формирования осложнений, являющихся проявлением их ulcerогенной активности [9]. Кроме того, НПВС обладают низкой антиоксидантной, мембранопротекторной и антигипоксантной активностью, что выражается в их неспособности коррекции нарушенного динамического равновесия между двумя взаимозависимыми системами в сторону увеличения антиоксидантного потенциала [8]. Наличие вышеперечисленных недостатков обуславливает необходимость включения в терапию пародонта препаратов комплексного антиоксидантного и противовоспалительного действия, которые будут способствовать потенцированию лечебных эффектов в

сочетании с нивелированием нежелательных лекарственных реакций.

Таким образом, целью исследования являлось изучение влияния нового комплексного соединения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния-2-(3-бензоилфенил)-пропаноата (ЛХТ-2-20) на процессы свободнорадикального окисления при экспериментальном пародонтите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование выполнено на 195 белых беспородных мышах массой 19–23 г, 137 белых беспородных крысах массой 180–220 г, распределенных на пять серий. Все животные были получены из биопитомника «СМК СТЕЗАР» (г. Владимир, Россия) и содержались в лабораторных условиях при стандартной температуре и влажности воздуха. Исследование осуществлено согласно требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, и правилами надлежащей лабораторной практики (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). Экспериментальное исследование прошло экспертизу и было одобрено этическим комитетом (протокол № 102 от 31.01.2021).

Новое комплексное соединение 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния-2-(3-бензоилфенил)-пропаноат (лабораторное название ЛХТ-2-20) синтезировано в отделе химии и технологии синтетических лекарственных средств и аналитического контроля АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ» (патент РФ на изобретение № 2793537) [10]. В качестве препаратов сравнения были выбраны НПВС кетопрофен (2-(3-бензоилфенил)-пропановая кислота, Велфарм, Россия), обладающий противовоспалительными свойствами, и мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат, Фармасофт, Россия), оказывающий антиоксидантное действие.

Воспроизведение модели экспериментального пародонтита осуществляли в соответствии с запатентованной методикой К.Д. Школьной и соавт. [11]. Исследуемым крысам на 1, 3- и 5-е сут вводился преднизолон в дозе 12 мг/кг. На 5-е сут эксперимента под общей анестезией золетилом 100 (Virbac Sante Animale, Франция) 0,03 мл внутримышечно проводилось прошивание межзубного промежутка в области сосочка между первым и вторым моляром верхней челюсти с фиксацией узла и его покрытием жидкотекучим пломбировочным материалом Filtek Flow (3M, США) с вестибулярной стороны.

Серию 1 сформировали интактные крысы ($n = 15$), имеющие здоровый периодонт. В серии 2 (кон-

троль, $n = 30$) воспроизводилась модель пародонтита без лечения. Животным третьей и четвертой серии ($n = 30$ в каждой) вводили кетопрофен и мексидол в дозах, соответствующих 2 и 5% показателя LD_{50} соответственно. Крысы пятой серии ($n = 32$) получали ЛХТ-2-20 в дозе 11,54 мг/кг, соответствующей 2% показателя LD_{50} . Исследуемые соединения после предварительного растворения в 1,5 мл крахмальной слизи вводились внутривентрикулярно (в/в) в объеме 1,5 мл 1 раз/сут 10 сут. Животные выводились из экспериментального исследования методом декапитации на 25-е сут под изофлюрановым наркозом.

Острая токсичность ЛХТ-2-20 была изучена на белых беспородных мышах обоего пола, которые были разделены на группы по пять животных в каждой. Соединение после предварительного растворения в крахмальной слизи вводили в/в в возрастающих концентрациях в объеме 0,3 мл. Показатель LD_{50} рассчитывался по методу Личфилда – Уилкоксона.

Оценка свободнорадикальных процессов в плазме производилась методом биохемилюминесценции биохимическим анализатором «Флюорат-02-А-БЛФ-Т» (Промэколаб, г. Санкт-Петербург), а также по уровню первичных и вторичных метаболитов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов (DC), определяемых модифицированным методом Плацера (1976) в плазме крови, малонового диальдегида в плазме и эритроцитах при спонтанном (MDA) и железо-индуцированном окислении (Fe-MDA), определяемых по методу С.Г. Конюховой (1989). Антиоксидантный потенциал исследовался по активности каталазы (CAT) в плазме и эритроцитах, определяемой в соответствии с методикой М.А. Королюк (1988) и супероксиддисмутазы (SOD) в плазме методом Е.Е. Дубининой (1983).

Местные изменения пародонта определяли по состоянию слизистой оболочки ротовой полости; выраженности кровоточивости десен (0–3 балла); степени подвижности зубов (0–2 степень); глубине пародонтальных карманов (мм).

Статистический анализ произведен программным комплексом SPSS Statistics 20.0. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$), абсолютных и относительных значений (n (%)), 95%-го доверительного интервала (ДИ). Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Межгрупповые сравнения проводились с помощью двухстороннего точного критерия Фишера, дисперсионного анализа (ANOVA) с постхоками Тьюки. Проведен корреляционный анализ по методу Спирмена. Различия признавались статистически значимыми при $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение острой токсичности ЛХТ-2-20

Показатель LD_{50} ЛХТ-2-20 у мышей при в/ж введении составил 1 130 мг/кг. Полученный результат показывает, что соединение в 2,97 раза менее токсично, чем кетопрофен, но в 1,88 раза токсичнее мексидола (табл. 1).

Таблица 1

Острая токсичность ЛХТ-2-20 у мышей		
Вещество (соединение)	LD_{50} , мг/кг	95% ДИ
Кетопрофен	380	358–402
Мексидол	2120	2010–2230
ЛХТ-2-20	1 130 ^{A, B}	1 040–1 220

^A различия статистически достоверны относительно кетопрофена; ^B различия статистически достоверны относительно мексидола ($p = 0,001$, одномерный дисперсионный анализ (ANOVA), критерий Тьюки).

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТЫ ЛХТ-2-20 ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ

ЛХТ-2-20 при в/ж введении подавлял процессы свободнорадикального окисления, что подтверждалось следующими изменениями. Уровень DC в плазме крови определялся ниже на 50% ($p_1 < 0,001$) относительно аналогичных данных серии контроля, тем самым приближаясь к интактным значениям. Кроме того, в сравнении с сериями кетопрофена и мексидола он оказался меньше на 73,3% ($p_2 < 0,001$) и 26,7% ($p_3 = 0,344$) соответственно. Показатели MDA в плазме и в эритроцитах при спонтанном окислении

в серии применения ЛХТ-2-20 составили $6,2 \pm 0,6$ и $9,6 \pm 0,6$ мкмоль/л, что ниже аналогичных значений контрольной серии на 32,6% ($p_1 = 0,46$) и 28,1% ($p_1 = 0,002$) соответственно.

Уровни Fe-MDA в плазме и в эритроцитах определялись меньше на 37,6% ($p_1 < 0,001$) и 29,5% ($p_1 = 0,124$) соответственно относительно контрольных величин. В сравнении с интрагастральным введением кетопрофена и мексидола MDA в плазме в серии применения нового соединения был меньше – на 42,9% ($p_2 < 0,001$) и 8,8% ($p_3 = 0,417$), Fe-MDA в плазме – на 55,6% ($p_2 < 0,001$) и 22,7% ($p_3 < 0,001$), MDA в эритроцитах – на 34% ($p_2 < 0,001$) и 17,5% ($p_3 = 0,328$), Fe-MDA в эритроцитах – на 40,4% ($p_2 < 0,001$) и 16,8% ($p_3 < 0,001$). Более того, при интрагастральном введении ЛХТ-2-20 на 25-е сут наблюдения определялось более эффективное восстановление антиоксидантного потенциала: активность САТ в плазме составила $0,89 \pm 0,06$, что на 23,9% ($p_2 < 0,001$) и 10,3% ($p_3 = 0,035$) выше аналогичного показателя серий применения кетопрофена и мексидола соответственно.

САТ в эритроцитах была выше на 16,8% ($p_2 < 0,001$) и 7,9% ($p_3 = 0,026$), активность SOD в плазме – на 39,7% ($p_2 < 0,001$) и 22,1% ($p_3 < 0,001$) соответственно при сравнении с третьей и четвертой сериями эксперимента. При проведении биохимиллюминесцентного исследования плазмы на фоне применения нового соединения показатели I_{max} и S были ниже на 27,2% ($p_1 < 0,001$) и 37,2% ($p_1 < 0,001$), соответственно, относительно данных серии контроля. Величина I_{max} была меньше на 31,9% ($p_2 < 0,001$) и 6,0% ($p_3 = 0,596$), S – на 35,5% ($p_2 < 0,001$) и 10,2% ($p_3 = 0,001$) соответственно относительно применения кетопрофена и мексидола (табл. 2).

Таблица 2

Показатель	Влияние ЛХТ-2-20 на свободнорадикальные процессы при экспериментальном пародонтите, $M \pm \sigma$				
	Серия 1 ($n = 15$)	Опытные серии			
		Серия 2 ($n = 30$)	Серия 3 ($n = 30$)	Серия 4 ($n = 30$)	Серия 5 ($n = 32$)
DC в плазме, ед/мл	$0,15 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,05^*$	$0,29 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,04^{*\wedge}$	$0,18 \pm 0,04^{*\wedge\wedge}$
MDA в плазме, мкмоль/л	$4,89 \pm 0,21$	$9,12 \pm 0,71$	$8,25 \pm 0,54^*$	$6,58 \pm 0,52^{*\wedge}$	$6,15 \pm 0,53^{*\wedge\wedge}$
Fe-MDA в плазме, мкмоль/л	$9,56 \pm 0,44$	$19,80 \pm 1,52$	$17,68 \pm 0,69^{*\wedge}$	$14,53 \pm 0,63^{*\wedge}$	$12,36 \pm 0,51^{*\wedge\wedge B}$
MDA в эритроцитах, мкмоль/л	$8,05 \pm 0,49$	$13,36 \pm 0,71^*$	$12,34 \pm 0,88^*$	$10,18 \pm 0,59^{*\wedge}$	$9,60 \pm 0,58^{*\wedge\wedge}$
Fe-MDA в эритроцитах, мкмоль/л	$17,49 \pm 1,42$	$30,26 \pm 1,01$	$28,41 \pm 0,86^{*\wedge}$	$24,28 \pm 0,87^{*\wedge}$	$21,33 \pm 0,82^{*\wedge\wedge B}$
САТ в плазме, ккат/с \times л	$1,17 \pm 0,13$	$0,51 \pm 0,08^*$	$0,62 \pm 0,07^*$	$0,77 \pm 0,08^{*\wedge}$	$0,89 \pm 0,06^{*\wedge\wedge}$
САТ в эритроцитах, мккат/с \times л	$2,27 \pm 0,13$	$1,29 \pm 0,11^*$	$1,59 \pm 0,13^{*\wedge}$	$1,79 \pm 0,10^{*\wedge}$	$1,97 \pm 0,14^{*\wedge\wedge}$
SOD в плазме, ед. акт.	$1,31 \pm 0,12$	$0,52 \pm 0,08^*$	$0,65 \pm 0,08^*$	$0,88 \pm 0,07^{*\wedge\wedge}$	$1,17 \pm 0,06^{*\wedge\wedge B}$
I_{max} в плазме, мВ/с	$1,85 \pm 0,14$	$3,53 \pm 0,23^*$	$3,16 \pm 0,17^{*\wedge}$	$2,68 \pm 0,17^{*\wedge}$	$2,57 \pm 0,14^{*\wedge\wedge}$
S в плазме, мВ/с	$26,77 \pm 1,06$	$48,80 \pm 1,76^*$	$40,18 \pm 1,73^{*\wedge}$	$33,39 \pm 1,29^{*\wedge}$	$30,66 \pm 1,63^{*\wedge\wedge}$

* достоверность к референсным значениям ($p < 0,001$); \wedge достоверность к значениям контроля ($p_1 < 0,001$); $\wedge\wedge$ достоверность к значениям серии с кетопрофеном ($p_2 < 0,001$); $\wedge\wedge B$ достоверность к значениям серии с мексидолом ($p_3 < 0,001$) (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), критерий Тьюки).

При оценке местного статуса полости рта лабораторных животных контрольной серии определялась выраженная гиперемия десны. Высокая кровоточивость, проявляющаяся сразу после проведения зондирования (3 балла), а также усиление степени подвижности зубов до 2-й степени выявлялась у 30 крыс серии контроля (100%). При определении глубины пародонтальных карманов отмечалось их увеличение на $1,3 \pm 0,2$ мм ($p < 0,001$). Данные изменения свидетельствуют об имеющихся воспалительно-дегенеративных изменениях пародонтальных тканей, приводящих к формированию патологической подвижности и потере зубов.

К концу исследования в сериях с применением кетопрофена и мексидола при осмотре ротовой полости у крыс наблюдалось снижение выраженности местных признаков воспаления, что проявлялось уменьшением отека и гиперемии десны. Определяемый показатель глубины зондирования зубодесневой борозды был ниже серии контроля на фоне внутрижелудочного введения кетопрофена – на 40% ($p_1 < 0,001$), на фоне внутрижелудочного введения мексидола – на 32,1% ($p_1 < 0,001$). При оценке показателя кровоточивости по 3-балльной шкале определялась следующая динамика в серии применения кетопрофена: у одной крысы (3,3%) определялся 1 балл, у 21 (70%) – 2 балла, у восьми крыс (26,7%) – 3 балла. В серии применения мексидола: у одной крысы (3,3%) – 1 балл, у 18 (60%) – 2 балла, у 11 крыс (36,7%) – 3 балла. При определении степени патологической подвижности зубов при лечении кетопрофеном: 1-я степень определялась у шести крыс

(20%), 2-ю степень имели 24 крысы (80%). При терапии мексидолом: 1-я степень диагностирована у 14 крыс (46,7%), 2-я степень – у 16 крыс (53,3%). Полученные результаты говорят об уменьшении процентного соотношения особей, имеющих кровоточивость десен 2–3 балла и 1–2-ю степень патологической подвижности зубов. Однако, несмотря на положительную динамику, данные изменения свидетельствуют о недостаточной эффективности исследуемых соединений при экспериментальном пародонтите.

При применении соединения ЛХТ-2-20 определялось выраженное снижение интенсивности воспалительных изменений, о чем свидетельствовало отсутствие гиперемии десневого края. После проведения зондирования пуговчатым зондом определялось уменьшение степени выраженности геморрагических проявлений: у 24 крыс (75%) определялся 1 балл, у восьми крыс (25%) – 2 балла, животных с высокой кровоточивостью десен (3 балла) не выявлено. При оценке тяжести повреждения опорно-удерживающего аппарата зуба по уровню патологической подвижности степень 0 определялась у 12 крыс (37,6%), степень 1 – у 20 крыс (62,4%), степень 2 подвижности зубов в исследуемой серии крыс не диагностирована. При оценке глубины пародонтального кармана путем проведения зондирования отмечено, что она была ниже на 67,2% ($p_1 < 0,001$) в сравнении с контрольной серией и составила $0,4 \pm 0,01$ мм, что на 27,8% ($p_2 < 0,001$) и 35,7% ($p_3 < 0,001$) меньше в сравнении с сериями применения кетопрофена и мексидола соответственно (табл. 3).

Таблица 3

Влияние ЛХТ-2-20 на показатели местного состояния пародонта при экспериментальном пародонтите

Показатель	Серия 1 (n = 15)	Серия 2 (n = 30)	Серия 3 (n = 30)	Серия 4 (n = 30)	Серия 5 (n = 32)
Глубина пародонтальных карманов, мм, $M \pm \sigma$	$0,3 \pm 1$	$1,3 \pm 0,2^*$	$0,8 \pm 0,02^{*\wedge}$	$0,9 \pm 0,02^{*\wedge\wedge}$	$0,4 \pm 0,01^{*\wedge AB}$
Кровоточивость десны, баллы, n (%):					
1	15 (100%)	0 (0%)*	1 (3,3%)*	1 (3,3%)*	24 (75%) ^{^ AB}
2	0 (0%)	0 (0%)	21 (70%) ^{^*}	18 (60%) ^{^*}	8 (25%) ^{^* AB}
3	0 (0%)	30 (100%)*	8 (26,7%) ^{^*}	11 (36,7%) ^{^*}	0 (0%) ^{^ AB}
Подвижность зубов, степень, n (%):					
0	15 (100%)	0 (0%)*	0 (0%)*	0 (0%)	12 (37,6%) ^{^* AB}
1	0 (0%)	0 (0%)	6 (20%) ^{^*}	14 (46,7%) ^{^*}	20 (62,4%) ^{^* AB}
2	0 (0%)	30 (100%)*	24 (80%) ^{^*}	16 (53,3%) ^{^*}	0 (0%) ^{^ AB}

* достоверность к референсным значениям ($p < 0,001$); [^] достоверность к значениям контроля ($p_1 < 0,001$); [^] достоверность к значениям серии с кетопрофеном ($p_2 < 0,001$); ^B достоверность к значениям серии с мексидолом ($p_3 < 0,001$) (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), критерий Тьюки, критерий Фишера).

Проведенный корреляционный анализ между показателями свободнорадикального окисления с данными местного статуса тканей пародонта выявил положительную корреляционную связь. При

анализе величины коэффициента корреляции между значениями DC плазмы, MDA плазмы, I тах биофлюоресценции плазмы с показателями кровоточивости десен, глубины пародонтальных карманов,

степени подвижности зубов определялась высокая сила связи. Очень высокая сила связи выявлялась между величинами Fe-MDA плазмы, S биохемилюминесценции плазмы с показателем степени подвижности зубов. В ходе оценки взаимосвязи уровней основных ферментов антиоксидантной системы с показателями состояния пародонтальных тканей

определялась отрицательная корреляционная связь. Так, между уровнями CAT в плазме, SOD в плазме и данными местного статуса пародонта выявлялась высокая сила связи, за исключением значения SOD и степени подвижности зубов, где установлена очень высокая сила связи, указывая тем самым на сопряженность исследуемых показателей (табл. 4).

Таблица 4

Корреляционная взаимосвязь между некоторыми показателями свободнорадикального окисления, антиоксидантной системы и местного статуса тканей при экспериментальном пародонтите у крыс

Показатель	Коэффициент корреляции Спирмена						
	MDA в плазме, мкмоль/л	Fe-MDA в плазме, мкмоль/л	DC в плазме, ед/мл	CAT в плазме, мккат/с × л	SOD в плазме, ед. акт.	I max в плазме, мВ/с	S в плазме, мВ/с
Кровоточивость десны, баллы	0,71	0,83	0,67	-0,74	-0,73	0,75	0,88
Глубина пародонтальных карманов, мм	0,76	0,87	0,73	-0,82	-0,88	0,77	0,89
Подвижность зубов, степень	0,85	0,94	0,73	-0,84	-0,95	0,84	0,93

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что процессы свободнорадикального окисления играют важную роль в патогенезе экспериментального пародонтита, способствуя формированию местных воспалительных изменений тканей пародонта.

В ходе эксперимента наблюдалась интенсификация процессов свободнорадикального окисления, определяемая по данным биохемилюминесценции и уровню продуктов липопероксидации в плазме и эритроцитах крови, сопряженных сильной корреляционной связью с показателями местного статуса пародонтальных тканей. Оксидативный стресс и воспалительная реакция на местном и системном уровнях являются звеньями одной цепи в повреждении тканей пародонта при развитии пародонтита.

Проведенный курс терапии кетопрофеном не позволил скорректировать биорадикальные процессы на системном уровне, о чем свидетельствовало сохранение высокого уровня показателей липопероксидации относительно референсных значений. Вместе с тем данный курс способствовал ограничению воспалительного процесса тканей пародонта, что подтверждалось наметившейся тенденцией к снижению данных значений к концу эксперимента, а также улучшением местного состояния пародонтальных тканей.

При терапии мексидолом определялось более эффективное ингибирование свободнорадикальных механизмов повреждения относительно показателей серии контроля, но в сравнении с серией курсовой терапии кетопрофеном достоверных различий не наблюдалось.

Применение нового комплексного соединения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния-2-(3-бензоилфенил)-пропаноата приводило к ингибированию свободнорадикальных процессов и активации антиоксидантной системы, способствуя нормализации исследуемых показателей до значений интактных животных. Наряду с коррекцией процессов свободнорадикального окисления наблюдалось купирование явлений местной воспалительной реакции и уменьшение деструктивных процессов тканей пародонта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При экспериментальном пародонтите определялось повышение активности процессов свободнорадикального окисления с параллельно наблюдающимся снижением антиоксидантного энзимного потенциала в эритроцитах и плазме крови. Полученные данные свидетельствовали о развитии оксидативного стресса, развивающегося на фоне нарастающей местной и системной воспалительной реакции, что приводило к усилению деструктивных процессов соединительнотканного матрикса пародонта и способствовало прогрессированию заболевания.

У крыс с экспериментальным пародонтитом новое комплексное соединение ЛХТ-2-20 при внутривидовом введении в дозе 11,54 мг/кг в течение 10 сут к концу эксперимента приводило к значительному снижению уровней показателей липопероксидации в сочетании с уменьшением выраженности местных воспалительных изменений пародонтальных тканей. Полученные результаты подтверждают наличие противовоспалительной и антиоксидантной

активности соединения, а также обосновывают целесообразность его дальнейшего изучения с целью создания лекарственного средства для комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Trindade D., Carvalho R., Machado V., Chambrone L., Mendes J.J., Botelho J. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *J. Clin. Periodontol.* 2023;50(5):604–626. DOI: 10.1111/jcpe.13769.
- Щипский А.В., Шакирова Р.Р., Лекомцева Ю.В. Профилактически значимая информация о стоматологическом статусе жителей большого города, обнаруженная в процессе эпидемиологического обследования по данным анкетирования. *Пародонтология.* 2020;25(2):116–120. DOI: 10.33925/1683-3759-2020-25-2-116-120.
- Захватов А.Н., Хайдар Д.А., Тарасова Т.В., Паршина А.Ю., Тимошкин В.О. Значимость свободнорадикальных процессов в деградации коллагеновых фибрилл при экспериментальном пародонтите. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2022;1:125–134. DOI: 10.34014/2227-1848-2022-1-125-134.
- Chen X., Dou J., Fu Z., Qiu Y., Zou L., Huang D. et al. Macrophage M1 polarization mediated via the IL-6/STAT3 pathway contributes to apical periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Applied Oral Science.* 2022;30:20220316. DOI: 10.1590/1678-7757-2022-0316.
- Chen X., Zhi X., Yin Z., Li X., Qin L., Qiu Z. et al. 18 β -glycyrrhetic acid inhibits osteoclastogenesis in vivo and in vitro by blocking RANKL-mediated RANK–TRAF6 Interactions and NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Frontiers in Pharmacology.* 2018;9:647. DOI: 10.3389/fphar.2018.00647.
- Petean I.B.F., Silva-Sousa A.C., Cronenbold T.J., Mazzi-Chaves J.F., Silva L.A.B.D., Segato R.A.B. et al. Genetic, cellular and molecular aspects involved in apical periodontitis. *Brazilian Dental Journal.* 2022;33(4):1–11. DOI: 10.1590/0103-6440202205113.
- Саркисов А.К., Зеленский В.А., Полунина Е.А., Саркисов К.А. Биомаркеры воспаления при хроническом генерализованном пародонтите на фоне бронхоэктатической болезни. *Вестник новых медицинских технологий.* 2020;27(1):10–14. DOI: 10.24411/1609-2163-2020-16547.
- Орехова Л.Ю., Лобода Е.С., Атрушкевич В.Г., Косова Е.В., Вашнева В.Ю., Петров А.А. Актуальность применения нестероидных противовоспалительных препаратов в пародонтологии. *Пародонтология.* 2021;26(3):211–222. DOI: 10.33925/1683-3759-2021-26-3-211-222.
- Сперанская Е.М., Мухамеджанова Л.Р., Голубцова Н.М., Никитина Л.И. Патогенетическое обоснование использования нестероидных противовоспалительных препаратов в комплексном лечении пациентов с генерализованным пародонтитом. *Acta Medica Eurasica.* 2016;1:29–35.
- Скачилова С.Я., Яснецов В.В., Симакина Е.А., Захватов А.Н., Хайдар Д.А., Тарасова Т.В., Тимошкин В.О., Паршина А.Ю., изобретатели; С.Я. Скачилова, В.В. Яснецов, Е.А. Симакина, А.Н. Захватов, правопреемники. Средство, обладающее способностью стимулировать репаративные процессы тканей пародонта, а также антиоксидантным и противовоспалительным действием, представляющее собой 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния-2-(3-бензоилфенил)-пропаноат, и фармацевтическая композиция на его основе. Патент Российской Федерации RU 2793537 С1. 04 апреля 2023 г. РФ.
- Школьная К.Д., Атрушкевич В.Г., Берченко Г.Н., изобретатели; ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», правопреемник. Способ экспериментального моделирования пародонтита. Патент Российской Федерации RU 2625295 С1. 12 июля 2017 г. РФ.

Вклад авторов

Порядин Г.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение окончательного варианта рукописи. Захватов А.Н., Скачилова С.Я., Яснецов В.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи. Хайдар Д.А. – написание и редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи. Тарасова Т.В., Захаркин И.А., Паршина А.Ю., Симакина Е.А. – анализ и интерпретация данных, написание и редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Информация об авторах

Порядин Геннадий Васильевич – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, poryadin_gv@rsmu.ru, <http://orcid.org/000-0003-2010-3296>

Захватов Алексей Николаевич – д-р мед. наук, профессор, кафедра общей хирургии им. профессора Н.И. Атясова, Медицинский институт, МГУ им. Н.П. Огарева, г. Саранск, zachvatan78@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1433-0337>

Яснецов Виктор Владимирович – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник – зав. лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии, заместитель заведующего отделом космической радиобиологии и фармакологии ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва; гл. науч. сотрудник, лаборатория фармакологии и токсикологии, г. Старая Купавна, vicyas@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6399-3703>

Скачилова София Яковлевна – д-р хим. наук, профессор, зав. отделом химии и технологии синтетических лекарственных средств, г. Старая Купавна, skachilova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4486-8883>

Хайдар Далила Али – ассистент, кафедра общей и клинической стоматологии, РУДН, г. Москва, dhaidarA@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8519-3408>

Тарасова Татьяна Викторовна – д-р биол. наук, профессор, кафедра нормальной и патологической физиологии, Медицинский институт, МГУ им. Н.П. Огарева, г. Саранск, 9023060@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9745-9739>

Захаркин Илья Александрович – ст. преподаватель, кафедра стоматологии, Медицинский институт, МГУ им. Н.П. Огарева, г. Саранск, zacharkinas@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7132-4887>

Паршина Алина Юрьевна – клинический ординатор, кафедра общей хирургии им. профессора Н.И. Атясова, Медицинский институт, МГУ им. Н.П. Огарева, г. Саранск, alinaparshina2000@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-1433-0337>

Симакина Екатерина Александровна – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник отдела химии и технологии синтетических лекарственных средств, г. Старая Купавна, katerinasimakina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1248-202X>

✉ **Захватов Алексей Николаевич**, zachvatan78@mail.ru

Поступила в редакцию 30.10.2023;
одобрена после рецензирования 22.01.2024;
принята к публикации 25.01.2024

УДК 616.12-008.311-089:615.849:612.111.062
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-83-90>

Адренореактивность мембран эритроцитов у подростков с суправентрикулярными и желудочковыми аритмиями до и после радиочастотной абляции

Реброва Т.Ю., Перевозникова Ю.Е., Муслимова Э.Ф., Свинцова Л.И., Афанасьев С.А., Джаффарова О.Ю.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить показатель β -адренореактивности мембран эритроцитов (β -АРМ) у подростков с суправентрикулярными и желудочковыми аритмиями до и после выполнения радиочастотной коррекции нарушения ритма.

Материалы и методы. В исследование включено 49 подростков от 11 до 17 лет, из них 15 с феноменом Вольфа – Паркинсона – Уайта (ВПВ), 13 с синдромом ВПВ, 10 с атриовентрикулярной узловой реципрокной тахикардией и 11 с желудочковой аритмией (ЖА). Группу контроля составили 11 подростков, не имеющих патологии сердечно-сосудистой системы. Всем пациентам проведено оперативное лечение нарушения ритма сердца (НРС) методом радиочастотной абляции (РЧА). Пациентам с НРС определение β -АРМ эритроцитов с использованием набора реагентов БЕТА-АРМ АГАТ (ООО «АГАТ», Россия) выполняли перед проведением РЧА и через 3 сут после нее. В контрольной группе показатель определяли на этапе включения в исследование.

Результаты. У подростков в группах с суправентрикулярными аритмиями показатели β -АРМ значимо не отличались от группы контроля. Проведение РЧА у подростков этих групп не повлияло на величину показателя β -АРМ эритроцитов на 3-и сут после оперативного вмешательства. У подростков с ЖА показатель β -АРМ исходно превышал значение в группе контроля ($p = 0,026$). На 3-и сутки после РЧА в этой группе отмечено увеличение β -АРМ эритроцитов ($p = 0,028$) относительно исходных значений в группе.

Заключение. Активация симпатического отдела вегетативной нервной системы занимает существенное место в патогенезе желудочковых аритмий в подростковом возрасте. Выполненное исследование показало возможность использования показателя β -АРМ эритроцитов для оценки состояния симпатической нервной системы у категории пациентов с методическими ограничениями выполнения анализа вариабельности сердечного ритма.

Ключевые слова: радиочастотная абляция, нарушение ритма, подростки, β -адренореактивность мембран эритроцитов

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

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках темы фундаментальных научных исследований № 122020300183-4.

Соответствие принципам этики. Информированное согласие на включение ребенка в исследование было подписано родителями. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 208 от 20.01.2021).

Для цитирования: Реброва Т.Ю., Перевозникова Ю.Е., Муслимова Э.Ф., Свинцова Л.И., Афанасьев С.А., Джаффарова О.Ю. Адренореактивность мембран эритроцитов у подростков с суправентрикулярными

ми и желудочковыми аритмиями до и после радиочастотной абляции. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):83–90. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-83-90>.

Beta-adrenergic reactivity of erythrocyte membranes in adolescents with supraventricular and ventricular arrhythmias before and after radiofrequency ablation

Rebrova T.Yu., Perevoznikova Yu.E., Muslimova E.F., Svintsova L.I., Afanasiev S.A., Dzhaffarova O.Yu.

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

ABSTRACT

Aim. To evaluate β -adrenergic reactivity of erythrocyte membranes (β -ARM) in adolescents with ventricular and supraventricular arrhythmias before and after radiofrequency ablation (RFA) of heart rhythm disturbances.

Materials and methods. The study included 49 adolescents aged 11–17 years, of which 15 had Wolff – Parkinson – White pattern (WPW), 13 – WPW syndrome, 10 – atrioventricular nodal reentry tachycardia (AVNRT), and 11 – ventricular arrhythmia (VA). The control group consisted of 11 adolescents without cardiovascular pathology. All patients received surgical treatment for heart rhythm disturbances (HRD) using RFA. In patients with HRD, β -ARM was determined by a set of reagents BETA-ARM AGAT (AGAT LLC, Russia) before RFA and 3 days after it. In the control group, the parameter was determined at the stage of inclusion in the study.

Results. In adolescents with supraventricular arrhythmias, median values of β -ARM did not differ significantly from the control group. RFA in adolescents in these groups did not affect the value of β -ARM on day 3 after the surgery. In adolescents with VA, the median value of β -ARM was initially higher than in the control group ($p = 0.026$). On day 3 after RFA, an increase in β -ARM was noted in this group ($p = 0.028$) compared to baseline values.

Conclusion. Activation of the sympathetic nervous system plays a significant role in the pathogenesis of VA in adolescence. The study showed the possibility of using β -ARM to assess the state of the sympathetic nervous system in patients with methodological limitations in analyzing heart rate variability.

Keywords: radiofrequency ablation, heart rhythm disturbance, adolescents, β -adrenergic reactivity of erythrocyte membranes

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 No. 122020300183-4.

Conformity with the principles of ethics. An informed consent was signed by parents of the patients. The study protocol was approved by the Bioethics Committee at Cardiology Research Institute of Tomsk NRMC (Protocol No. 208 of 20.01.2021).

For citation: Rebrova T.Yu., Perevoznikova Yu.E., Muslimova E.F., Svintsova L.I., Afanasiev S.A., Dzhaffarova O.Yu. Beta-adrenergic reactivity of erythrocyte membranes in adolescents with supraventricular and ventricular arrhythmias before and after radiofrequency ablation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):83–90. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-83-90>.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения ритма сердца (НРС) занимают ведущее место (60–70%) в структуре сердечно-сосудистой патологии у детей и подростков. В последние годы отмечено увеличение общего числа различных видов НРС в детской популяции [1–3]. Это может

быть обусловлено, с одной стороны, улучшением диагностики, с другой – продолжительным периодом бессимптомного развития аритмий у детей и несвоевременным обращением к специалистам. У детей выделяют несколько периодов наибольшего риска развития аритмий: это период новорожденности, возраст 4–5 лет, 7–8 лет, 12–13 лет [4, 5]. В подростко-

вом возрасте наиболее часто встречается такая форма НРС, как миграция водителя ритма (13,5%). Другие формы встречаются значительно реже: брадикардия (3,5%), ускоренный предсердный ритм (2,7%), экстрасистолия (1,9%), феномен Вольфа – Паркинсона – Уайта (ВПВ) и атриовентрикулярная блокада I степени (по 0,5%), удлинение интервала QT (0,3%) [3].

Признается ограниченная эффективность существующей медикаментозной терапии для контроля суправентрикулярных тахикардий в детском и подростковом возрасте [6]. Отмечается, что невозможность у детей школьного возраста терапевтической коррекции таких НРС, как ВПВ, атриовентрикулярной узловой реципрокной тахикардии (АВУТ) и желудочковой аритмии (ЖА), может послужить причиной развития жизнеугрожающих аритмий, аритмогенной кардиомиопатии и летальных исходов [7]. В этих условиях радиочастотная абляция (РЧА) становится методом выбора в лечении медикаментозно рефрактерных НРС у детей [8].

Особенностью сердца является наличие автономной нервной системы. На уровне организма ее функционирование и взаимодействие с водителями ритма сердца находится под контролем вегетативной нервной системы (ВНС) [9]. В этой регуляции особое значение придается сохранению баланса взаимоотношений активности симпатического и парасимпатического отделов ВНС, а также чувствительности адренорецепторов [9]. Преобладание симпатической активности приводит к жизнеугрожающим нарушениям ритма и рассматривается как независимый фактор риска смерти [10]. Это обстоятельство указывает на актуальность своевременной оценки состояния симпатического отдела ВНС у детей с НРС, в том числе и после коррекции этих нарушений с помощью РЧА. Перспективным подходом, позволяющим объективно контролировать состояние симпатического отдела ВНС, в том числе при наличии жизнеугрожающих НРС, является определение показателя β -адренореактивности мембран (β -АРМ) эритроцитов [11, 12].

Цель – оценить показатель β -АРМ эритроцитов у подростков с желудочковыми и суправентрикулярными аритмиями до и после выполнения радиочастотной коррекции нарушения ритма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 49 детей в подростковом возрасте от 11 до 17 лет. Желудочковая аритмия была выявлена у 11 пациентов. Феномен ВПВ был обнаружен у 15 пациентов, синдром ВПВ и атриовентрикулярная узловая реципрокная тахикардия выявлены у 13 и 10 пациентов соответственно. Все пациенты находились на плановом лечении в отде-

лении детской кардиологии НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Группу контроля составили 11 детей аналогичного возраста, не имеющие патологии сердечно-сосудистой системы.

Проведенное исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии (протокол № 208 от 20.01.2021).

При формировании выборки руководствовались следующими критериями включения: отсутствие врожденного порока сердца, отсутствие острых инфекционных и обострения хронических заболеваний, отсутствие лабораторных признаков миокардита, подписанное информированное согласие. Клиническую симптоматику в виде внезапно возникающих эпизодов учащенного сердцебиения имели все пациенты с синдромом WPW и АВУРТ. Пациенты с ЖА характеризовались наличием лекарственно устойчивой желудочковой экстрасистолии (ЖЭС) с эктопической активностью, превышающей 15%, в том числе сопровождающейся эпизодами неустойчивой желудочковой тахикардии. Все включенные в исследование пациенты имели первый функциональный класс сердечной недостаточности, оцененный в соответствии с классификацией Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA).

Критериями исключения из исследования служило наличие у пациентов врожденных пороков сердца, острых инфекционных и обострение хронических заболеваний, лабораторных признаков миокардита и первичных электрических заболеваний миокарда.

При определении показаний к выполнению РЧА руководствовались национальными рекомендациями и рекомендациями Американской и Европейской ассоциаций аритмологов и детских кардиологов [13, 14].

В начале госпитализации всем пациентам выполняли общеклинические обследования, включающие сбор анамнеза, жалоб, объективное обследование ребенка, электрокардиографию (ЭКГ) в 12 отведениях, суточное холтеровское мониторирование ЭКГ (ХМ-ЭКГ), эхокардиографию сердца (ЭхоКГ). В группах подростков с аритмиями ЭКГ, ХМ-ЭКГ и ЭхоКГ проводили повторно через 3 сут после выполнения РЧА. По результатам ХМ-ЭКГ оценивали следующие параметры: максимальную, минимальную и

среднюю частоту сердечных сокращений (ЧСС) в течение 1 сут, общее количество наджелудочковых и желудочковых экстрасистол.

Пациентам с НРС перед проведением РЧА и через 3 сут после ее выполнения проводили забор крови для определения показателя β -АРМ эритроцитов. В контрольной группе забор образцов крови проводили 1 раз на этапе включения в исследование.

Определение β -АРМ эритроцитов в образцах крови выполняли с использованием набора реагентов БЕТА-АРМ АГАТ (ООО «АГАТ», Россия). Метод основан на факте повышения осмотической стойкости эритроцитов (торможения гемолиза) в гипосмотическом буфере в присутствии β -адреноблокатора 1-(1-изопропиламино)-3-(1-нафталенил-окси)-2-пропанол гидрохлорида.

Степень торможения гемолиза, выраженную в процентах, определяли по отношению величин оптической плотности надосадочной жидкости в пробе с внесением β -адреноблокатора в среду инкубации (опытная проба) к оптической плотности надосадочной жидкости в пробе без внесения β -адреноблокатора в среду инкубации (контрольная проба). Единицы процентов торможения гемолиза принимали за условные единицы (усл. ед.) показателя β -АРМ эритроцитов. Референсными значениями служили рекомендуемые производителем набора величины показателя β -АРМ эритроцитов в пределах от 2 до 20 усл. ед. При этом значения β -АРМ эритроцитов более 20 усл. ед. являются показателем увеличения степени гемолиза эритроцитов и свидетельствуют о снижении адренореактивности в результате десенсилизации адренорецепторов мембран эритроцитов в ответ на стойкое повышение активности симпатoadреналовой системы.

Статистическая обработка полученных данных была выполнена с использованием программы Statistica 10. Качественные данные представлены в виде абсолютных и относительных величин n (%). Различие частот в независимых группах пациентов определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона. Анализ количественных данных на соответствие нормальному закону распределения проводили с использованием критерия Шапиро – Уилка. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. В связи с тем, что распределение количественных показателей было отлично от нормального, оценку статистической значимости различий количественных данных в трех и более независимых группах проводили с помощью рангового критерия Краскела – Уоллиса. При обнаружении статистически значимых различий

между группами проводили апостериорные сравнения. Сравнение зависимых данных в отдельных нозологических группах выполняли с использованием критерия Вилкоксона. Статистически значимыми различия считались при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены клинично-демографические характеристики выборки подростков с учетом особенности НРС. Видно, что сформированные группы не имели статистически значимых различий по возрасту, половому составу, массе тела и росту. Продолжительность аритмологического анамнеза во всех группах составляла от 1 года до 2 лет. При обработке результатов ХМ-ЭКГ не было выявлено значимых различий среднесуточной, минимальной и максимальной ЧСС между исследуемыми группами подростков с НРС и контролем. У пациентов с суправентрикулярными нарушениями ритма были зафиксированы единичные наджелудочковые и желудочковые экстрасистолы. Для пациентов в группе с ЖА было характерно наличие большого количества ЖЭС на фоне единичных наджелудочковых.

Выполнение исследования ЭхоКГ не показало значимых различий параметров сердца между пациентами в группах с аритмиями и здоровыми подростками по значениям конечно-диастолического объема (КДО) левого желудочка (ЛЖ), фракции выброса (ФВ) ЛЖ, объема левого предсердия (ЛП) и правого предсердия (ПП).

Результаты, полученные при определении показателя β -АРМ эритроцитов, представлены в табл. 2. Оказалось, что на этапе включения в исследование у подростков групп с феноменом ВПВ, синдромом ВПВ и АВУТ показатели имели близкие величины и значимо не отличались от значения в группе контроля. Напротив, для группы подростков с ЖА были выявлены исходно высокие показатели β -АРМ эритроцитов. В этой группе пациентов β -АРМ эритроцитов значимо превышала показатель в группе контроля ($p = 0,026$). В то же время статистически значимой разницы между показателями β -АРМ эритроцитов в группах с суправентрикулярными нарушениями ритма и в группе с ЖА не выявлено.

Проведение РЧА у подростков в группах с синдромом ВПВ, феноменом ВПВ и АВУТ практически не повлияло на величину показателя β -АРМ эритроцитов на 3-и сут после РЧА (см. табл. 2). Напротив, в группе детей с ЖА выполнение РЧА привело к увеличению β -АРМ эритроцитов. Так, на 3-и сут после РЧА показатель значимо увеличился ($p = 0,028$).

Таблица 1

Клинико-инструментальная характеристика пациентов						
Показатель	Группы пациентов					p
	ВПВ		АВУТ	ЖА	Контроль	
	феномен	синдром				
Общее количество пациентов, n	28		10	11	11	0,200
Мужской пол, n (%)	15	13				
Женский пол, n (%)	11 (73,3)	8 (61,5)	2 (20,0)	6 (54,5)	6 (50,0)	
Возраст, лет, Me [Q ₁ ; Q ₃]	4 (26,7)	5 (38,5)	8 (80,0)	5 (45,5)	6 (50,0)	
Масса тела, кг, Me [Q ₁ ; Q ₃]	13 [10; 15]	14 [10; 14]	14,5 [13; 15]	13 [11; 15]	14 [12; 16]	0,754
Рост, см, Me [Q ₁ ; Q ₃]	52 [38; 60]	51 [39; 60]	56 [40; 63]	54 [33; 61]	58 [43; 71]	0,880
ИМТ, кг/м ² , Me [Q ₁ ; Q ₃]	164 [140; 172]	165 [149; 172]	160 [156; 172]	160 [144; 167]	170 [151; 179]	0,997
Функциональный класс (НУНА) I-IV, n (%)	19,7 [16,7; 22,1]	19,4 [16,6; 20,3]	19,7 [16,3; 23,0]	19,2 [15,4; 23,7]	20,6 [17,9; 21,6]	0,991
Возраст выявления НРС, лет, Me [Q ₁ ; Q ₃]	I, 15 (100,0)	I, 13 (100,0)	I, 10 (100,0)	I, 11 (100,0)	–	–
Продолжительность аритмологического анамнеза, лет, Me [Q ₁ ; Q ₃]	12 [7; 13]	8 [6; 12]	13 [10; 15]	11 [11; 13]	–	0,119
Прием лекарственных препаратов, n (%)*	1 [0; 2]	2 [1; 6]	1 [0; 1,75]	1 [1; 2]	–	0,875
<i>Данные суточного мониторинга ЭКГ</i>						
Среднесуточная ЧСС, уд/мин, Me [Q ₁ ; Q ₃]	1 (6,66)	2 (15,38)	1 (10,0)	2 (18,18)	–	0,815
Среднесуточная ЧСС, уд/мин, Me [Q ₁ ; Q ₃]	77 [75; 90]	82 [69; 87]	84 [75; 87]	81 [75; 93]	74 [69; 81]	0,938
Минимальная ЧСС, уд/мин, Me [Q ₁ ; Q ₃]	50 [48; 54]	50 [44; 54]	51 [47; 54]	51 [45; 54]	42 [40; 53]	0,564
Максимальная ЧСС, уд/мин, Me [Q ₁ ; Q ₃]	151 [147; 165]	152 [140; 163]	161 [153; 165]	158 [157; 163]	153 [129; 178]	0,461
Общее количество НЖЭС исходно	единичная	единичная	единичная	единичная	–	–
Общее количество ЖЭС исходно, Me [Q ₁ ; Q ₃]	единичная	единичная	единичная	18395,0 [12066,0; 36871,0]	–	–
Особенности морфологии QRS при ХМ-ЭКГ	Деформация из-за постоянной/преходящей преэкситации	Деформация из-за постоянной/преходящей преэкситации	–	–	–	–
<i>Эхокардиографические параметры</i>						
КДО, мл, %**, Me [Q ₁ ; Q ₃]	77 [57; 89], 103 [96; 105]	78 [62; 90], 101 [97; 109]	79 [69; 94], 100 [94; 104]	75 [51; 96], 104 [91; 115]	94 [67; 99], 103 [96; 109]	0,816 0,847
ФВ ЛЖ (в), %, Me [Q ₁ ; Q ₃]	65 [63; 67]	65 [63; 67]	63,5 [63; 65]	63 [62; 64]	66 [66; 68]	0,375
Объем ЛП, мл, %**, Me [Q ₁ ; Q ₃]	33 [19; 38], 102 [96; 118]	33 [25; 42], 101 [93; 102]	37 [28; 41], 105 [99; 108]	33 [21; 380], 99,1 [94; 109]	38 [22; 39], 98 [93; 106]	0,943 0,457
Объем ПП, мл, %**, Me [Q ₁ ; Q ₃]	30 [21; 34], 105 [100; 117]	31 [19; 39], 103 [102; 117]	34 [28; 40], 112 [107; 119]	31 [21; 40], 108 [95; 119]	29 [19; 41], 105 [103; 113]	0,949 0,722

* прием лекарственных препаратов на момент госпитализации, в том числе по сопутствующей патологии; ** процентное выражение параметра от индивидуальной прогнозируемой нормы.

Таблица 2

Показатели β-АРМ у подростков с желудочковыми и суправентрикулярными аритмиями до и после РЧА, усл. ед., Me [Q ₁ ; Q ₃]					
Показатель	Группа контроля (здоровые дети), n = 11	Феномен ВПВ, n = 15	Синдром ВПВ, n = 13	Атриовентрикулярная узловатая реципрокная тахикардия, n = 10	Желудочковая аритмия, n = 11
β-АРМ до РЧА	13,1 [8,8; 16,5]	17,6 [13,3; 22,6] p ₁ = 0,192	16,1 [11,5; 18,2] p ₁ = 0,600	15,5 [12,9; 27,7] p ₁ = 0,465	19,01 [14,3; 21,7] p ₁ = 0,026
β-АРМ после РЧА	–	18,6 [13,2; 22,8] p ₂ = 0,886	16,2 [9,7; 17,9] p ₂ = 0,661	14,6 [10,1; 30,8] p ₂ = 1,000	29,6 [23,2; 31,7] p ₂ = 0,028

Примечание. Уровень значимости различий показателя в группе до РЧА с контрольной группой – p₁, уровень значимости различий показателя в группе до и после проведения РЧА – p₂.

ОБСУЖДЕНИЕ

Возникновение и развитие аритмий в детском и подростковом возрасте в большинстве случаев не связаны с органическими изменениями сердца, что вызывает затруднение в определении их этиологии и патогенеза. Функционирование проводящей системы сердца находится под контролем ВНС. Широкое применение в клинической практике получил метод исследования variability сердечного ритма, позволяющий судить об активности симпатического и парасимпатического звеньев ВНС. В то же время данный метод имеет серьезное ограничение применения у пациентов с экстрасистолическими нарушениями высокой эктопической активности.

В настоящее время доказано присутствие на мембранах эритроцитов α -, β 1- и β 2-адренорецепторов [15, 16]. Это обстоятельство позволяет считать, что показатель β -АРМ эритроцитов может отражать адренореактивность организма в целом. Убедительно показано, что увеличение содержания в крови катехоламинов сопровождается десенситизацией адренорецепторов и снижением ответа регулируемых органов на стимулирующее влияние нейроморфонов [11, 17, 18]. Исследуется информативность показателя β -АРМ эритроцитов при лечении НРС у пациентов взрослой возрастной группы [11, 12]. В то же время работ, посвященных изучению показателя β -АРМ эритроцитов при НРС у подростков, в том числе после выполнения РЧА, мы не встретили.

На момент включения в исследование сформированные группы были сопоставимыми по антропометрическим показателям, возрасту выявления НРС и продолжительности аритмологического анамнеза. Эхокардиографические показатели так же достоверно не различались между группами. При рассматриваемой продолжительности аритмологического анамнеза наличие суправентрикулярных аритмий не сопровождалось изменением β -АРМ эритроцитов относительно группы здорового контроля. У подростков с ЖА показатель β -АРМ эритроцитов оказался значимо выше, чем в группе контроля.

Проведение РЧА в группах подростков с суправентрикулярными аритмиями не приводило к изменениям показателя β -АРМ эритроцитов. В то же время хирургическое лечение ЖА сопровождалось значимым увеличением β -АРМ эритроцитов на 3-и сут после операции относительно исходных значений в группе. Повышение β -АРМ свидетельствует о десенситизации β -АРМ эритроцитов в ответ на повышенное стимулирующее воздействие медиаторов симпатической нервной системы. Полученные результаты позволяют говорить о вкладе симпати-

ческой нервной системы в этиопатогенез ЖА и повышение ее функционального напряжения в раннем послеоперационном периоде.

У детей с суправентрикулярными нарушениями ритма морфофункциональным субстратом аритмий служат аномалии эмбрионального развития проводящей системы сердца. Поэтому возникновение в предсердиях аритмогенного очага в первые 6 мес после рождения может быть связано с его эмбриональным источником. В то же время ряд исследователей отмечают, что можно предположить связь нарушений ритма с особенностями постнатального развития проводящей системы сердца даже при отсутствии явных врожденных аномалий [19]. Изучение электрофизиологических характеристик атриовентрикулярного узла и дополнительных проводящих путей при проведении чреспищеводной электрокардиографии и электрокардиостимуляции в группах подростков с синдромом или феноменом ВПВ позволило установить высокую степень ваготонии у подростков с феноменом ВПВ [20]. Это служит косвенным подтверждением результатов нашего исследования об отсутствии напряжения симпатического звена вегетативной нервной системы и десенситизации β -АРМ у подростков с суправентрикулярными аритмиями до и после выполнения РЧА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для подростков с ЖА показано значимое повышение показателя β -АРМ эритроцитов до выполнения РЧА, что свидетельствует о напряжении симпатического звена ВНС. Значимое повышение β -АРМ эритроцитов в раннем послеоперационном периоде свидетельствует о дальнейшем повышении активности симпатического звена, что сопровождается дальнейшей десенситизацией β -АРМ. Симпатический отдел вегетативной нервной системы занимает существенное место в патогенезе желудочковых аритмий у подростков.

Суправентрикулярные аритмии (синдром и феномен ВПВ, АВУТ), возникшие в подростковом возрасте, не сопровождаются значимым увеличением показателя β -АРМ эритроцитов относительно группы здорового контроля. Выполнение РЧА у данной категории пациентов не приводило к значимым изменениям адренореактивности эритроцитов.

Выполненное исследование показало возможность использования показателя β -АРМ эритроцитов для оценки состояния симпатической нервной системы у категории пациентов с методическими ограничениями анализа variability сердечного ритма.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Janson C.M., Millenson M.E., Okunowo O., Dai D., Christmyer Z., Tan R.B. et al. Incidence of life-threatening events in children with Wolff-Parkinson-White syndrome: Analysis of a large claims database. *Heart Rhythm*. 2022;19(4):642–647. DOI: 10.1016/j.hrthm.2021.12.009.
- Alken F.A., Scherschel K., Zhu E., Kahle A.K., Meyer C. Langzeitergebnisse der Katheterablation bei AV-Knoten-Reentry-Tachykardien und akzessorischen Leitungsbahnen [Long-term results of catheter ablation for AV nodal reentry tachycardias and accessory pathways]. *Herzschrittmacherther Elektrophysiol*. 2023;34(4):278–285. (In Germ.). DOI: 10.1007/s00399-023-00965-0.
- Школьникова М. А. Детская кардиология в России на рубеже столетий. *Вестник аритмологии*. 2000;18:15–19.
- Елисеева О.В. Клинико-функциональная характеристика детей с желудочковыми аритмиями в зависимости от локализации эктопического очага. *Вестник аритмологии*. 2021;4(106):15–23. DOI: 10.35336/VA-2021-4-15-23.
- Сайфуллаева Д.В. Нарушения ритма сердца у детей. *Вестник экстренной медицины*. 2017;1:119–125.
- Bücking C., Michaelis A., Markel F., Weidenbach M., Dähnert I., Gebauer R.A. et al. Evaluation of Clinical Course and Maintenance Drug Treatment of Supraventricular Tachycardia in Children During the First Years of Life. A Cohort Study from Eastern Germany. *Pediatr. Cardiol*. 2022;43(2):332–343. DOI: 10.1007/s00246-021-02724-9.
- Pilmer C.M., Kirsh J.A., Hildebrandt D., Krahn A.D., Gow R.M. Sudden cardiac death in children and adolescents between 1 and 19 years of age. *Heart Rhythm*. 2014;11(2):239–245. DOI: 10.1016/j.hrthm.2013.11.006.
- Xinxing S., Jie Z., Lu Z., He B. The efficacy and safety of radiofrequency catheter ablation for cardiac arrhythmias in pediatric patients. *Heart Surg. Forum*. 2020;23(2):E114–E117. DOI: 10.1532/hcf.2837.
- Плотникова И.В., Афанасьев С.А., Перевозникова Ю.Е., Свинцова Л.И., Реброва Т.Ю., Джаффарова О.Ю. Вклад вегетативной нервной системы в формирование нарушений ритма сердца в детском возрасте (обзор литературы). *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2023;38(2):23–29. DOI: 10.29001/2073-8552-2023-38-2-23-29.
- Баранов А.А., Васичкина Е.С., Ильдарова Р.А., Лебедев Д.С., Намазова-Баранова Л.С., Покушалов Е.А. и др. Желудочковая экстрасистолия у детей. *Педиатрическая фармакология*. 2018;15(6):435–446. DOI: 10.15690/pf.v15i6.1981.
- Atabekov T.A., Batalov R.E., Rebrova T.Y., Krivolapov S.N., Muslimova E.F., Khlynin M.S. et al. Ventricular tachycardia incidence and erythrocyte membranes β -adrenoreactivity in patients with implanted cardioverter-defibrillator. *Pacing and Clinical Electrophysiology*. 2022;45(4):452–460. DOI: 10.1111/pace.14479.
- Арчаков Е.А., Баталов Р.Е., Эшматов О.Р., Степанов И.В., Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю. и др. Эффективность катетерного лечения фибрилляции предсердий у пациентов с миокардитом в зависимости от адренореактивности организма (проспективное одноцентровое исследование). *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2023;78(2):151–159. DOI: 10.15690/vramn8334.
- Клинические рекомендации по проведению электрофизиологических исследований, катетерной абляции и применению имплантируемых антиаритмических устройств; 3-е изд., доп. и перераб. М.: МАКС-Пресс; 2013:596.
- Philip Saul J., Kanter R.J.; WRITING COMMITTEE; Abrams D., Asirvatham S., Bar-Cohen Y., Blafox A.D. et al. PACES/HRS expert consensus statement on the use of catheter ablation in children and patients with congenital heart disease: Developed in partnership with the Pediatric and Congenital Electrophysiology Society (PACES) and the Heart Rhythm Society (HRS). Endorsed by the governing bodies of PACES, HRS, the American Academy of Pediatrics (AAP), the American Heart Association (AHA), and the Association for European Pediatric and Congenital Cardiology (AEPCC). *Heart Rhythm*. 2016;13(6):e251–289. DOI: 10.1016/j.hrthm.2016.02.009.
- Bree F., Gault I., d’Athis P., Tillement J.P. Beta adrenoceptors of human red blood cells, determination of their subtypes. *Biochem. Pharmacol*. 1984;33(24):4045–4050. DOI: 10.1016/0006-2952(84)90019-4.
- Крысова А.В., Куншин А.А., Циркин В.И. Роль альфа- и бета-адренорецепторов в реализации способности адреналина изменять осмотическую резистентность эритроцитов небеременных женщин. *Вятский медицинский вестник*. 2011;3-4:8–13.
- Ali D.C., Naveed M., Gordon A., Majeed F., Saeed M., Ogbuke M.I. et al. β -Adrenergic receptor, an essential target in cardiovascular diseases. *Heart Fail. Rev*. 2020;25(2):343–354. DOI: 10.1007/s10741-019-09825-x.
- Гарганеева А.А., Александренко В.А., Кужелева Е.А., Реброва Т.Ю. Бета-адренореактивность эритроцитов и прогрессирование хронической сердечной недостаточности у пациентов, перенесших инфаркт миокарда. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(1):20–25. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-1-3407.
- Кручина Т.К., Васичкина Е.С., Егоров Д.Ф., Татарский Б.А. Проводящая система сердца у детей: структурные особенности и роль в формировании нарушений ритма сердца. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2011;6:30–36.
- Сторожаков Г.И., Кисляк О.А., Явлюхин А.А. Электрофизиологические характеристики синдрома Вольфа – Паркинсона – Уайта у подростков. *Российский кардиологический журнал*. 2001;4:21–25.

Вклад авторов

Реброва Т.Ю. – анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Перевозникова Ю.Е. – сбор и обработка клинического материала, статистический анализ данных исследования. Свинцова Л.И. – разработка дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания. Муслимова Э.Ф. – обработка биологического материала, анализ и интерпретация

данных. Афанасьев С.А. – разработка концепции и дизайна исследования, окончательное утверждение для публикации рукописи. Джаффарова О.Ю. – подбор и включение в исследование пациентов, подписание информированного согласия, сбор и обработка клинического материала.

Информация об авторах

Реброва Татьяна Юрьевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, rebrova@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3667-9599>

Перевозникова Юлия Евгеньевна – мл. науч. сотрудник, отделение детской кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, jep@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5352-1323>

Муслимова Эльвира Фаритовна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, muslimova@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7361-2161>.

Свинцова Лилия Ивановна – д-р мед. наук, рук. отделения детской кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, lis@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2056-4060>

Афанасьев Сергей Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Томский НИМЦ, г. Томск, tursky@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6066-3998>

Джаффарова Ольга Юрьевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение детской кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, oyd@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3947-4903>

(✉) **Реброва Татьяна Юрьевна**, rebrova@cardio-tomsk.ru

Поступила в редакцию 21.02.2024;
одобрена после рецензирования 08.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616.98:578.834.1]-06:616.24-008.7-092
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-91-98>

Решающее правило для выявления пациентов с высоким риском нарушения диффузионной способности легких после перенесенного COVID-19

Савушкина О.И.^{1,2}, Муравьева Е.С.³, Житарева И.В.³, Давыдов Д.В.¹, Крюков Е.В.⁴

¹ Главный военный клинический госпиталь (ГВКГ) им. акад. Н.Н. Бурденко
Россия, 105229, г. Москва, Гостеприимная пл., 3

² Научно-исследовательский институт (НИИ) пульмонологии
Россия, 115682, г. Москва, Ореховый бульвар, 28

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

⁴ Военно-медицинская академия (ВМА) им. С.М. Кирова
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

РЕЗЮМЕ

Цель – построение решающего правила для определения наиболее важных предикторов нарушения диффузионной способности легких после перенесенного COVID-19 (Coronavirus disease 2019) с вирус-ассоциированным поражением легких.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включен 341 пациент без бронхолегочной патологии в анамнезе (медиана возраста 48 лет) после перенесенного COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких. Медиана объема поражения легочной ткани в острый период COVID-19 ($KT_{\text{макс}}$) в общей группе составила 50%. Выполнены спирометрия, бодиплетизмография, диффузионный тест (измерение трансфер-фактора монооксида углерода, DLco). Анализ данных проведен с помощью описательной статистики, корреляционного анализа, одномерного логистического регрессионного анализа с оценкой отношений шансов (ОШ) и многофакторного логистического регрессионного анализа. Для оценки качества модели бинарного классификатора использовался ROC-анализ (receiver operating characteristic analysis).

Результаты. В многофакторный логистический регрессионный анализ снижения DLco (<80% от должного значения) изначально были включены следующие предикторы: $KT_{\text{макс}}$ временной интервал от начала COVID-19, пол, возраст, индекс массы тела. С помощью логистического регрессионного анализа с последовательным исключением наименее значимых предикторов получена модель бинарного классификатора, единственным значимым предиктором в которой стал показатель $KT_{\text{макс}}$. Чувствительность и специфичность полученной модели на обучающей выборке составили 80 и 67% соответственно, на тестовой выборке – 79 и 70% соответственно. Анализ ОШ для полученной модели бинарного классификатора показал, что ОШ > 1 наблюдается при $KT_{\text{макс}} > 40\%$.

Заключение. Получено решающее правило для прогнозирования снижения показателя DLco после перенесенного COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких у пациентов без бронхолегочной патологии в анамнезе. Показано, что пациентам с $KT_{\text{макс}} > 40\%$ требуется более тщательное клиническое наблюдение с обязательным контролем показателя DLco после окончания острой фазы COVID-19.

Ключевые слова: нарушение диффузионной способности легких, легочные функциональные методы исследования, модель бинарного классификатора, COVID-19

✉ Савушкина Ольга Игоревна, olga-savushkina@yandex.ru

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

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

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали информированное согласие. Протокол исследования одобрен независимым этическим комитетом ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко (протокол № 04-22 от 20.04.2022).

Для цитирования: Савушкина О.И., Муравьева Е.С., Житарева И.В., Давыдов Д.В., Крюков Е.В. Решающее правило для выявления пациентов с высоким риском нарушения диффузионной способности легких после перенесенного COVID-19. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):91–98. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-91-98>.

A decision rule for identifying patients at high risk for impaired lung diffusion capacity after COVID-19

Savushkina O.I.^{1,2}, Muraveva E.S.³, Zhitareva I.V.³, Davydov D.V.¹, Kryukov E.V.⁴

¹Main Military Clinical Hospital named after academician N. N. Burdenko of the Russian Defense Ministry
3, Gospitalnaya Sq., Moscow, 105229, Russian Federation

²Pulmonology Research Institute
28, Orekhovy Boulevard, Moscow, 115682, Russian Federation

³Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation

⁴Military Medical Academy
6, Akademika Lebedeva Str., Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To elaborate a decision rule for identifying the main predictors of impaired lung diffusion capacity after COVID-19.

Materials and methods. The retrospective study included 341 patients without underlying lung diseases (median age 48 years) who experienced COVID-19 with bilateral pneumonia. The median extent of parenchymal lesion in the acute phase of COVID-19 (CT_{max}) was 50%. Spirometry, body plethysmography, and lung diffusion capacity for carbon monoxide (DLCO) test were performed. The data were analyzed by descriptive statistics, correlation analysis, one-dimensional logistic regression analysis with an assessment of odds ratios (OR), and multivariate logistic regression analysis. Receiver operating characteristic (ROC) analysis was used to assess the quality of the binary classifier model.

Results. The initial model for predicting reduced DLCO (< 80% of predicted) included the following predictors: CT_{max} , time interval from the COVID-19 onset, gender, age, body mass index. Backward stepwise regression was applied, and a binary classifier model that includes CT_{max} was obtained. The sensitivity and specificity of the model for the training sample were 80 and 67%, respectively, for the test sample – 79 and 70%, respectively. The analysis of OR showed that $OR > 1$ was observed at $CT_{max} > 40\%$.

Conclusion. The decision rule was obtained for predicting impaired lung diffusion capacity after COVID-19 with virus-associated lung damage in patients without underlying bronchopulmonary diseases. Patients with $CT_{max} > 40\%$ require more thorough clinical follow-up with DLCO monitoring after the acute phase of COVID-19.

Keywords: impaired lung diffusion capacity, pulmonary function tests, binary classifier model, COVID-19

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 study participants signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at the Main Military Clinical Hospital named after academician N. N. Burdenko (Protocol No. 04-22 of 20.04.2022).

For citation: Savushkina O.I., Muraveva E.S., Zhitareva I.V., Davydov D.V., Kryukov E.V. A decision rule for identifying patients at high risk for impaired lung diffusion capacity after COVID-19. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):91–98. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-91-98>.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема функциональных нарушений, обусловленных новой коронавирусной инфекцией, остается актуальной и в настоящее время. Результаты предыдущих исследований показали, что наиболее частым функциональным отклонением бронхолегочной системы является нарушение диффузии газов в легких (ДЛ) [1–5] как следствие диффузного альвеолярного повреждения и тромбоза легочных капилляров [6–8]. Наблюдение за пациентами, перенесшими COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких, показало, что актуальным является выделение пациентов с большой вероятностью нарушения ДЛ в постковидном периоде, в особенности с учетом действующих ограничений по проведению функциональных исследований системы дыхания в период пандемии COVID-19 [9].

Цель настоящего исследования – построение решающего правила для определения наиболее важных предикторов нарушения ДЛ после перенесенного COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное исследование 341 пациента, которые перенесли COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких. Были проанализированы демографические данные, максимальный объем поражения легочной ткани в острый период COVID-19 по данным компьютерной томографии органов грудной клетки высокого разрешения (КТ_{макс}), временной интервал от начала COVID-19 (табл. 1). Легочные функциональные методы (ЛФМ) исследования включали спирометрию, бодиплетизмографию и диффузионный тест. Были проанализированы: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ); объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁); спокойная жизненная емкость легких (ЖЕЛ); отношение ОФВ₁/ЖЕЛ; общая емкость легких (ОЕЛ); показатель диффузионной способности легких по монооксиду углерода, скорректированный на уровень гемоглобина (DL_{CO}) (табл. 2). Легочные функциональные методы исследования были

выполнены у 64,8% (221/341) пациентов в период до 90 сут, 23,5% (80/341) пациентов – в период 90–180 сут, 11,7% (40/341) пациентов – в период более 180 сут от начала COVID-19.

Таблица 1

Характеристика исследуемой группы, n = 341	
Показатель	Значение
Пол (мужчины), n (%)	262 (76,8)
Возраст, лет, Me (Q ₁ –Q ₃)	48 (41,5–57)
ИМТ, кг/м ² , Me (Q ₁ –Q ₃)	29,9 (27–32,5)
Индекс курения, пачка/лет, Me (Q ₁ –Q ₃)	0 (0–5,13)
КТ _{макс} , %, Me (Q ₁ –Q ₃)	50 (31–75)
Временной интервал от начала COVID-19	
<90 сут, n (%)	221 (64,8)
90–180 сут, n (%)	80 (23,5)
>180 сут, n (%)	40 (11,7)

Примечание. ИМТ – индекс массы тела.

Все исследования проведены с учетом требований отечественных и международных стандартов [10–12]. Анализируемые данные были представлены в процентах от должных значений (%долж.). Должные величины рассчитывались с использованием референсных уравнений Европейского общества угля и стали (ECCS 1993) [13, 14]. За нижнюю границу нормы (НГН) принимались значения 80% от должного.

Таблица 2

Показатели легочной вентиляции и диффузионной способности легких после перенесенного COVID-19, n = 341	
Показатель	Значение
ЖЕЛ, %долж., Me (Q ₁ –Q ₃)	102 (87–111)
ЖЕЛ < НГН, n (%)	63 (18,5)
ФЖЕЛ, %долж., Me (Q ₁ –Q ₃)	103 (88–114,2)
ОФВ ₁ , %долж., Me (Q ₁ –Q ₃)	101 (89–113)
ОФВ ₁ < НГН, n (%)	58 (17)
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %, Me (Q ₁ –Q ₃)	80,3 (76,4–84,3)
ОФВ ₁ /ЖЕЛ < 70%, n (%)	25 (7,3)
ОЕЛ, %долж., Me (Q ₁ –Q ₃)	98 (83,2–108)
ОЕЛ < НГН, n (%)	68 (19,9)
DL _{CO} , %долж., Me (Q ₁ –Q ₃)	75 (61,7–88,3)
DL _{CO} < НГН, n (%)	206 (60,4)

Анализ данных был выполнен с помощью описательной статистики и многофакторного логистического регрессионного анализ с использованием программ SPSS 21 и MS Excel 2016. Количественные данные, распределение которых отличалось от нормального закона, описывались с использованием медианы и межквартильного размаха $Me (Q_1-Q_3)$, для сравнения двух независимых выборок применялся критерий Манна – Уитни. Описание качественных (номинативных) данных производилось путем расчета долей признаков в общей структуре с последующим выражением в процентах (%), оценка различий осуществлялась с использованием критерия χ^2 с поправкой Йетса или точного критерия Фишера. Взаимосвязь между признаками была изучена с помощью частной корреляции. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ (p – достигнутый уровень значимости). Для оценки рисков патологических отклонений показателей проводился одномерный логистический регрессионный анализ с оценкой отношения шансов (ОШ).

При построении модели бинарного классификатора для прогнозирования снижения DLco был использован многофакторный логистический регрессионный анализ. Решающее правило для прогнозирования снижения DLco было построено на обучающей выборке. Для этого общая выборка была разделена с помощью генератора случайных чисел в соотношении 3 : 1 на обучающую и тестовую (валидационную). На обучающей выборке были получены коэффициенты уравнения логистической регрессии.

Z – уравнение регрессии, имеющее вид:

$$Z = \alpha_0 + \alpha_1 x_1 + \dots + \alpha_n x_n,$$

$\alpha_0, \alpha_1, \dots, \alpha_n$ – параметры модели (коэффициенты), x_1, \dots, x_n – предикторы. P – вероятность снижения DLco, где $P = \frac{1}{1+e^{-z}}$.

Логистическая регрессия прогнозировала снижение DLco при значении Z больше или равно 0, и

сохранение DLco в пределах нормы, если значение $Z < 0$.

Для оценки качества модели бинарного классификатора и нахождения оптимального порога разделения объектов на классы была проведена процедура ROC-анализа. Критерием выбора порога отсечения было требование максимальной суммы чувствительности и специфичности. Способность созданной модели распознавать наличие или отсутствие патологического отклонения DLco оценивали по величине AUC (an area under a curve – площадь под кривой) и отличию ROC-кривой от диагональной опорной линии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Принимая во внимание результаты предыдущих исследований, а именно выявление умеренной обратной корреляционной зависимости между показателями DL_{CO} и КТ_{макс} [3, 15] и уменьшение частоты снижения DL_{CO} по мере увеличения временного интервала от начала COVID-19 [4, 5], было принято решение разделить общую группу на две. Группа 1 – 39,6% (135/341) пациентов, у которых показатель DL_{CO} сохранялся в пределах нормальных значений, группа 2 – 60,4% (206/341) пациентов, у которых показатель DL_{CO} был снижен, и проанализировать величину DL_{CO} в зависимости от величины КТ_{макс}, временного интервала от начала COVID-19 (Т), пола, возраста и индекса массы тела (ИМТ) (табл. 3).

Из данных табл. 3 следует, что статистически значимо в зависимости от величины показателя DL_{CO} (норма или снижен) группы различались по временному интервалу от начала COVID-19 (был меньше в группе 2), а также по величине КТ_{макс} (была больше в группе 2). По полу, возрасту и ИМТ между группами различий не выявлено. Коэффициент частной корреляции продемонстрировал значимую отрицательную корреляционную связь DLco и КТ_{макс} ($r = -0,601$; $p < 0,01$) при фиксированных значениях временного интервала от начала COVID-19, половой принадлежности, возраста, ИМТ (рис. 1).

Таблица 3

Характеристика пациентов в зависимости от величины показателя DL _{CO} , Me (Q ₁ -Q ₃)			
Показатель	Группа 1 DLco ≥ 80%долж. N = 135/341 (39,6%)	Группа 2 DL _{CO} < 80%долж. N = 206/341 (60,4%)	p
Пол (мужчины/женщины), n (%)	107 (79,3) / 28 (20,7)	155 (75,2) / 51 (24,8)	0,467 ¹
Возраст, лет	47 (40–58)	49 (43–57)	0,539 ²
ИМТ, кг/м ²	29,7 (26,9–32,3)	30 (27–33)	0,579 ²
Т, дни	81 (42–145)	39,5 (27–93)	<0,001 ²
КТ _{макс} , %	35 (25–52)	70 (48–80)	<0,001 ²

Примечание. Т – временной интервал от начала COVID-19 до проведения ЛФМ исследования; p – достигнутый уровень значимости (полу жирным выделены значения p -признаков, имеющих статистически значимые различия).

¹ критерий χ^2 с поправкой Йетса; ² критерий Манна – Уитни.

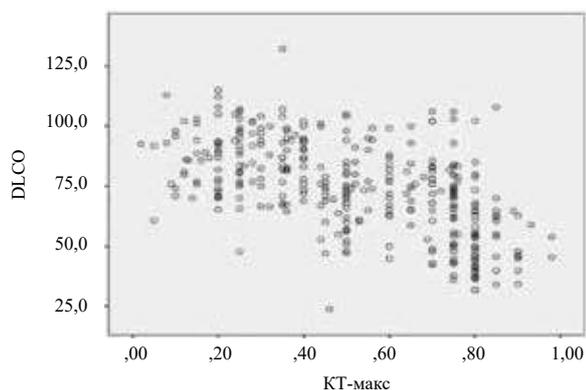


Рис. 1. Корреляционный анализ связи DLco и KT_{\max} (частная корреляция, $r = -0,601$; $p < 0,01$)

Далее было проведено построение решающего правила для выявления пациентов с высоким риском нарушения ДЛ после перенесенного COVID-19. Для этого общая группа пациентов была разделена в соотношении 3 : 1 для обучения ($n = 252$) и тестирования ($n = 89$). В качестве предикторов были выбраны возраст, пол, ИМТ и показатели, имеющие статистически значимую связь со снижением показателя DLco (KT_{\max} и T). В результате проведенного анализа получено уравнение регрессии:

$$Z = -1,279 + 0,05 \times x_1 - 0,004 \times x_2 - 0,046 \times x_3 + 0,017 \times x_4 + 0,653 \times x_5 \quad (1),$$

где x_1, x_2, x_3, x_4, x_5 – входные параметры модели (предикторы): x_1 – KT_{\max} (%), x_2 – временной интервал между началом COVID-19 и проведением ЛФМ исследования (сут); x_3 – ИМТ ($кг/м^2$), x_4 – возраст (лет), x_5 – логистическая константа, кодирующая пол: 1 – мужской, 0 – женский. Результаты проведенной классификации представлены в табл. 4.

Из табл. 4 следует, что чувствительность, специфичность и точность для обучающей выборки при использовании уравнения 1 составили 82,5%, 61,2 и 74,2% соответственно.

Далее была проведена процедура логистической регрессии с пошаговым исключением наименее значимых предикторов. В результате из модели были исключены такие предикторы, как пол, возраст, ИМТ, и получено следующее уравнение регрессии:

$$Z = -1,564 + 0,046 \times x_1 - 0,003 \times x_2 \quad (2),$$

где x_1 – KT_{\max} (%), x_2 – временной интервал от начала COVID-19 до проведения ЛФМ исследования (сут).

Результаты классификации, полученные на данном этапе, представлены в табл. 5.

Таблица 4

Результаты классификации на обучающей выборке (предикторы: KT_{\max} , временной интервал от начала COVID-19, возраст, пол, ИМТ)			
Показатель	$DL_{CO} \geq 80\%$ долж., n (прогнозируемые)	$DL_{CO} < 80\%$ долж., n (прогнозируемые)	Правильно отнесенные, %
$DL_{CO} \geq 80\%$ долж., n	60	38	61,2
$DL_{CO} < 80\%$ долж., n	27	127	82,5
Всего			74,2

Таблица 5

Результаты классификации на обучающей выборке (предикторы: KT_{\max} , временной интервал от начала COVID-19)			
Показатель	$DL_{CO} \geq 80\%$ долж., n (прогнозируемые)	$DL_{CO} < 80\%$ долж., n (прогнозируемые)	Правильно отнесенные, %
$DL_{CO} \geq 80\%$ долж., n	60	38	61,2
$DL_{CO} < 80\%$ долж., n	27	127	82,5
Всего			74,2

Из табл. 5 следует, что чувствительность, специфичность и точность для обучающей выборки при использовании уравнения 2 составили 82,5%, 61,2 и 74,2% соответственно.

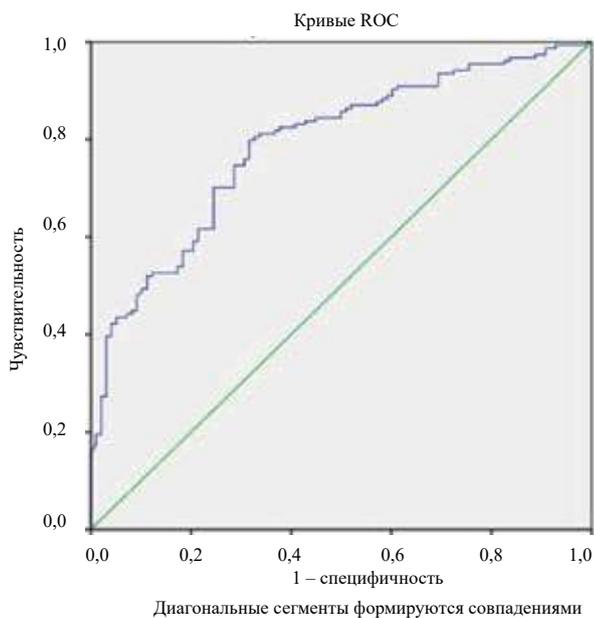
Качество модели, описанной уравнением 2, было проверено с помощью процедуры ROC-анализа (рис. 2): на обучающей выборке значение AUC составило 0,789 (95%-й доверительный интервал (ДИ) 0,733–0,844), чувствительность и специфичность (при найденной точке отсечения 0,258) – 80 и 67% соответственно.

Если $Z \geq 0,258$, то было спрогнозировано снижение DLco, если $Z < 0,258$ – DLco в пределах нормы. При тестировании полученной модели на валидационной выборке чувствительность и специфичность составили 77 и 70% соответственно. Также была изучена модель классификатора с единственным предиктором KT_{\max} и получено следующее уравнение регрессии:

$$Z = -1,564 + 0,046 \times x_1 \quad (3),$$

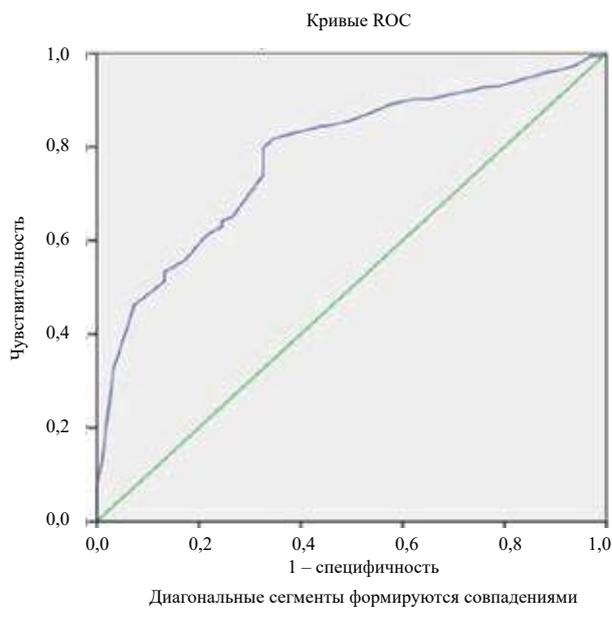
где x_1 – KT_{\max} (%).

Результаты классификации представлены в табл. 6.



Диагональные сегменты формируются совпадениями

Рис. 2. Анализ ROC-кривой обучающей выборки (предикторы: $KT_{\text{макс}}$, временной интервал от начала COVID-19) для прогнозирования снижения DL_{CO}



Диагональные сегменты формируются совпадениями

Рис. 3. Анализ ROC-кривой обучающей выборки (предиктор: $KT_{\text{макс}}$) для прогнозирования снижения DL_{CO}

Таблица 6

Результаты классификации на обучающей выборке (предиктор: $KT_{\text{макс}}$)			
Показатель	$DL_{CO} \geq 80\%$ долж., n (прогнозируемые)	$DL_{CO} < 80\%$ долж., n (прогнозируемые)	Правильно отнесенные, %
$DL_{CO} \geq 80\%$ долж., n	60	38	65,3
$DL_{CO} < 80\%$ долж., n	27	127	81,8
Всего			75,4

Из табл. 6 следует, что чувствительность, специфичность и точность для обучающей выборки при использовании уравнения 3 составили 81,8%, 65,3 и 75,4% соответственно.

Процедура ROC-анализа показала (рис. 3), что при использовании уравнения 3 на обучающей выборке значение AUC составило 0,780 (95% ДИ 0,723–0,837), чувствительность и специфичность (при найденной точке отсечения 0,171) – 80 и 67% соответственно. На тестовой выборке чувствительность и специфичность составили 79 и 70% соответственно. Если $Z \geq 0,171$, то было спрогнозировано снижение DL_{CO} , если $Z < 0,171$ – DL_{CO} в пределах нормы.

На основании уравнения 3 было рассчитано ОШ [16]:

$$ОШ = e^{-1,564} e^{0,046 x_1} \quad (4),$$

где x_1 – $KT_{\text{макс}}$ (%).

Из уравнения 4 следует, что $ОШ > 1$ наблюдается при $KT_{\text{макс}} > 40\%$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Решение задач прогнозирования состояния медицинских систем в зависимости от воздействующих на них факторов является важной задачей статистического анализа. С помощью математической модели решают такие задачи, как оценка степени влияния факторов на величину показателя-отклика, изменения показателя при изменении действующих на систему факторов, прогнозирование показателя-отклика для заданного уровня факторов [17].

Методами анализа бинарного отклика являются как классический дискриминантный анализ, так и логистическая регрессия, которые применяются в различных областях медицины [18–20]. В настоящем исследовании построена модель, позволяющая прогнозировать нарушение ДЛ после перенесенного COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких.

Корреляционный анализ, анализ данных в зависимости от величины показателя DL_{CO} (в норме или снижен), а также построенные модели бинарного классификатора в настоящем исследовании показали, что $KT_{\text{макс}}$ является важным предиктором снижения DL_{CO} после перенесенного COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких у пациентов без бронхолегочной патологии в анамнезе.

Похожие исследования были проведены за рубежом. W. Qin и соавт. [21] также не выявили статистически значимых различий по возрасту, полу и ИМТ между группами со сниженным и сохраненным показателем DL_{CO} через 3 мес после перенесенно-

го COVID-19. Кроме того, изучив широкий спектр возможных предикторов снижения показателя DLco (демографические и клинические данные, результаты лабораторных, инструментальных и рентгенологических исследований, схемы лечения, наличие острого респираторного дистресс-синдрома) у 81 пациента через 3 мес после завершения острой фазы COVID-19, пришли к выводу, что $KT_{\text{макс}}$ и острый респираторный дистресс-синдром оказывают влияние на величину показателя DLco.

В настоящем исследовании с помощью логистического регрессионного анализа с последовательным исключением наименее значимых предикторов также было продемонстрировано, что $KT_{\text{макс}}$ вносит вклад в снижение показателя DLco. Чувствительность и специфичность построенной модели составили для обучающей выборки 80 и 67% соответственно, для тестовой выборки – 79 и 70% соответственно. Включение в модель дополнительных предикторов, таких как пол, возраст, ИМТ, временной интервал от начала COVID-19, не оказало существенного влияния на качество решающего правила. Кроме того, было показано, что при $KT_{\text{макс}} > 40\%$ можно достоверно ожидать снижение показателя DLco после окончания острой фазы COVID-19.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для построения модели прогнозирования снижения показателя DLco после перенесенного COVID-19 были использованы данные легочных функциональных методов исследования, полученные преимущественно в первом полугодии после острой фазы COVID-19. Кроме того, следует принять во внимание, что величина $KT_{\text{макс}}$ характеризует объем, но не отражает глубину и морфологические особенности вирусного повреждения легочной ткани, которые впоследствии могут оказывать влияние на ДЛ. Так, И.Е. Тюрин и соавт. [22] в своем обзоре указали, что клиническое проявление и прогностическое значение рентгенологических признаков, таких как зоны «матового стекла» и консолидации, даже при абсолютно одинаковом объеме поражения оказываются совершенно разными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получено решающее правило для прогнозирования снижения показателя DLco после перенесенного COVID-19 с вирус-ассоциированным поражением легких у пациентов без бронхолегочной патологии в анамнезе. Анализ компьютерных томограмм органов грудной клетки в острую фазу COVID-19 имеет важное значение для прогнозирования нарушения диффузионной способности легких. Пациентам

с $KT_{\text{макс}} > 40\%$ требуется более тщательное клиническое наблюдение с обязательным контролем показателя DLco после окончания острой фазы COVID-19.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Зайцев А.А., Савушкина О.И., Черняк А.В., Кулагина И.Ц., Крюков Е.В. Клинико-функциональная характеристика пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19. *Практическая пульмонология*. 2020;(1):78–81.
2. Савушкина О.И., Черняк А.В., Крюков Е.В., Кулагина И.Ц., Самсонова М.В., Калманова Е.Н. и др. Функциональные нарушения системы дыхания в период раннего выздоровления после COVID-19. *Медицинский алфавит*. 2020;(25):7–12. DOI: 10.33667/2078-5631-2020-25-7-12.
3. Савушкина О.И., Черняк А.В., Крюков Е.В., Асеева Н.А., Зайцев А.А. Динамика функционального состояния системы дыхания через 4 месяца после перенесенного COVID-19. *Пульмонология*. 2021;31(5):580–587. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-580-587.
4. Савушкина О.И., Малашенко М.М., Чушкин М.И., Неклюдова Г.В., Авдеев С.Н., Зайцев А.А. Функциональные показатели системы дыхания и качество жизни пациентов, перенесших COVID-19. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2023;(90):8–18. DOI: 10.36604/1998-5029-2023-90-8-18.
5. Савушкина О.И., Муравьева Е.С., Авдеев С.Н., Кулагина И.Ц., Малашенко М.М., Зайцев А.А. Анализ функциональных показателей респираторной системы в разные сроки после перенесенного COVID-19. *Туберкулез и болезни легких*. 2023;101(6):42–49. DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-6-42-49.
6. Самсонова М.В., Черняев А.Л., Омарова Ж.Р., Першина Е.А., Мишнев О.Д., Зайратьянц О.В. и др. Особенности патологической анатомии легких при COVID-19. *Пульмонология*. 2020;30(5):519–532. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-519-532.
7. Самсонова М.В., Конторщиков А.С., Черняев А.Л., Михайличенко К.Ю., Михалева Л.М., Мишнев О.Д. и др. Патогистологические изменения в легких в отдаленные сроки после COVID-19. *Пульмонология*. 2021;31(5):571–579. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-571-579.
8. Золотницкая В.П., Титова О.Н., Кузубова Н.А., Амосова О.В., Сперанская А.А. Изменения микроциркуляции в легких у пациентов, перенесших COVID-19. *Пульмонология*. 2021;31(5):588–597. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-588-597.
9. Рекомендации Российского респираторного общества по проведению функциональных исследований системы дыхания в период пандемии COVID-19 Версия 1.1. от 19.05.2020. Рабочая группа (в алфавитном порядке): Айсанов З.Р., Калманова Е.Н., Каменева М.Ю., Кирюхина Л.Д., Лукина О.Ф., Науменко Ж.К. и др. URL: https://spulmo.ru/upload/rekomendacii_rro_fvd_COVID_19_rev1_1_01062020.pdf
10. Каменева М.Ю., Черняк А.В., Айсанов З.Р., Авдеев С.Н., Бабак С.Л., Белевский А.С. и др. Спирометрия: методическое руководство по проведению исследования и интерпретации результатов Межрегиональная общественная организация «Российское респираторное общество» Общероссийская

- общественная организация «Российская ассоциация специалистов функциональной диагностики» Общероссийская общественная организация «Российское научно-медицинское общество терапевтов». *Пульмонология*. 2023;33(3):307–340. DOI: 10.18093/08690189-2023-33-3-307-340.
11. Wanger J., Clausen J.L., Coates A., Pedersen O.F., Brusasco V., Burgos F. et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur. Respir. J.* 2005;26(3):511–522. DOI: 10.1183/09031936.05.00035005.
 12. Graham B.L., Brusasco V., Burgos F., Cooper B.G., Jensen R., Kendrick A. et al. 2017 ERS/ATS Standards for single-breath carbon monoxide uptake in the lung. *Eur. Respir. J.* 2017;49(1):1600016. DOI: 10.1183/13993003.00016-2016.
 13. Quanjer Ph.H., Tammeling G.J., Cotes J.E., Pedersen O.F., Peslin R., Yernault J.-C. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993;16:5–40.
 14. Cotes J.E., Chinn D.J., Quanjer P.H., Roca J., Yernault J.C. Standardization of the measurement of transfer factor (diffusing capacity). Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993;16:41–52.
 15. Anastasio F., Barbuto S., Scarnecchia E., Cosma P., Fugagnoli A., Rossi G. et al. Medium-term impact of COVID-19 on pulmonary function, functional capacity and quality of life. *Eur. Respir. J.* 2021;58(3):2004015. DOI: 10.1183/13993003.04015-2020.
 16. Беляев А.М., Михнин А.Е., Рогачев М.В. ROC-анализ и логистическая регрессия в MedCalc: учебное пособие. СПб, 2023:36.
 17. Григорьев С.Г., Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В. Роль и место логистической регрессии и ROC-анализа в решении медицинских диагностических задач. *Журнал инфектологии*. 2016;8(4):36–45. DOI: 10.22625/2072-6732-2016-8-4-36-45.
 18. Самойлова Е.В., Фатова М.А., Миндзаев Д.Р., Житарева И.В., Насонова С.Н., Жиров И.В. и др. Решающее правило для стратификации больных хронической сердечной недостаточностью II и III функционального класса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(1):101–107. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-101-107.
 19. Park S.H., Goo J.M., Jo C.H. Receiver operating characteristic (ROC) curve: practical review for radiologists. *Korean J. Radiol.* 2004;5(1):11–18. DOI: 10.3348/kjr.2004.5.1.11.
 20. Garrafa E., Vezzoli M., Ravanelli M., Farina D., Borghezi A., Calza S. et al. Early prediction of in-hospital death of COVID-19 patients: a machine-learning model based on age, blood analyses, and chest x-ray score. *Elife*. 2021;10:e70640. DOI: 10.7554/eLife.70640.
 21. Qin W., Chen S., Zhang Y., Dong F., Zhang Z., Hu B. et al. Diffusion capacity abnormalities for carbon monoxide in patients with COVID-19 at 3-month follow-up. *Eur. Respir. J.* 2021;58(1):2003677. DOI: 10.1183/13993003.03677-2020.
 22. Тюрин И.Е., Струтынская А.Д. Визуализация изменений в легких при коронавирусной инфекции (обзор литературы и собственные данные). *Пульмонология*. 2020;30(5):658–670. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-658-670.

Вклад авторов

Савушкина О.И. – разработка концепции и дизайна, подбор и обследование пациентов, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста статьи. Муравьева Е.С. – анализ и статистическая обработка данных, графическое представление данных, написание текста статьи. Житарева И.В. – анализ и статистическая обработка данных, проверка критически важного интеллектуального содержания. Давыдов Д.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Крюков Е.В. – окончательное утверждение рукописи для публикации, проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Савушкина Ольга Игоревна – канд. биол. наук, зав. отделением исследований функции внешнего дыхания центра функционально-диагностических исследований, ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко; ст. науч. сотрудник, лаборатория функциональных и ультразвуковых методов исследования, НИИ пульмонологии, г. Москва, olga-savushkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7486-4990>

Муравьева Елена Степановна – канд. биол. наук, доцент, кафедра биоинформатики медико-биологического факультета, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, esmuraviova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5442-6937>

Житарева Ирина Викторовна – канд. мед. наук, доцент, кафедра медицинской кибернетики и информатики медико-биологического факультета, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, irina.zhitareva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1782-2919>

Давыдов Денис Владимирович – д-р мед. наук, профессор, начальник ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко, г. Москва, dvdavydov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5449-9394>

Крюков Евгений Владимирович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, начальник ВМА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, evgeniy.md@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8396-1936>

✉ Савушкина Ольга Игоревна, olga-savushkina@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.03.2023;
одобрена после рецензирования 03.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616.248:616.34-008.87]-053.2
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-99-106>

Микробиота кишечника у детей, больных бронхиальной астмой

Соколова Т.С.¹, Мальчук В.Н.¹, Федорова О.С.¹, Куленич В.В.¹,
Одинцова В.Е.², Кошечкин С.И.²

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

² ООО «Нобиаз Технолоджис»
Россия, 123423, г. Москва, ул. Народного ополчения, 34

РЕЗЮМЕ

Введение. Микробиота кишечника является одним из важнейших факторов, определяющих состояние здоровья человека, в том числе оказывает влияние на иммунологические механизмы развития аллергических болезней в детском возрасте. Роль микробиоты кишечника и оси «кишечник – легкие» в развитии и течении бронхиальной астмы (БА) является актуальной областью исследований.

Цель – провести анализ таксономического состава кишечной микробиоты у детей с БА с использованием метода секвенирования 16S рРНК.

Материалы и методы. В исследование включены пациенты, страдающие БА ($n = 50$, средний возраст $10,34 \pm 2,99$) и группа условно здоровых детей ($n = 49$, средний возраст $10,3 \pm 2,8$). Для всех участников выполнен сбор анамнеза и физикальное обследование, сбор образцов стула. Пациентам с БА проводилась оценка уровня общего и специфического иммуноглобулина (Ig) E и спирометрия (измерение объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁)). Определение состава микробиоты выполнено с помощью секвенирования гена 16S рРНК с последующим биоинформатическим и статистическим анализом.

Результаты. Установлены значимые различия в составе микробиоты кишечника (бета-разнообразии) и снижении таксономического богатства (альфа-разнообразия) у пациентов с БА в сравнении с детьми без БА. У пациентов с БА увеличена представленность бактерий родов *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Lachnospira*, *Roseburia*, *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Sutterella*, *Odoribacter*, *Phascolarctobacterium*, *Butyrivimonas*, а также неклассифицированные бактерии семейств Rikenellaceae. Кишечная микробиота детей, не страдающих БА, характеризовалась более высоким содержанием бактерий родов *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Dorea*, *Ruminococcus*, *Streptococcus*, *Eubacterium*, *Acinetobacter*, *Collinsella*, *Lactococcus*, *Catenibacterium* и неклассифицированные бактерии семейств Clostridiaceae, Coriobacteriaceae. Выявлены значимые отличия в количественной представленности бактерий в зависимости от вида сенсibilизации, уровня общего иммуноглобулина IgE и значения ОФВ₁.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о различиях состава микробиоты кишечника детей, страдающих БА, и условно здоровых детей.

Ключевые слова: кишечная микробиота, бронхиальная астма, секвенирование 16S рРНК, дети

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант «Микробиота в системе “паразит – хозяин” и ее метаболический потенциал как инструмент управления бронхиальной астмой», № 22-75-00078).

Соответствие принципам этики. Информированное согласие на участие в исследовании дети старше 15 лет подписывали самостоятельно, для детей 7–14 лет – законные представители. Исследование одобрено локальной этической комитетом СибГМУ (протокол № 8946 от 24.01.2022).

✉ Соколова Татьяна Сергеевна, sokolova.ts@ssmu.ru

Для цитирования: Соколова Т.С., Мальчук В.Н., Федорова О.С., Куленич В.В., Одинцова В.Е., Кошечкин С.И. Микробиота кишечника у детей, больных бронхиальной астмой. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):99–106. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-99-106>.

Intestinal microbiota in children with bronchial asthma

Sokolova T.S.¹, Malchuk V.N.¹, Fedorova O.S.¹, Kulenich V.V.¹, Odintsova V.E.², Koshechkin S.I.²

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Nobias Technologies LLC

34, Narodno Opolcheniia Str., Moscow, 123423, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Intestinal microbiota is one of the most important factors determining the state of human health, including its influence on the immunological mechanisms regulating the development of allergic diseases in childhood. The role of intestinal microbiota and the gut – lung axis in the development of bronchial asthma (BA) is an important area of research.

Aim. To analyze the taxonomic composition of intestinal microbiota in children with BA using 16S rRNA gene sequencing.

Materials and methods. The study included patients with BA ($n = 50$, mean age 10.34 ± 2.99 years) and a group of apparently healthy individuals ($n = 49$, mean age 10.3 ± 2.8 years). For all patients, medical history was taken, and physical examination and stool test were performed. Patients with BA were assessed for the level of total and specific immunoglobulin (Ig) E and underwent spirometry. The microbiota composition was analyzed by 16S rRNA gene sequencing with subsequent bioinformatic and statistical analysis.

Results. Significant differences in the composition of the intestinal microbiota (beta diversity) and a decrease in taxonomic diversity (alpha diversity) were found in patients with BA compared to healthy controls. The intestinal microbiota of patients with BA was characterized by an increase in the abundance of *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Lachnospira*, *Roseburia*, *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Sutterella*, *Odoribacter*, *Phascolarctobacterium*, *Butyrivimonas*, as well as unclassified bacteria from the Rikenellaceae families. The intestinal microbiota of children without BA was characterized by greater abundance of bacteria from *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Dorea*, *Ruminococcus*, *Streptococcus*, *Eubacterium*, *Acinetobacter*, *Collinsella*, *Lactococcus*, *Catenibacterium* genera and unclassified bacteria from the Clostridiaceae and Coriobacteriaceae families. Significant differences in the quantitative abundance of bacteria were revealed depending on the type of sensitization, the level of total IgE, and the value of FEV1.

Conclusion. The results obtained indicate the differences in the intestinal microbiota composition in children with BA and healthy children.

Keywords: intestinal microbiota, bronchial asthma, 16S rRNA gene sequencing, children

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. 22-75-00078, <https://rscf.ru/project/22-75-00078/>.

Conformity with the principles of ethics. Patients over 15 years of age signed an informed consent to participate in the study, for children aged 7–14, an informed consent was obtained from their legally authorized representatives. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 8946 of 24.01.2022).

For citation: Sokolova T.S., Malchuk V.N., Fedorova O.S., Kulenich V.V., Odintsova V.E., Koshechkin S.I. Intestinal microbiota in children with bronchial asthma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):99–106. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-99-106>.

ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) – многофакторное хроническое заболевание дыхательных путей, которым страдают более 250 млн человек разного возраста во всем мире [1]. В настоящее время БА остается серьезной проблемой общественного здравоохранения, что связано с высокой распространенностью, значительным снижением качества жизни пациентов и их семей, существенными экономическими затратами системы здравоохранения [2]. В этой связи представляется актуальным исследование патогенетических факторов развития БА для разработки новых превентивных технологий, основанных на персонализированной медицине, что имеет наиболее высокую ценность в педиатрии.

В последние годы накоплено множество данных, демонстрирующих связь между развитием БА и составом микробиоты дыхательных путей в детском возрасте [3–5]. Однако при хронических заболеваниях легких изменяется не только микробиота дыхательных путей, но также отмечается дисбаланс в составе кишечной микробиоты. Молекулярно-генетические методы идентификации микроорганизмов позволили существенно расширить представления о кишечном микробиоме и способствовали признанию того, что микробные сообщества влияют на физиологию хозяина за пределами желудочно-кишечного тракта. В соответствии с концепцией «ось кишечник – легкие» микробиом кишечника оказывает значимое влияние на регуляцию иммунной системы и функциональное состояние легких [6, 7].

Циркуляция через кровеносную и лимфатическую систему обеспечивает транспорт регуляторных цитокинов, бактериальных метаболитов, таких как короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), в легкие, где они участвуют в иммунных и противовоспалительных реакциях, обеспечивая тем самым связь оси «кишка – легкие» [8]. Результаты экспериментальных и эпидемиологических исследований демонстрируют, что формирование кишечной микробиоты в раннем возрасте играет ключевую роль в развитии БА [9–11]. Однако большинство исследований микробиоты при БА в детском возрасте направлены на изучение взаимосвязи состава бактериальных сообществ в раннем возрасте и риска развития болезни в более старшем возрасте. В Российской Федерации выполнены исследования кишечной и орофарингеальной микробиоты при БА в популяции взрослых пациентов с использованием молекулярно-генетических методов, демонстрирующих модификацию микробиома на фоне заболевания [12, 13].

Цель исследования – провести анализ таксономического состава кишечной микробиоты у детей с БА с использованием метода секвенирования 16S рРНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное исследование «случай – контроль». В исследование включены 50 детей, страдающих БА, и 49 условно здоровых детей, не имеющих острых и хронических болезней. Рекрутизацию пациентов с БА проводили на базе детской клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. В качестве контрольной группы использованы данные выборки здоровых участников предшествующего эпидемиологического исследования [14].

Критерии включения в основную группу: дети 7–16 лет с БА легкой и средней степени тяжести, персистирующего течения; наличие факта обратимости объема форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$) более 12% от исходного значения по данным спирометрии; применение в течение последних 12 мес базисной терапии ингаляционными глюкокортикостероидами в низкой суточной дозе в монотерапии или в сочетании с длительно действующими β_2 -агонистами, или прием антагонистов лейкотриеновых рецепторов. Критерии включения в контрольную группу: условно здоровые дети 7–16 лет, не страдающие БА и другими хроническими заболеваниями. Критерии исключения для всех исследуемых групп: прием антибактериальных препаратов и системных глюкокортикостероидов в течение 3 мес, предшествующих исследованию; прием эубиотиков и (или) кишечные инфекции в течение 1 мес до исследования; наличие клинически значимых состояний или заболеваний, которые могут повлиять на участие пациента в исследовании и (или) проведение процедур и интерпретацию результатов в рамках исследования; отсутствие подписанного информированного согласия на участие в исследовании.

Для достижения цели исследования сформированы следующие группы: пациенты, страдающие БА, ($n = 50$, средний возраст $10,34 \pm 2,99$, соотношение мальчиков и девочек 27/23) и группа условно здоровых детей ($n = 49$, средний возраст $10,3 \pm 2,8$, соотношение мальчиков и девочек – 21/28).

Процедуры исследования включали сбор анамнестических данных и физикальное обследование. Для оценки контроля БА использовали тест по контролю над астмой (asthma control test, АСТ) у детей старше 12 лет, с-АСТ – у детей 7–11 лет. Пациентам с БА проводилась оценка уровня общего и специфического иммуноглобулина Е (IgE; компания «Алкор Био», Россия), спирометрия (MasterScreen, Германия). Для оценки состава микробиоты кишечника проводили

сбор образцов стула с использованием специального набора с транспортной средой (Stool Collection kit, Nobias Technologies).

Пробоподготовка и секвенирование региона V3–V4 гена *16S rPHK*

Для выделения ДНК использовался набор Nobias DNA Extraction Kit с протоколом выделения, включающий в себя этап гомогенизации образца кала с помощью твердых частиц (бидбитинг) и осаждения ингибиторов. Секвенирование региона V3–V4 гена *16S rPHK* (праймеры 341F–801R, ООО НПФ «Литех», Россия) проведено на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США).

Анализ данных секвенирования

Состав образцов определен с помощью платформы Кномикс Биота [15] и использованием алгоритмов QIIME [16]. Из анализа были исключены редкие и мало представленные микробы, то есть те, которые встречались менее чем в половине образцов и ни в одном образце не составляли более 5%. Для анализа различий между группами использовался метод ближайшего баланса [17].

Альфа-разнообразие оценивалось с помощью двух индексов – Чоу1 и Шеннона – после прореживания до 5 000 ридов. Для статистического анализа использовался критерий Манна – Уитни. Корреляционный анализ проведен при помощи корреляции Спирмена.

Бета-разнообразие оценивалось с помощью расстояния Эйтчисона (после исключения редких микробов) и меры Брея – Кертиса (после прореживания до 5000 ридов на образец). Для статистического анализа использован метод PERMANOVA [18]. Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот. Количественные – с учетом вида распределения данных: при нормальном распределении в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартное отклонение, при распределении, отличном от нормального, – Me (Q_{25} ; Q_{75}), Me – медиана значений, Q_{25} и Q_{75} – верхний и нижний квартили соответственно. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе клинической характеристики группы больных БА установлено, что, по данным теста по контролю над астмой, у 52% пациентов отмечено хорошо контролируемое течение БА (ACT ≥ 20 баллов), у 48% зарегистрировано 19 и менее баллов по результатам ACT (20 (18; 24)). Уровень общего IgE более 100 МЕ/мл по данным лабораторного исследования выявлен у 66% детей с БА. Показатель общего

IgE составил 293,5 (82,6; 705,8). Сенсibilизация к бытовым аллергенам выявлена у 50% пациентов с БА, к пыльцевым – у 52%, эпидермальным – у 44% и пищевым – 34%. По результатам спирометрии у пациентов с БА значение ОФВ₁ составил 100,7 (88,9; 111,1).

Состав микробиоты на разных таксономических уровнях

Наиболее представленными типами в микробиоте кишечника пациентов с БА были Firmicutes (71,1 \pm 13,9)%, Bacteroidetes (20,2 \pm 14,8)%, Proteobacteria (3,4 \pm 6)%, Verrucomicrobia (1,2 \pm 2,7)% и Actinobacteria (1,1 \pm 0,6)%. В микробиоте кишечника участников контрольной группы преобладали типы Firmicutes (73,7 \pm 13,6)%, Actinobacteria (14,6 \pm 13)%, Bacteroidetes (6,1 \pm 8,1)% и Proteobacteria (4,7 \pm 5,9)% и Verrucomicrobia (0,4 \pm 0,8)%. На уровне семейств бактерий у детей с БА преобладали Ruminococcaceae (50,4 \pm 13)%, Bacteroidaceae (13 \pm 9,6)%, Clostridiaceae (5,5 \pm 6)%, Lachnospiraceae (5,3 \pm 3,5)% и Prevotellaceae (4,4 \pm 12,5)%. Образцы участников контрольной группы характеризовались преобладанием семейств Lachnospiraceae (30,6 \pm 14)%, Ruminococcaceae (16,6 \pm 8,5)%, Bifidobacteriaceae (11,3 \pm 12,6)%, Clostridiaceae (4,4 \pm 3,5)%. Преобладающие семейства микроорганизмов в образцах исследуемых групп указаны на рис. 1. Каждый столбец на рисунке относится к одному из образцов. Цветом обозначена доля в нем различных бактерий. На рисунке показаны доли 10 наиболее представленных семейств, остальные семейства обозначены серым цветом.

В структуре кишечной микробиоты на уровне родов преобладали Bacteroides (31,6 \pm 12,6)%, Prevotella (4,4 \pm 12,5)%, неклассифицированные представители семейств Ruminococcaceae (16,1 \pm 5,1)% и Clostridiaceae (5,5 \pm 6)% в группе детей с БА и Blautia (14,4 \pm 9,4)%, Bifidobacterium (11,3 \pm 12,6)%, неклассифицированные представители семейств Lachnospiraceae (11,7 \pm 6,5)%, Clostridiaceae (10,6 \pm 5,2)%, Ruminococcaceae (7,4 \pm 4,4)% в контрольной группе.

Оценка таксономического разнообразия микробиоты кишечника

В результате оценки альфа-разнообразия по индексу Шеннона выявлено снижение таксономического разнообразия кишечной микробиоты в группе детей с БА в сравнении с контрольной группой (индекс Шеннона: $p < 0,01$; рис. 2, а). При оценке таксономического богатства с использованием индекса Чоу1 значимых различий между группами не выявлено (индекс Чоу1: $p = 0,2$, рис. 2, б).

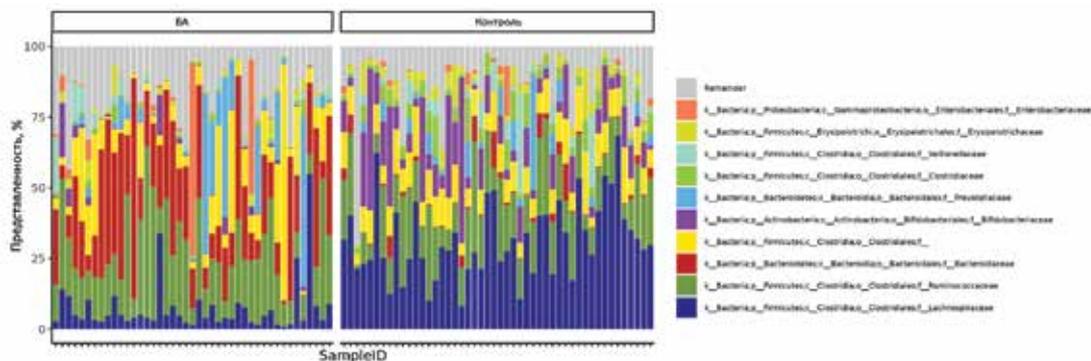


Рис. 1. Таксономический состав образцов микробиоты кишечника на уровне семейств

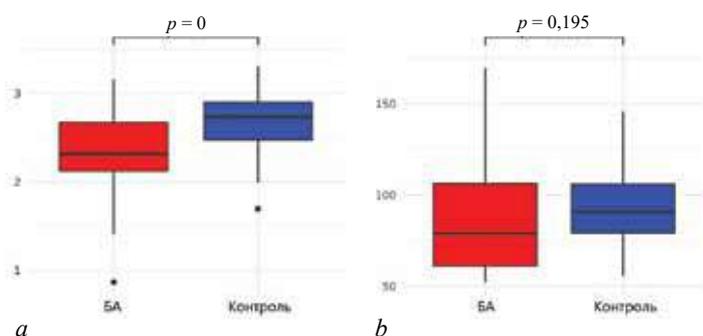


Рис. 2. Отличия между группами по альфа-разнообразию: *a* – индекс Шеннона; *b* – индекс Чоу1; $p < 0,05$ (критерий Манна – Уитни)

В ходе исследования проведена оценка бета-разнообразия микробиоты – меры попарного различия по совокупному видовому составу между сравниваемыми группами образцов. При анализе бета-разнообразия с помощью метода PERMANOVA установлены значимые различия в составе микробиоты между образцами пациентов с БА и контрольной группой (расстояние Эйтчисона: $p = 0,001$; мера

Брея – Кертиса: $p = 0,001$). На рис. 3 приведена визуализация этих различий с использованием метода главных координат (principal coordinate analysis (PCoA)).

На рисунке каждая точка представляет собой отдельный образец, а расстояние между ними отображает бета-разнообразие: чем ближе образцы на графике, тем более близок их состав.

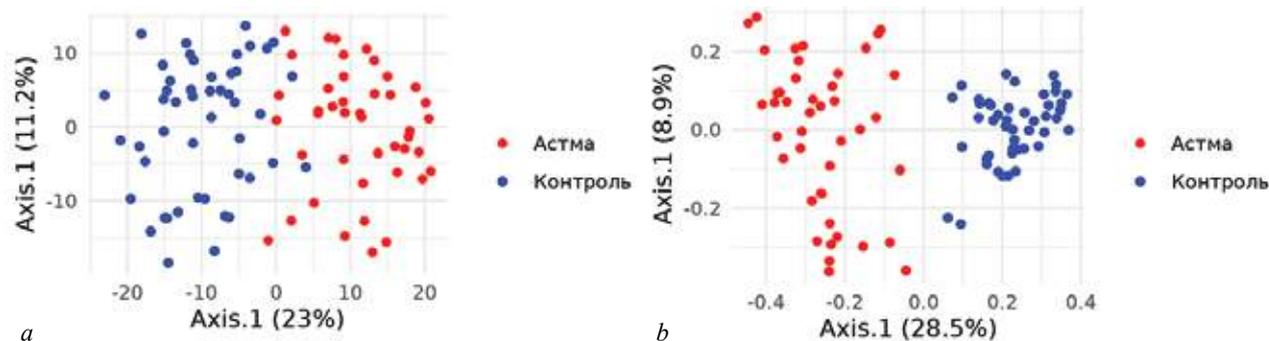


Рис. 3. Визуализация различий между образцами с помощью PCoA: *a* – расстояние Эйтчисона, которое оценивает схожесть пропорций преобладающих бактерий; *b* – мера Брея – Кертиса, экологическая мера бета-разнообразия, учитывающая пропорции всех бактерий; $p = 0,001$, Permanova

Особенности микробиоты кишечника при БА

В результате сравнительного анализа состава кишечной микробиоты пациентов с БА и группой контроля выявлены статистически значимые различия в представленности 29 таксонов ($p < 0,05$). Так, наличие БА ассоциировано с увеличением представленности родов *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Lach-*

nospira, *Roseburia*, *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Sutterella*, *Odoribacter*, *Phascolarctobacterium*, *Butyricimonas*, а также неклассифицированных бактерий семейств Rikenellaceae, Barnesiellaceae, Peptostreptococcaceae, класса Mollicutes, отрядов Bacteroidales и Streptophyta. Кишечная микробиота детей, не страдающих БА, характеризовалась более высоким

содержанием бактерий родов *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Dorea*, *Ruminococcus*, *Streptococcus*, *Eubacteri-*

um, *Acinetobacter*, *Collinsella*, *Lactococcus*, *Catenibacterium* и семейств Clostridiaceae, Coriobacteriaceae (рис. 4).

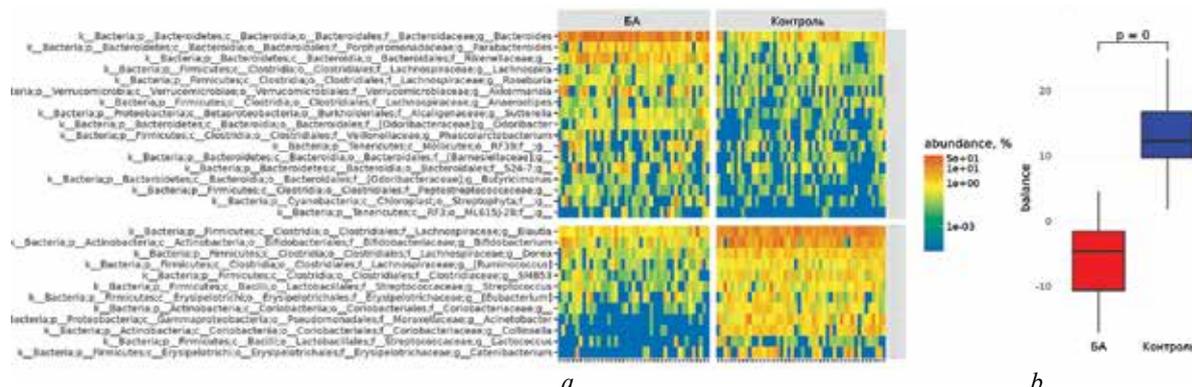


Рис. 4. Различия в представленности бактерий у пациентов с БА и участников контрольной группы: *a* – тепловая карта представленности бактерий, ассоциированных с наличием или отсутствием заболевания; *b* – соотношение (баланс) бактерий, ассоциированных с наличием или отсутствием заболевания в образцах группы контроля и пациентов с БА (метода ближайшего баланса): каждая строка соответствует микроорганизму, а столбец – образцу, цвет ячейки обозначает долю бактерий в образце. Образцы сгруппированы по наличию заболевания, а микроорганизмы – по связи с заболеванием

В образцах группы детей с БА выполнена сравнительная оценка состава кишечной микробиоты в зависимости от клинического течения, контроля БА, уровня общего IgE и сенсibilизации. Выявлено, что сенсibilизация бытовыми аллергенами ассоциирована с увеличением представленности рода *Peptostreptococcus*, эпидермальными – с *Bacteroides fragilis*. В образцах кишечной микробиоты детей, имеющих сенсibilизацию к пищевым аллергенам, отмечено увеличение представленности рода *Blautia* и снижение родов *Ruminococcus*, *Dialister*. У пациентов с уровнем общего IgE более 100 МЕ/мл по данным лабораторного исследования в образцах кишечной микробиоты выявлено снижение представленности рода *Lachnospira*. По результатам корреляционного анализа значения ОФВ₁ демонстрировали прямую зависимость от представленности *Bifidobacterium* (0,36; $p = 0,04$), *Streptococcus* (0,39; $p = 0,02$) и *Ruminococcus gnavus* (0,37; $p = 0,03$). При сравнении таксономического состава бактериальных сообществ у пациентов с результатами АСТ теста ≥ 20 и < 20 баллов не выявлены достоверные различия. В результате оценки индексов альфа- и бета-разнообразия так же не выявлено статистически значимых различий в зависимости от данных параметров.

ОБСУЖДЕНИЕ

Кишечная микробиота у пациентов с БА характеризуется снижением таксономического разнообразия, качественной и количественной модификацией состава бактериальных сообществ в сравнении с детьми контрольной группы. Богатство таксономического состава является показателем стабильно-

сти микробиоты и ее устойчивости к изменениям, а снижение разнообразия обычно свидетельствует о наличии патологического процесса. В исследованиях показано снижение таксономического богатства микробиоты у детей раннего возраста, у которых в последующем диагностирована БА [10, 11, 19]. При оценке таксономического разнообразия у детей с манифестацией БА, а также у взрослых пациентов в сравнении со здоровыми участниками значимых различий в альфа-разнообразии не выявлено [12, 20]. Отсутствие или минимальные различия в таксономическом богатстве в более позднем возрасте позволяют предположить, что в раннем возрасте существует окно возможностей, когда микробное разнообразие оказывает более сильное влияние на формирование иммунологической толерантности и, как следствие, развитие БА [9, 10, 20].

В целом полученные данные о наиболее представленных бактериях на разных таксономических уровнях в исследуемых группах соответствуют современным представлениям о составе кишечной микробиоты [21]. В результате исследования нами обнаружено, что состав микробиоты кишечника детей с БА в сравнении с контрольной группой характеризуется относительно большей численностью бактерий *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Lachnospira*, *Roseburia*, *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Sutterella*, *Odoribacter*, *Phascolarctobacterium*, *Butyricimonas*, неклассифицированных бактерий семейств Rikenellaceae, Barnesiellaceae, Peptostreptococcaceae, класса Mollicutes. В когортных проспективных исследованиях показано, что увеличение представленности *Bacteroides*, *Akkermansia*, *Roseburia*, *Lachnospira* в

кишечной микробиоте у младенцев, напротив, связано со снижением риска развития БА [9, 11].

При этом показано, что в возрасте старше 1 года различия в составе микробиоты у этих когорт были не значимы [9, 11]. В исследованиях показан противовоспалительный потенциал данных микроорганизмов и, вероятно, повышение их представленности у детей с БА является компенсаторным механизмом в ответ на воспаление слизистой дыхательных путей [22]. В исследовании с использованием менделевской рандомизации отмечена связь бактерий рода *Butyrivibrio* с развитием БА [23]. По данным систематического обзора у детей, страдающих БА, микробиота кишечника характеризуется увеличением представленности *Bacteroides* и снижением численности *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium* и *Bifidobacterium* [24].

В нашем исследовании также показано снижение представленности *Bifidobacterium* в микробиоте кишечника у детей с БА в сравнении с контролем. Представители рода *Bifidobacterium* оказывают иммуномодулирующее действие за счет стимуляции Т-регуляторных клеток [25]. Предполагается, что одним из механизмов, обеспечивающих взаимодействие внутри оси «кишечник – легкие», является продукция КЦЖК кишечными бактериями [6, 7]. У детей с БА отмечено как увеличение (*Anaerostipes*, *Roseburia*, *Phascolarctobacterium*), так и снижение (*Blautia Eubacterium*) представленности бактерий, продуцирующих КЦЖК.

У пациентов с БА выявлены различия в количественной представленности бактерий в зависимости от вида сенсibilизации. Исследования, направленные на оценку микробиоты и сенсibilизации к различным аллергенам, немногочисленны. Показано, что сенсibilизация к аллергенам домашних животных у детей с БА ассоциирована с более низким разнообразием назальной микробиоты и *Corynebacterium* sp. и *Staphylococcus epidermidis* в сравнении с детьми без сенсibilизации [26]. В другом исследовании установлено, что представленность *Ruminococcus* положительно ассоциирована с наличием сенсibilизации к казеину [27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что микробиота кишечника у детей, страдающих БА, характеризуется более низким таксономическим разнообразием и отличается по бактериальному составу от микробиоты условно здоровых детей. Выявлен ряд значимых различий в представленности бактерий в зависимости от вида сенсibilизации и функциональных показателей при БА у детей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Levy M.L., Bacharier L.B., Bateman E., Boulet L.-P., Brightling C., Buhl R. et al. Key recommendations for primary care from the 2022 Global Initiative for Asthma (GINA) update. *NPJ Prim. Care Respir. Med.* 2023;33(7). DOI: 10.1038/s41533-023-00330-1.
2. Dharmage S.C., Perret J.L., Custovic A. Epidemiology of asthma in children and adults. *Front. Pediatr.* 2019;246(7). DOI: 10.3389/fped.2019.00246.
3. Zhu Z., Camargo C.A., Raita Y., Freishtat R.J., Fujiogi M., Hahn A. et al. Nasopharyngeal airway dual-transcriptome of infants with severe bronchiolitis and risk of childhood asthma: A multicenter prospective study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2022;150(4):806–816. DOI: 10.1016/j.jaci.2022.04.017.
4. Thorsen J., Rasmussen M.A., Waage J., Mortensen M., Brejnrod A., Bonnelykke K. et al. Infant airway microbiota and topical immune perturbations in the origins of childhood asthma. *Nat. Commun.* 2019;10(1):5001. DOI: 10.1038/s41467-019-12989-7.
5. Toivonen L., Karppinen S., Schuez-Havupalo L., Waris M., He Q., Hoffman K.L. et al. Longitudinal changes in early nasal microbiota and the risk of childhood asthma. *Pediatrics.* 2020;146(4). DOI: 10.1542/peds.2020-0421.
6. Marsland B.J., Trompette A., Gollwitzer E.S. The gut-lung axis in respiratory disease. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015;12(2):150–156. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201503-133AW.
7. Budden K.F., Gellatly S.L., Wood D.L., Cooper M.A., Morrison M., Hugenholtz P. et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017;15(1):55–63. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.142.
8. Ashique S., De Rubis G., Sirohi E., Mishra N., Rihan M., Garg A. et al. Short chain fatty acids: fundamental mediators of the gut-lung axis and their involvement in pulmonary diseases. *Chem. Biol. Interact.* 2022;368:110231. DOI: 10.1016/j.cbi.2022.110231.
9. Arrieta M.C., Stiemsma L.T., Dimitriu P.A., Thorson L., Russell S., Yurist-Doutsch S. et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci. Transl. Med.* 2015;7(307):307ra152. DOI: 10.1126/scitranslmed.aab2271.
10. Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., Andersson A.F., Björkstén B., Engstrand L., Jenmalm M.C. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin. Exp. Allergy.* 2014;44(6):842–850. DOI: 10.1111/cea.12253.
11. Stokholm J., Blaser M.J., Thorsen J., Rasmussen M.A., Waage J., Vinding R.K. et al. Maturation of the gut microbiome and risk of asthma in childhood. *Nat. Commun.* 2018;9(1):141. DOI: 10.1038/s41467-017-02573-2.
12. Зольникова О.Ю., Поцхверашвили Н.Д., Кудрявцева А.В., Краснов Г.С., Гуватова З.Г., Трухманов А.С. и др. Изменение кишечного микробиома при бронхиальной астме. *Терапевтический архив.* 2020;92(3):56–60. DOI: 10.26442/00403660.2020.03.000554.
13. Федосенко С.В., Огородова Л.М., Попенко А.С., Петров В.А., Тяхт А.В., Салтыкова И.В. и др. Особенности орофарингеальной микробиоты у больных бронхиальной астмой в зависимости от тяжести заболевания и уровня контроля. *Российский аллергологический журнал.* 2015;2:29–36.

14. Sokolova T.S., Petrov V.A., Saltykova I.V., Dorofeeva Y.B., Tyakht A.V., Ogorodova L.M. et al. The impact of *Opisthorchis felineus* infection and praziquantel treatment on the intestinal microbiota in children. *Acta Trop.* 2021;217:105835. DOI: 10.1016/j.actatropica.2021.105835.
15. Efimova D., Tyakht A., Popenko A., Vasilyev A., Altukhov I., Dovidchenko N. et al. Knomics-biota – a system for exploratory analysis of human gut microbiota data. *BioData Min.* 2018;6(11). DOI: 10.1186/s13040-018-0187-3
16. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods.* 2010;7(5):335–336. DOI: 10.1038/nmeth.f.303.
17. Odintsova V.E., Klimenko N.S., Tyakht A.V. Approximation of a microbiome composition shift by a change in a single balance between two groups of taxa. *Msystems.* 2022;7(3):e00155-22. DOI: 10.1128/msystems.00155-22.
18. Anderson M.J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral. Ecology.* 2001;26(1): 32–46. DOI: 10.1111/j.1442-9993.2001.01070.
19. Chen C.C., Chen K.J., Kong M.S., Chang H.J., Huang J.L. Alterations in the gut microbiotas of children with food sensitization in early life. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2016;27(3):254–262. DOI: 10.1111/pai.12522.
20. Hsieh C.S., Rengarajan S., Kau A., Tarazona-Meza C., Nicholson A., Checkley W. et al. Altered IgA response to gut bacteria is associated with childhood asthma in Peru. *J. Immunol.* 2021;207(2):398–407. DOI: 10.4049/jimmunol.2001296.
21. Hou K., Wu Z.X., Chen X.Y., Wang J.Q., Zhang D., Xiao C. et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct. Target Ther.* 2022;7(1):135. DOI: 10.1038/s41392-022-00974-4.
22. Price C.E., Valls R.A., Ramsey A.R., Loeven N.A., Jones J.T., Barrack K.E. et al. Intestinal *Bacteroides* modulates inflammation, systemic cytokines, and microbial ecology via propionate in a mouse model of cystic fibrosis. *mBio.* 2024;15(2):e0314423. DOI: 10.1128/mbio.03144-23.
23. Cheng Z.X., Wu Y.X., Jie Z.J., Li X.J., Zhang J. Genetic evidence on the causality between gut microbiota and various asthma phenotypes: a two-sample Mendelian randomization study. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2024;13:1270067. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1270067.
24. Melli L.C., do Carmo-Rodrigues M.S., Araújo-Filho H.B., Solé D., de Moraes M.B. Intestinal microbiota and allergic diseases: A systematic review. *Allergol. Immunopathol. (Madr.).* 2016;44(2):177–188. DOI: 10.1016/j.aller.2015.01.013.
25. Jeong J., Lee H.K. The role of CD4+ T cells and microbiota in the pathogenesis of asthma. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(21):11822. DOI: 10.3390/ijms222111822.
26. Chun Y., Do A., Grishina G., Arditi Z., Ribeiro V., Grishin A. et al. The nasal microbiome, nasal transcriptome, and pet sensitization. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2021;148(1):244–249.e4. DOI: 10.1016/j.jaci.2021.01.031.
27. Новикова В.П., Листопадава А.П., Косенкова Т.В., Павлова С.Е., Демченкова О.А. Кишечная микробиота у детей с бронхиальной астмой. *Профилактическая и клиническая медицина.* 2017;4(65):30–34.

Вклад авторов

Соколова Т.С. – разработка концепции и дизайна, выполнение исследований, анализ и интерпретация данных, подготовка текста статьи. Мальчук В.Н. – сбор и обработка материала, выполнение исследований, подготовка текста статьи. Федорова О.С. – разработка концепции и дизайна, проверка содержания и окончательное утверждение для публикации рукописи. Куленич В.В. – статистическая обработка результатов исследования. Одинцова В.Е., Кошечкин С.И. – биоинформатический анализ и статистическая обработка результатов исследования.

Информация об авторах

Соколова Татьяна Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск, sokolova.ts@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1085-0733>

Мальчук Виктория Николаевна – аспирант, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск, malchuk.viktoriya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0083-3398>

Федорова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск, olga.sergeevna.fedorova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

Куленич Виктория Владимировна – лаборант-исследователь, научно-образовательная лаборатория «Живая лаборатория популяционных исследований», СибГМУ, г. Томск, kulenich.vv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0009-0000-7416-5017>

Одинцова Вера Евгеньевна – главный биоинформатик, ООО «Нобиа Технолоджис», г. Москва, vera.odintsova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1897-4033>

Кошечкин Станислав Игоревич – канд. биол. наук, директор по науке ООО «Нобиа Технолоджис», г. Москва, St.Koshechkin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7389-0476>

✉ Соколова Татьяна Сергеевна, sokolova.ts@ssmu.ru

Поступила в редакцию 03.05.2024;
одобрена после рецензирования 15.05.2024;
принята к публикации 30.05.2024

УДК 616.12-008.46-036.12-02:577.124.8:616.36
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-107-115>

Поражение печени у пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности, в зависимости от степени нарушения углеводного обмена

Толкачева В.В., Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Мисан И.А., Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Смирнов И.П., Кобалава Ж.Д.

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

РЕЗЮМЕ

Цель: изучить частоту стеатоза по значению контролируемого параметра ослабления (САР), фиброза и их сочетания, а также сердечно-печеночных синдромов в зависимости от степени нарушения углеводного обмена (НУО) у пациентов с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ОДХСН).

Материал и методы. В исследование были включены 280 пациентов (53% мужчин, средний возраст $70,1 \pm 10,8$ лет) с ОДХСН. Артериальную гипертензию в анамнезе имели 72,5%, ишемическую болезнь сердца – 60% пациентов. Всем пациентам для оценки статуса углеводного обмена определяли уровень гликированного гемоглобина (HbA1c). Пациенты были разделены на группы в зависимости от полученных результатов: при значениях HbA1c < 5,7% – в группу без НУО; 5,7–6,4% – в группу предиабета; $\geq 6,5\%$ – в группу сахарного диабета (СД) 2-го типа.

Пациентам проводили стандартное физическое обследование при поступлении и при выписке, а также клиническую и комплексную оценку застоя – исследования NT-proBNP, ультразвуковое исследование легких, фибросканирование печени, включая контролируемый параметр ослабления САР, биоимпедансный анализ состава тела.

Результаты. Частота НУО у пациентов, госпитализированных с ОДХСН, составляет 57,5% ($n = 161$), при этом предиабет был выявлен в 17,1% ($n = 48$), СД 2-го типа – в 40,4% ($n = 113$) случаев. Выявлена достоверно более высокая частота стеатоза по значению САР (69 против 42%, $p < 0,001$), фиброза (80 против 64%, $p < 0,001$) и их сочетания (59 против 30%, $p < 0,001$), а также сердечно-печеночного синдрома (87 против 61%, $p < 0,001$) у пациентов ОДХСН и НУО в отличие от пациентов ОДХСН без НУО соответственно. Группа пациентов ОДХСН с НУО и сочетанием стеатоза (фиброза) была наиболее тяжелой, характеризовалась более выраженными проявлениями метаболического синдрома, нарушениями функции почек, печени, более выраженными проявлениями застоя, как клиническими, так лабораторно-инструментальными.

Заключение. У пациентов ОДХСН с НУО определение уровня печеночных ферментов, а также проведение фибросканирования печени и определение САР позволит выделить наиболее тяжелую группу пациентов с сочетанием стеатоза (фиброза) и выраженными явлениями застоя.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, фибросканирование печени, стеатоз, фиброз, нарушение углеводного обмена

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

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

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом Медицинского института РУДН (протокол № 28 от 15.04.2021).

✉ Толкачева Вероника Владимировна, tolkachevav@mail.ru

Для цитирования: Толкачева В.В., Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Мисан И.А., Кабельо Монтойа Ф.Э., Назаров И.С., Смирнов И.П., Кобалава Ж.Д. Поражение печени у пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности, в зависимости от степени нарушения углеводного обмена. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):107–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-107-115>.

Liver damage in patients hospitalized with acute decompensated heart failure, depending on the degree of glucose metabolism disorder

Tolkacheva V.V., Diane M.L., Khutsishvili N.I., Misan I.A., Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Smirnov I.P., Kobalava Zh.D.

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

ABSTRACT

Aim. To study the frequency of cardiohepatic syndrome and steatosis by the value of controlled attenuation parameter (CAP), fibrosis, and their combination, depending on the degree of glucose metabolism disorder in patients with acute decompensated heart failure (ADHF).

Materials and methods. The study included 280 patients (53% men, average age 70.1 ± 10.8 years) with ADHF: 72.5% of patients had a history of arterial hypertension, 60% of patients had coronary heart disease. The HbA1c test was performed in all patients to assess the status of glucose metabolism. The patients were divided into groups depending on the results obtained: at HbA1c values $< 5.7\%$, patients were included in the group without glucose metabolism disorders, at HbA1c $5.7\text{--}6.4\%$ – in the prediabetes group, at HbA1c $\geq 6.5\%$ – in the type 2 diabetes group. All patients underwent a standard physical examination at admission and at discharge. Clinical and comprehensive assessments of congestion were performed – NT-proBNP, lung ultrasound, liver fibroscan with CAP, and bioelectrical impedance analysis of body composition.

Results. The frequency of glucose metabolism disorders in patients hospitalized with ADHF was 57.5% ($n = 161$), while prediabetes was detected in 17.1% ($n = 48$) and type 2 diabetes – in 40.4% ($n = 113$) of patients. We revealed significantly higher incidence of steatosis by CAP value (69 vs. 42%, $p < 0.001$), fibrosis (80 vs. 64%, $p < 0.001$), and their combination (59 vs. 30%, $p < 0.001$), as well as cardiohepatic syndrome (87 vs. 61%, $p < 0.001$) in patients with ADHF and glucose metabolism disorders compared to individuals with ADHF without glucose metabolism disorders, respectively. The group of ADHF patients with glucose metabolism disorders and a combination of steatosis / fibrosis was characterized by more pronounced manifestations of metabolic syndrome, impaired kidney and liver function, and more pronounced manifestations (both clinical and laboratory) of congestion.

Conclusion. In patients with ADHF with glucose metabolism disorders, liver function test and liver fibroscan with CAP allow for identifying the most severe group of patients with a combination of steatosis/fibrosis and pronounced congestion.

Keywords: heart failure, liver fibroscan, steatosis, fibrosis, glucose metabolism disorder

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

Source of financing. The 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, RUDN University (Protocol No. 28 of 15.04.2021).

For citation: Tolkacheva V.V., Diane M.L., Khutsishvili N.I., Misan I.A., Cabello Montoya F.E., Nazarov I.S., Smirnov I.P., Kobalava Zh.D. Liver damage in patients hospitalized with acute decompensated heart failure, depending on the degree of glucose metabolism disorder. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):107–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-107-115>.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема сердечной недостаточности (СН) остается одной из самых актуальных в кардиологии, а дисфункция периферических органов-мишеней вносит существенный вклад в прогноз. Нарушения углеводного обмена (НУО), такие как сахарный диабет (СД) 2-го типа и предиабет, часто встречаются у пациентов, госпитализированных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ОДХСН). Длительный системный застой на фоне СН способствует развитию поражения печени у пациентов с НУО, ассоциируется с плохим прогнозом, а также формированием фиброза печени [1].

Определенный вклад вносит наличие неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), которая часто выявляется у данной группы пациентов. Наличие сочетанной патологии приводит к достоверному ухудшению прогноза, а также увеличению риска смерти от цирроза печени. Общая распространенность НАЖБП у пациентов с СД 2-го типа составляет 55,5%, что более чем в 2 раза выше, чем в общей популяции [2]. Связь между наличием НАЖБП и метаболическим синдромом не вызывает сомнений, при этом инсулинорезистентность, являющаяся основной характеристикой метаболического синдрома, выступает ключевым фактором данной взаимосвязи. Работы, посвященные оценке наличия структурных нарушений печени методом фиброэластометрии, у пациентов как при стабильной СН, так и при ОДХСН и НУО единичны. Наиболее распространенными индексами для диагностики стеатоза являются индекс жировой болезни печени (FLI) и индекс стеатоза печени (HSI).

Показано, что тяжесть НАЖБП ассоциирована с показателем индекса стеатоза у пациентов с метаболическим синдромом, которые имели дислипидемию и НУО независимо от наличия ожирения и инсулинорезистентности [3]. Продемонстрировано, что пациенты с СН ишемического генеза и СД 2-го типа характеризуются наличием выраженных структурно-функциональных изменений печени, которые проявляются повышением уровня печеночных ферментов; высокими значениями индексов стеатоза и фиброза печени по сравнению с больными с СН без СД 2-го типа [4]. При этом данные о частоте стеатоза и фиброза печени у пациентов с СН и предиабетом в литературе не представлены. Для выявления и количественной оценки стеатоза был разработан новый параметр, основанный на ультразвуковых свойствах радиочастотных сигналов обратного распространения, получаемых фибросканом – контролируемый параметр ослабления (САР).

Основная цель данного исследования – изучение частоты стеатоза по значению контролируемого параметра ослабления (САР), фиброза и их сочетания, а также сердечно-печеночных синдромов (СПС) в зависимости от степени НУО у пациентов с ОДХСН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное наблюдательное исследование были включены 280 человек, госпитализированных с ОДХСН. Основными критериями диагностики ОДХСН считали появление или быстрое ухудшение симптомов и признаков СН, требующие экстренной госпитализации пациента и проведения интенсивной терапии при наличии объективных признаков поражения сердца, к которым относили систолическую и (или) диастолическую дисфункцию, гипертрофию левого желудочка (ЛЖ), расширение левого предсердия по данным эхокардиографического исследования и повышением уровня NT-proBNP.

Критерии невключения: наличие острого коронарного синдрома, терминальной стадии почечной, печеночной недостаточности, известного гепатита (цирроза) печени, отека некардиального генеза, активного онкологического процесса, поражения легких вследствие обострения обструктивной болезни легких, бронхиальной астмы, пневмонии, COVID-19 или пациентов контактных по COVID-19, СД 1-го типа, иммобилизации и выраженного когнитивного дефицита.

Для оценки статуса углеводного обмена проводили определение уровня гликированного гемоглобина (HbA1c). Деление на группы осуществляли в зависимости от полученных результатов: при значениях HbA1c <5,7% – в группу без НУО; 5,7–6,4% – в группу предиабета; ≥6,5% – в группу с СД 2-го типа [5].

При поступлении и выписке проводили стандартное физическое, лабораторное и инструментальное обследование, которое включало ультразвуковое исследование (УЗИ) легких, определение уровня NT-proBNP, фиброэластометрию печени с расчетом контролируемого параметра ослабления САР, биоимпедансный векторный анализ состава тела (рис. 1).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом Медицинского института РУДН (протокол № 28 от 15.04.2021). Клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика пациентов, включенных в исследование, n = 280	
Показатель	Значение
Пол (м/ж), n (%)	148 (53%) / 132 (47%)

Окончание табл. 1

Показатель	Значение
Возраст, годы, $M \pm SD$	70,1 \pm 10,8
Индекс массы тела, кг/м ² , $M \pm SD$	32,1 \pm 5,7
Функциональный класс СН по NYHA, n (%):	
II	90 (32%)
III	123 (44%)
IV	67 (24%)
Фракция выброса левого желудочка, %, $M \pm SD$	45,1 \pm 11,9
Фракция выброса левого желудочка, n (%):	
<40%	84 (30%)
40–49%	71 (25%)
≥50%	125 (45%)
Артериальная гипертония, n (%)	203 (72,5%)
Инсульт в анамнезе, n (%)	36 (13%)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	167 (60%)
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	106 (38%)
Фибрилляция/трепетание предсердий, n (%)	185 (66%)
Хроническая болезнь почек, n (%)	73 (26%)
Хроническая обструктивная болезнь легких (бронхиальная астма), n (%)	47 (17%)

Для оценки клинического застоя использовали шкалу клинической оценки застоя Composite congestion score (CCS). Оценивали в баллах ортопноэ, набухание шейных вен и периферические отеки. Каждый клинический симптом и признак оценивали в день поступления и выписки. При суммировании баллов наличие 1 балла и более считали клиническим застоєм при поступлении и остаточным застоєм с клиническими проявлениями при выписке. Результаты по оценке статуса гидратации у пациентов, госпитализированных с ОДХСН в зависимости от степени нарушения углеводного обмена, опубликованы ранее [5].

Определение концентрации биомаркера NT-proBNP проводили методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем NT-proBNP-ИФА-БЕСТ, набора реагентов А-9102 (Россия, ЗАО «Вектор-Бест»). Ультразвуковое исследование легких выполняли в восьми областях с подсчетом суммы V-линий на аппарате VIVID iq (компания GE HealthCare, США).

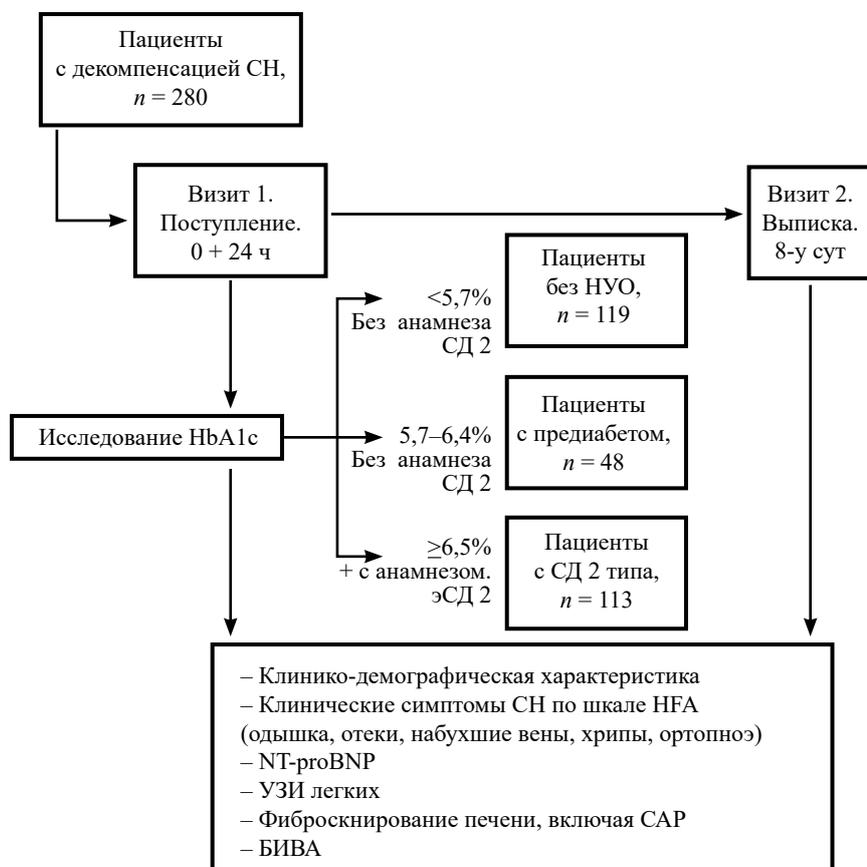


Рис. 1. Дизайн исследования

Непрямую эластометрию печени (НЭМ) – при помощи аппарата FibroScan 502touch (Echosens, Франция) по стандартной методике. Биоимпедансный векторный анализ (БИВА) проводили с помощью российского серийного биоимпедансного анализатора АВС-01 «Медасс» [5].

При наличии отклонения хотя бы одного печеночного показателя от нормальных значений пациента рассматривали как имеющего СПС. При повышении маркеров синдрома цитолиза (аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ)), у пациента диагностировали гепатоцеллюлярный вариант СПС. При повышении маркеров холестаза (щелочной фосфатазы (ЩФ), общего билирубина) – холестатический вариант СПС. Сочетанное повышение маркеров цитолиза и холестаза, а также общего билирубина обозначали как смешанный СПС.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение MedCalc Software's VAT Version 19.0 и IBM SPSS Statistics (версия 26.0). Количественные переменные описывали как среднее арифметическое значение и стандартное отклонение среднего значения ($M \pm SD$) при нормальном распределении или как медиану и межквартильный интервал ($Me; IQR$) при асимметричном распределении. Характер распределения данных определяли по кри-

терию Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении данных статистическую значимость различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента для связанных и несвязанных выборок. При распределении данных, отличном от нормального, достоверность различий анализировали с помощью критерия Манна – Уитни для несвязанных выборок и критерия Вилкоксона для связанных выборок. Статистически значимыми считались различия при значении $p < 0,05$ (с учетом поправки Бонферрони).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота НУО у пациентов, госпитализированных с ОДХСН, составляла 57,5% ($n = 161$), при этом предиабет был выявлен в 17,1% ($n = 48$), СД 2-го типа – в 40,4% ($n = 113$) случаев [5].

Частота стеатоза у пациентов без НУО встречалась в 42% ($n = 50$), у пациентов с НУО – в 69% ($n = 111$) случаев ($p < 0,001$). Частота фиброза (F1-F4 $> 5,8$ кПа) у пациентов без НУО составляла 64% ($n = 77$), у пациентов с НУО – 80% ($n = 129$), $p < 0,001$. Количество пациентов с сочетанием стеатоза (фиброза) у пациентов с ОДХСН и НУО было максимальным и составляло 59% ($n = 95$), что было в 2 раза больше, чем в группе ХСН без НУО – 30% ($n = 36$) (рис. 2).

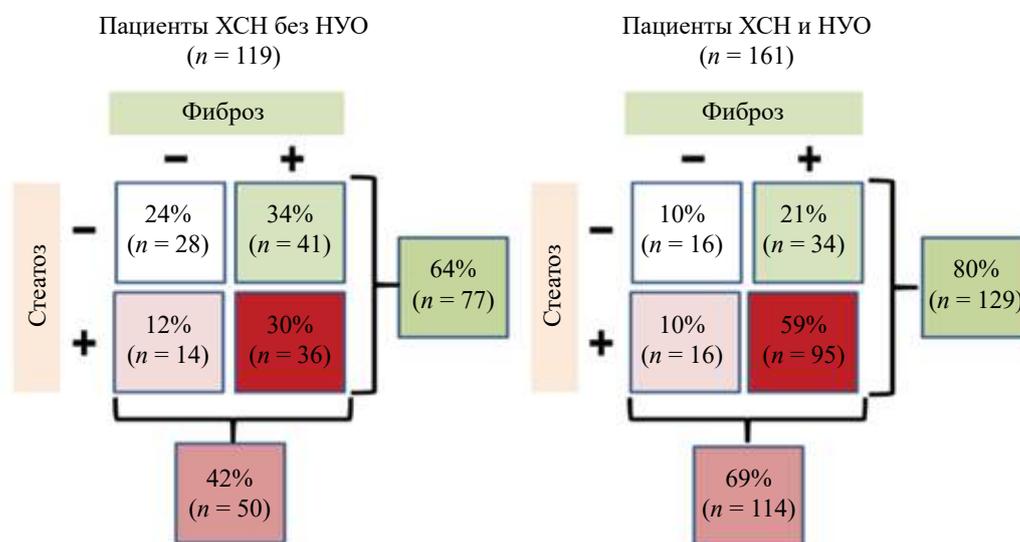


Рис. 2. Частота стеатоза и фиброза у пациентов с острой декомпенсацией ХСН в зависимости от НУО, $n = 280$

Группа пациентов ОДХСН с НУО и сочетанием стеатоза (фиброза) была наиболее тяжелой, характеризовалась высокой частотой коморбидной патологии, а именно артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца, фибрилляции предсердий и хронической болезни почек в анамне-

зе, выраженными проявлениями метаболического синдрома, нарушениями функции почек, печени, проявлениями застоя, как клиническими, так лабораторно-инструментальными, наиболее низкими значениями фракции выброса и теста с 6-минутной ходьбой (Т6МХ), более высоким индексом шкалы

оценки клинического состояния (ШОКС). Были изучены корреляционные взаимосвязи индекса САР (табл. 2) и значения плотности печени (табл. 3) с клиническими (лабораторно-инструментальными) параметрами у пациентов ОДХСН в зависимости от степени НУО. Выявлены значимые достоверные положительные корреляционные взаимосвязи контролируемого параметра ослабления – индекса САР с печеночными ферментами (билирубин, АЛТ, АСТ, лактатдегидрогеназа (ЛДГ)). Умеренные – с индексом стеатоза HSI, показателями гликемического статуса (глюкозой и индексом инсулинорезистентности TuG), параметрами липидного обмена (общий холестерин, липопротеины низкой плотности (ЛПНП), триглицериды (ТГ)), значениями индекса массы тела

(ИМТ), окружности талии, частотой в анамнезе ишемической болезни сердца (ИБС). Отрицательные – с Т6МХ и уровнем липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) во всех группах пациентов независимо от статуса углеводного обмена. При этом у пациентов с НУО (предиабет и СД 2-го типа) наблюдались положительные корреляции индекса САР с HbA1c и плотностью печени (см. табл.2).

Отмечены положительные корреляционные взаимосвязи показателя плотности печени с индексом ШОКС, уровнем NT-proBNP, креатинином, и отрицательные – с скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) и величиной фракции выброса (ФВ) ЛЖ и Т6МХ независимо от статуса углеводного обмена (см. табл. 3).

Таблица 2

Корреляционные взаимосвязи индекса САР с клиническими и лабораторно-инструментальными параметрами у пациентов с ОДХСН в зависимости от степени НУО, <i>rp</i>			
Показатель	ОДХСН без НУО, <i>n</i> = 119	ОДХСН и предиабет, <i>n</i> = 48	ОДХСН и СД 2 типа, <i>n</i> = 113
<i>Клинико-демографические параметры</i>			
ИМТ	0,21/ 0,02	0,40/ 0,004	0,34/ <0,001
Окружность талии	0,24/ 0,006	0,57/ <0,001	0,40/ <0,001
ИБС	0,37/ <0,001	0,34/ 0,01	0,25/ <0,001
Т6МХ	-0,23/ 0,009	-0,41/ 0,003	-0,37/ <0,001
<i>Гликемический статус</i>			
Глюкоза	0,37/ <0,001	0,41/ 0,003	0,38/ <0,001
HbA1c	–	0,47/ <0,001	0,24/ 0,001
Индекс TuG	0,39/ <0,001	0,46/ <0,001	0,43/ <0,001
<i>Липидный обмен</i>			
Холестерин	0,27/ 0,002	0,42/ 0,002	0,28/ <0,001
ЛПНП	0,30/ <0,001	0,41/ 0,003	0,31/ <0,001
ЛПВП	-0,29/ <0,001	-0,34/ 0,01	-0,40/ <0,001
ТГ	0,32/ <0,001	0,45/ 0,001	0,30/ <0,001
<i>Параметры печени</i>			
Общий билирубин	0,59/ <0,001	0,62/ <0,001	0,54/ <0,001
АЛТ	0,57/ <0,001	0,56/ <0,001	0,74/ <0,001
АСТ	0,57/ <0,001	0,64/ <0,001	0,76/ <0,001
ЛДГ	0,51/ <0,001	0,36/ 0,01	0,52/ <0,001
ЩФ	0,55/ <0,001	0,23/ <0,001	0,27/ <0,001
Индекс HSI	0,31/ <0,001	0,33/ 0,02	0,37/ <0,001
Плотность печени	–	0,46/ <0,001	0,17/ 0,02

Таблица 3

Корреляционные взаимосвязи плотности печени с функциональными (лабораторно-инструментальными) параметрами у пациентов с острой декомпенсацией ОДХСН в зависимости от степени НУО, <i>rp</i>			
Показатель	ОДХСН без НУО, <i>n</i> = 119	ОДХСН и предиабет, <i>n</i> = 48	ОДХСН и СД 2 типа, <i>n</i> = 113
<i>Функциональный статус</i>			
Т6МХ	–	-0,18/ 0,03	-0,18/ 0,04
ШОКС	0,22/ 0,01	0,28/ 0,005	0,26/ 0,005
<i>Лабораторно-инструментальные параметры</i>			
ФВЛЖ	-0,29/ 0,001	-0,19/ 0,01	-0,40/ <0,001
NT-proBNP	0,31/ 0,001	0,26/ 0,04	0,32/ 0,002
<i>Функциональное состояние почек</i>			
Креатинин	0,29/ 0,001	0,45/ 0,001	0,35/ 0,001
СКФ	-0,17/ 0,05	-0,21/ 0,05	-0,23/ 0,003

Была изучена частота СПС у пациентов в зависимости от НУО. Частота СПС у пациентов без НУО составляла 61% ($n = 72$), пациентов с НУО – 87% ($n = 140$), $p < 0,001$. При этом частота гепатоцеллюлярного и холестатического типов была сопоставима между группами, а у пациентов ХСН с НУО частота смешанного типа преобладала в 2 раза

в отличие от пациентов ХСН без НУО (60% ($n = 97$) против 37% ($n = 43$), $p < 0,001$) (рис. 3).

У пациентов с ОДХСН и сердечно-печеночными синдромами независимо от степени НУО были выявлены достоверно более высокие значения глюкозы натощак, общего холестерина, печеночных ферментов, плотности печени и индекса САР.

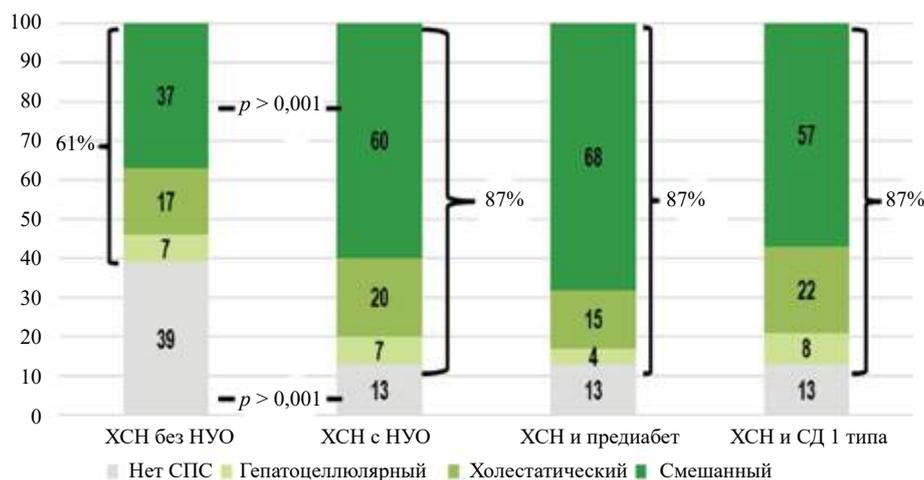


Рис. 3. Частота сердечно-печеночных синдромов у пациентов с острой декомпенсацией ОДХСН в зависимости от НУО, $n = 280$

ОБСУЖДЕНИЕ

Поражение печени вследствие наличия сочетанной патологии, а именно ОДХСН и НУО, наблюдается в достаточно большом числе случаев. Основными факторами, определяющими прогрессирование поражения печени, являются воспаление и, особенно, фиброз. Последний у пациентов со НАЖБП ассоциирован не только с риском заболеваемости и смертности от патологии печени, но и с сердечно-сосудистым риском. Показано, что уже при начальных проявлениях СН вследствие гемодинамических механизмов может наблюдаться повышение уровня печеночных ферментов [6], которые ассоциируются с классом СН. А уровень билирубина, по данным исследования SHARM [7], является наиболее важным предиктором госпитализаций по поводу ОДХСН и кардиоваскулярной смертности. Важную роль в ишемическом повреждении печени играют также венозный застой, снижение сердечного выброса и артериальная гипоксемия [8]. При этом показано, что фиброз является наиболее определяющим фактором прогрессирования заболевания печени [9–12].

Учитывая высокую распространенность стеатоза, его часто доброкачественное течение и отсутствие однозначной связи с изменениями печеночных ферментов, актуально применение неинвазивных методов для выявления и количественной оценки

стеатоза. Для выявления и количественной оценки стеатоза был разработан новый параметр, основанный на ультразвуковых свойствах радиочастотных сигналов обратного распространения, получаемых фибросканом, – контролируемый параметр ослабления (САР). В нашей работе установлена высокая частота стеатоза по значению САР (69 против 42%, $p < 0,001$), фиброза (80 против 64%, $p < 0,001$) и их сочетания (59 против 30%, $p < 0,001$), а также сердечно-печеночного синдрома (87 против 61%, $p < 0,001$) у пациентов ОДХСН и НУО в отличие от пациентов ОДХСН без НУО соответственно. При этом частота гепатоцеллюлярного и холестатического вариантов была сопоставима.

В многоцентровом исследовании с участием 4 228 пациентов более 40% пациентов, госпитализированных с ОСН, имели отклонения в значениях печеночных ферментов. После проведения многофакторного анализа только повышение уровня общего билирубина было независимо связано с ухудшением клинических исходов как через 30, так и через 180 сут и может представлять важную прогностическую переменную [13].

В ретроспективном исследовании с участием 1 032 пациентов с ХСН кавказского происхождения продемонстрирована высокая частота дисфункции печени, которая характеризовалась преимущественным повышением ферментов холестаза (общий

билирубин, гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ) и ЩФ). Частота повышения уровня ферментов холестаза составила 19,2%; частота повышения уровня трансаминаз – 8,3% [14]. В нашем исследовании частота встречаемости холестатического варианта СПС составила 20% у пациентов с ХСН и НУО и 17% у пациентов с ХСН без НУО, гепатоцеллюлярного и холестатического – 7 и 7% соответственно.

Пациенты с ОДХСН и СПС независимо от степени НУО имели более высокие значения ИМТ и окружности талии, гликемии, общего холестерина, печеночных ферментов, плотности печени и САР. Пациенты с предиабетом, СД 2-го типа и СПС, помимо вышеупомянутого, имели достоверно более высокие показатели индекса HSI, частоту ИБС и АГ в анамнезе, более низкие значения ЛПВП, а также недостоверно более низкие результаты Т6МХ, что подтверждает наличие более выраженных метаболических нарушений у данных пациентов.

В работе М.Е. Стаценко и соавт. показано, что пациенты с ишемической СН и СД 2-го типа имеют более выраженные структурно-функциональные изменения печени, проявляющиеся высокой частотой встречаемости ГГТ, АСТ и АЛТ, высоким индексом стеатоза и фиброза печени по сравнению с больными с СН без СД типа 2 [4].

В нашей работе группа пациентов с ОДХСН с НУО и сочетанием стеатоза (фиброза) характеризовалась наиболее тяжелыми клиническими и лабораторно-инструментальными проявлениями застоя, более низкими значениями ФВЛЖ, более выраженными функциональными нарушениями почек и печени, а также гликемического и липидного профиля в сравнении со всеми остальными группами.

Выявлены значимые достоверные положительные корреляционные взаимосвязи САР с печеночными ферментами (билирубин, АЛТ, АСТ, ЛДГ), и отрицательные – с результатами Т6МХ во всех группах пациентов независимо от статуса углеводного обмена. При этом у пациентов с НУО (предиабет и СД 2-го типа) наблюдаются положительные корреляции САР с HbA1c и плотностью печени. В литературе также описана сильная связь между САР и индексом инсулинорезистентности НОМА-IR [15]. В нашей работе тоже выявлена взаимосвязь между САР и индексом инсулинорезистентности TuG независимо от наличия НУО.

В нашей работе были выявлены положительные взаимосвязи между САР и всеми параметрами липидного обмена независимо от наличия НУО у пациентов с ОДХСН, что согласуется с данными литературы [1, 3, 16]. Помимо этого, отмечены положительные корреляционные взаимосвязи плотности

печени с результатами ШОКС, уровнем NT-proBNP, креатинином, и отрицательные – с СКФ, ФВЛЖ и результатами Т6МХ независимо от статуса углеводного обмена. Основными факторами, определяющими прогрессирование заболевания печени, являются воспаление и, особенно, фиброз, который у пациентов со НАЖБП ассоциирован не только с риском заболеваемости и смертности от патологии печени, но и с сердечно-сосудистым риском.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая наличие положительных ассоциаций между индексом САР и печеночными ферментами во всех группах пациентов ХСН независимо от статуса углеводного обмена, с одной стороны, и положительные ассоциации индекса САР с HbA1c и плотностью печени у пациентов с ОДХСН и НУО, с другой стороны, определение уровня печеночных ферментов, а также проведение фибросканирования печени и определение САР позволит выделить наиболее тяжелую группу пациентов с сочетанием стеатоза (фиброза) и выраженными явлениями застоя.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Стаценко М.Е., Туркина С.В., Косивцова М.А. Особенности морфологии печени при неалкогольной ее болезни в зависимости от степени нарушений углеводного и липидного обмена у больных ИБС и сердечной недостаточностью. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017;138(2):38–44.
2. Younossi Z.M., Koenig A.B., Abdelatif D., Fazel Y., Henry L., Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73–84. DOI: 10.1002/hep.28431.
3. Yang K.C., Hung H.F., Lu C.W., Chang H.H., Lee L.T., Kuo-Chin Huang K.C. Association of non-alcoholic fatty liver disease with metabolic syndrome independently of central obesity and insulin resistance. *Scientific Reports*. 2016;6:27034. DOI: 10.1038/srep27034.
4. Стаценко М.Е., Туркина С.В., Шилина Н.Н. Поражение печени у больных с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза и сахарным диабетом типа 2 – коварный тандем: возможности дополнительной органопротективной терапии. *Consilium Medicum*. 2016;18(5):103–109.
5. Толкачева В.В., Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Кабельо Монтойя Ф.Э., Назаров И.С., Смирнов И.П. и др. Статус гидратации у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией острой сердечной недостаточности, в зависимости от степени нарушения углеводного обмена. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(4):114–121. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-4-114-121.
6. Vasconcelos L., Almeida E., Bachur L. Clinical evaluation and hepatic laboratory assessment in individuals with congestive heart failure. *Arq. Bras. Cardiol*. 2007;88(5):524–529. DOI: 10.1590/s0066-782x2007000500015.

7. Allen L., Felker G., Pocock S., McMurray J., Pfeffer M., Swedberg K. et al. Liver function abnormalities and outcome in patients with chronic heart failure: data from the Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity (CHARM) program. *Eur. J. Heart Fail.* 2009;11(2):170–177. DOI: 10.1093/eurjhf/hfn031.
8. Giallourakis C.C., Rosenberg P.M., Friedman L.S. The liver in heart failure. *Clin. Liver Dis.* 2002;6(4):947–967. DOI: 10.1016/s1089-3261(02)00056-9.
9. Bedogni G., Miglioli L., Masutti F., Tiribelli C., Marchesini G., Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: The Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology.* 2005;42(1):44–52. DOI: 10.1002/hep.20734.
10. Angulo P., Kleiner D., Dam-Larsen S., Adams L., Bjornsson E., Charatcharoenwithaya P. et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2015;149:389–397. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.043.
11. Dulai P., Singh S., Patel J., Soni M., Prokop L., Younossi Z. et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Hepatology.* 2017;65:1557–1565. DOI: 10.1002/hep.29085.
12. Ekstedt M., Hagström H., Nasr P., Fredrikson M., Stål P., Kechagias S. et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology.* 2015;61:1547–1554. DOI: 10.1002/hep.27368.
13. Samsky M., Dunning A., DeVore A., Schulte P., Starling R., Tang W. et al. Liver function tests in patients with acute heart failure and associated outcomes: insights from ASCEND-HF: LFTs in AHF. *Eur. J. Heart Fail.* 2016;18(4):424–432. DOI: 10.1002/ejhf.440.
14. Poelzl G., Ess M., Mussner-Seeber C., Pachinger O., Frick M., Ulmer H. Liver dysfunction in chronic heart failure: prevalence, characteristics and prognostic significance. *Eur. J. Clin. Inv.* 2012;42(2):153–163. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2011.02573.x.
15. Chon Y.E., Kim K.J., Jung K.S., Kim S.U., Park J.Y., Kim D.Y. et al. The relationship between type 2 diabetes mellitus and non-alcoholic fatty liver disease measured by controlled attenuation parameter. *Yonsei Med. J.* 2016;57(4):885–892. DOI: 10.3349/ymj.2016.57.4.885.
16. Ballestri S., Lonardo A., Romagnoli D., Carulli L., Losi L., Day C. et al. Ultrasonographic fatty liver indicator, a novel score which rules out NASH and is correlated with metabolic parameters in NAFLD. *Liver International.* 2012;32:1242–1252. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02804.x.

Вклад авторов

Кобалава Ж.Д., Толкачева В.В. – концепция и дизайн исследования. Толкачева В.В., Кабельо Монтойа Ф.Э. – анализ полученных данных, написание текста. Диане М.Л., Хуцишвили Н.И., Мисан И.А., Назаров И.С., Смирнов И.П. – сбор и обработка материалов.

Информация об авторах

Толкачева Вероника Владимировна – д-р мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, tolkachevav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6847-8797>

Диане Мохамед Ламин – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, mohamedlamine@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4796-4638>

Хуцишвили Нуцико Ивановна – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, nutsiko.khutsishvili@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-2669-8092>

Мисан Ирина Александровна – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, Irina.misan20@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3223-128X>

Кабельо Монтойа Флора Элиса – канд. мед. наук, ассистент, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, flora.cabello@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2334-6675>

Назаров Иван Сергеевич – аспирант, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, nazarovradomla@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0950-7487>

Смирнов Илья Павлович – ординатор, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, zzevor@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-0285-1752>

Кобалава Жанна Давидовна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева, РУДН, г. Москва, zkobalava@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5873-1768>

(✉) Толкачева Вероника Владимировна, tolkachevav@mail.ru

Поступила в редакцию 20.02.2024;
одобрена после рецензирования 04.03.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616.62-022.1:616.155.294:616.155.3]-02-036.88
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-116-125>

Показатели лейкоцитарного роста кроветворения и тромбоцитопения в ранние сроки развития уросепсиса как потенциальные предикторы летального исхода у госпитализированных пациентов

Федосенко С.В., Родионова Ю.О., Иванова А.И., Аржаник М.Б., Семенова О.Л.,
Нестерович С.В., Старовойтова Е.А., Зима А.П., Винокурова Д.А., Камалтынова Е.М.,
Калюжин В.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Выполнение сравнительного анализа показателей лейкоцитарного роста гемопоэза и уровня тромбоцитов в периферической крови с оценкой характера их изменений в первые 48 ч от момента верификации уросепсиса (УС) у госпитализированных пациентов в зависимости от исхода болезни.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное сравнительное исследование 40 пациентов с УС, разделенных на группу умерших ($n = 10$) и выживших ($n = 30$). Наряду с полным клиническим и параклиническим обследованием, принятым в урологической клинике при подозреваемом (подтвержденном) сепсисе, исходно в момент верификации УС и через 48 ч проводилась дифференцированная оценка в периферической крови форменных элементов лейкоцитарного гемопоэтического роста и тромбоцитов, включающая подсчет числа незрелых гранулоцитов, исследование интенсивности нейтрофильной зернистости (NEUT-GI) и реактивности (NEUT-RI) нейтрофилов, а также среднего объема тромбоцитов (MPV).

Результаты. Исходно уровень органной дисфункции, оцененный по шкале SOFA (Sequential Organ Failure Assessment), у умерших пациентов был значимо выше, чем у выживших (6 баллов vs 3 баллов соответственно; $p = 0,001$). Группа умерших отличалась более низкими уровнем тромбоцитов и моноцитов. ROC-анализ с расчетом AUC (площадь под кривой) позволил выявить следующие потенциальные предикторы летального исхода при УС: доля моноцитов от общего числа лейкоцитов исходно $\leq 5,5\%$ (AUC 0,732; $p = 0,032$), доля эозинофилов от общего числа лейкоцитов исходно $\leq 0\%$ (AUC 0,756; $p = 0,011$) и абсолютное число эозинофилов исходно $\leq 0,01 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,802; $p = 0,009$), абсолютное число базофилов исходно $\leq 0,03 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,718; $p = 0,028$), NEUT-GI исходно $\leq 153,2$ единицы интенсивности флуоресценции (ИФ) (AUC 0,754; $p = 0,021$), NEUT-RI исходно $\leq 59,3$ ИФ (AUC 0,737; $p = 0,024$) и их увеличение через 48 ч на более чем 0,9 ИФ (AUC 0,852; $p = 0,001$) или на более чем 1,34% (AUC 0,844; $p = 0,003$), уровень тромбоцитов исходно $\leq 144 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,762; $p = 0,007$) и через 48 ч $\leq 174 \times 10^9/\text{л}$ (AUC 0,769; $p < 0,007$).

Заключение. Оценка уровня тромбоцитов, а также показателей лейкоцитарного роста гемопоэза, включая параметры, характеризующие активацию нейтрофилов (NEUT-RI, NEUT-GI), в первые 48 ч от момента диагностики септического состояния может быть полезной при прогнозировании летального исхода у пациентов с УС.

Ключевые слова: уросепсис, летальный исход, NEUT-GI, NEUT-RI, незрелые ретикулоциты, MPV, лимфопения, тромбоцитопения, анемия

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.

✉ Иванова Анастасия Игоревна, nastya-170502@mail.ru

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (решение №8616/1 от 29.03.2021).

Для цитирования: Федосенко С.В., Родионова Ю.О., Иванова А.И., Аржаник М.Б., Семенова О.Л., Нестерович С.В., Старовойтова Е.А., Зима А.П., Винокурова Д.А., Камалтынова Е.М., Калюжин В.В. Показатели лейкоцитарного роста кроветворения и тромбоцитопения в ранние сроки развития уросепсиса как потенциальные предикторы летального исхода у госпитализированных пациентов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):116–125. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-116-125>.

Parameters of leukopoiesis and thrombocytopenia in early urosepsis as potential predictors of a lethal outcome in hospitalized patients

Fedosenko S.V., Rodionova Yu.O., Ivanova A.I., Arzhanik M.B., Semenova O.L., Nesterovich S.V., Starovoitova E.A., Zima A.P., Vinokurova D.A., Kamaltynova E.M., Kalyuzhin V.V.

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

ABSTRACT

Aim. To perform a comparative analysis of leukopoiesis parameters and platelet count in peripheral blood with evaluation of their changes in the first 48 hours from urosepsis (US) verification in hospitalized patients depending on the outcome of the disease.

Materials and methods. A retrospective comparative study included 40 patients with US divided into a group of deceased ($n = 10$) and a group of recovered ($n = 30$) individuals. Along with a full clinical and paraclinical examination, which is a routine practice in the urology clinic in case of suspected (confirmed) sepsis, we performed a differentiated assessment of leukopoiesis and platelet count in peripheral blood at baseline (at the moment of US verification) and 48 hours after US verification. The assessment included determination of the immature granulocyte count, investigation of neutrophil granularity intensity (NEUT-GI) and neutrophil reactivity intensity (NEUT-RI), and measurement of the mean platelet volume (MPV).

Results. The baseline level of organ dysfunction graded by the SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) score was significantly higher in deceased patients than in survivors (6 points vs. 3 points, respectively; $p = 0.001$). The group of the deceased was characterized by lower platelet and monocyte levels. The ROC analysis with the calculation of area under the curve (AUC) identified the following potential predictors of a lethal outcome in US: proportion of monocytes from the total leukocyte count at baseline $\leq 5.5\%$ (AUC 0.732, $p = 0.032$), proportion of eosinophils from the total leukocyte count at baseline $\leq 0\%$ (AUC 0.756, $p = 0.011$), absolute eosinophil count at baseline $\leq 0.01 \times 10^9/l$ (AUC 0.802, $p = 0.009$), absolute basophil count at baseline $\leq 0.03 \times 10^9/l$ (AUC 0.718, $p = 0.028$), NEUT-GI at baseline ≤ 153.2 scatter intensity (SI) units (AUC 0.754, $p = 0.021$), NEUT-RI at baseline ≤ 59.3 SI units (AUC 0.737, $p = 0.024$) and their increase after 48 hours by > 0.9 SI units (AUC 0.852, $p = 0.001$) or by $> 1.34\%$ (AUC 0.844, $p = 0.003$), platelet count at baseline $\leq 144 \times 10^9/l$ (AUC 0.762, $p = 0.007$) and after 48 hours $\leq 174 \times 10^9/l$ (AUC 0.769, $p < 0.007$).

Conclusion. The assessment of the platelet count and leukopoiesis parameters, including the ones characterizing neutrophil maturation (NEUT-RI, NEUT-GI), in the first 48 hours from US verification, can be effective predictors of a lethal outcome in patients with US.

Keywords: urosepsis, lethal outcome, NEUT-GI, NEUT-RI, immature reticulocytes, MPV, lymphopenia, thrombocytopenia, anemia

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

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

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 8616/1 of 29.03.2021).

For citation: Fedosenko S.V., Rodionova Yu.O., Ivanova A.I., Arzhanik M.B., Semenova O.L., Nesterovich S.V., Starovoitova E.A., Zima A.P., Vinokurova D.A., Kamaltynova E.M., Kalyuzhin V.V. Parameters of leukopoiesis and thrombocytopenia in early urosepsis as potential predictors of a lethal outcome in hospitalized patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):116–125. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-116-125>.

ВВЕДЕНИЕ

Уросепсис (урогенный сепсис, УС) характеризуется клиническими проявлениями инфекции мочевыводящих путей (МВП) и (или) мужских половых органов, которые осложняются развитием острой системной органной дисфункции. Распространенность УС среди всех случаев сепсиса значительно варьирует и составляет от 9 до 31% [1].

Вне зависимости от уровня поражения обструкция МВП является основным фактором риска развития УС. По данным ретроспективного исследования R.S. Hotchkiss и соавт. (2003), данный фактор риска ассоциировался с развитием УС у мужчин в 78%, а у женщин – в 54% случаев [2]. При этом чаще всего данное осложнение развивается у женщин (примерно в 2/3 случаев) [3, 4].

Помимо высокой распространенности, проблема УС также актуальна из-за высокой смертности пациентов, которая может достигать 30–49% [5].

Диагностика УС основывается на обнаружении инфекции МВП и (или) мужских половых органов в сочетании с острой органной дисфункцией, определенной с помощью шкалы последовательной оценки органной недостаточности (Sequential Organ Failure Assessment, SOFA). Шкала SOFA является важным инструментом для оценки риска смерти, прогнозирования длительности госпитализации, а также пребывания пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [6]. Так, при уровне SOFA 2 балла и более риском летальности оценивается в 10% и более [4]. Однако в реальной клинической практике по-прежнему остается актуальным поиск надежных биомаркеров и критериев для динамической оценки состояния пациентов в ранние сроки, в первые 24–48 ч, развития УС. Это необходимо для определения пациентов с высоким риском летального исхода и своевременного фармакотерапевтического подхода для их спасения.

Целью исследования послужило выполнение сравнительного анализа лейкоцитарного роста гемопоза и уровня тромбоцитов в периферической крови с оценкой характера их изменений в первые 48 ч от момента верификации УС у госпитализированных пациентов в зависимости от исхода болезни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На основании протокола исследования, согласованного локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (решение №8616/1 от 29.03.2021), выполнено ретроспективное сравнительное исследование, включившее данные 40 пациентов с УС, госпитализированных в экстренном (с острой инфекцией) или плановом порядке (с последующим развитием инфекционного осложнения) в урологическое отделение клиник ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в период с 01.01.2019 по 30.04.2023 (сплошная выборка). В рамках исследования сформированы две группы сравнения в зависимости от исхода госпитализации (выписка из стационара или наступление летального исхода) для динамической оценки клинико-anamnestических и лабораторных параметров в ранние сроки развития септического состояния (первые 48 ч) с целью определения их связи с исходом заболевания.

В исследование включены данные пациентов с подтвержденной бактериальной инфекцией МВП и значением оценки по так называемой быстрой шкале SOFA (qSOFA) не меньше 2 баллов, а также с наличием полной информации о заболевании и интересующих клинико-лабораторных показателях, изложенной в медицинской карте стационарного больного и в информационной регистрационной системе, используемой медицинским учреждением.

В ходе исследования проанализированы сведения о характере, сроках и исходе госпитализации, антропометрические данные. У всех пациентов регистрировали значения оценки по шкалам qSOFA и SOFA, длительность септического состояния, данные о нахождении пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Выполнена динамическая оценка (в момент верификации септического состояния и через 48 ч) стандартных показателей тромбоцитарного и лейкоцитарного ростков кроветворения в периферической крови, включающая дифференцированный подсчет форменных элементов крови и нейтрофильно-лимфоцитарного отношения (NLR). Использование расширенной версии программного обеспечения гематологического анализатора Sysmex XN-1000 (Sysmex, Германия) позволило дополнительно оценить такие показатели, как коли-

чество незрелых гранулоцитов (IG), интенсивность нейтрофильной зернистости (NEUT-GI), интенсивность реактивности нейтрофилов (NEUT-RI), средний объем тромбоцитов (MPV), тромбоцит (PCT), процентное содержание реактивных (RE-LYMP) и антитело-синтезирующих (AS-LYMP) лимфоцитов.

Статистический анализ выполнен при помощи программы StatSoft Statistica 12.5. Описание количественных показателей проведено с указанием медианы, первого и третьего квартилей ($Me (Q_1; Q_3)$). Качественные показатели описаны с указанием абсолютных и относительных частот (n (%)). Сравнение количественных и качественных показателей независимых выборок проводится с использованием U -критерия Манна – Уитни и точного критерия Фишера. Сравнение количественных показателей зависимых выборок осуществлялось при помощи критерия Вилкоксона. ROC-анализ был проведен с помощью пакета MedCalc, Version 18.9.1. Оценивалась площадь под кривой (AUC) с 95%-м доверительным интервалом (ДИ), точка разделения по критерию Йодена, чувствительность и специфичность для этой точки. Результаты считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинико-анамнестическая характеристика групп сравнения

В соответствии с протоколом в исследование были включены 40 пациентов обоего пола: 21 (53,0%) женщина и 19 (47,0%) мужчин. В зависимости от исхода заболевания (выписка из стационара или наступление летального исхода) сформированы две группы сравнения: группа 1 ($n = 30$) – пациенты с благоприятным исходом госпитализации («выжившие»), группа 2 ($n = 10$) – пациенты с летальным исходом госпитализации («умершие»).

Большинство ($n = 38$, 95,0%) из включенных в исследование пациентов госпитализированы в урологическое отделение СибГМУ в экстренном порядке. Два пациента (5,0%) поступили в стационар в плановом порядке для оперативного лечения мочекаменной болезни и доброкачественной гиперплазии предстательной железы, однако впоследствии у них развилась инфекция, осложненная сепсисом.

Возраст пациентов составил 64,5 (48,0; 75,0) года. Отмечено, что пациенты в группе с летальным исходом относились к более старшей возрастной группе – 77 (65; 83) лет, чем пациенты, выписанные из стационара с благоприятным исходом – 60 (34; 75) лет, $p = 0,026$.

Группы пациентов не отличались по сроку выявления септического состояния, составившего в группе выживших пациентов 3,0 (1,0; 6,0) дня и в группе

умерших – 2,5 (1,0; 6,0) дня от начала госпитализации ($p = 0,775$). Перевод в ОРИТ потребовался 20 пациентам (50% от общего числа), среди которых доля умерших пациентов достигла 50% ($n = 10$).

Анализируя причины, приведшие к развитию УС, установили, что у 24 пациентов был выявлен острый необструктивный ($n = 17$) или обструктивный ($n = 8$) пиелонефрит, у семи пациентов – карбункул почки, три пациента наблюдались по поводу хронического двустороннего пиелонефрита, двое были госпитализированы с абсцессом почки и один пациент – с флегмоной почки и забрюшинного пространства. Оперативное лечение выполнено 30 (75%) пациентам, при этом в группе умерших пациентов хирургические вмешательства выполнены девяти пациентам из десяти (90%). При анализе данных выделены пять пациентов с инфекцией, напрямую связанной с оказанием медицинской помощи. Так, у трех больных верифицирована катетер-ассоциированная инфекция МВП, у двух пациентов – инфекция МВП, возникшая после оперативного вмешательства.

При сборе анамнеза регистрировали наличие сопутствующей патологии. Так, ишемическая болезнь сердца зарегистрирована у 12 (30%) пациентов, острый инфаркт миокарда в анамнезе – 6 (15%), острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе – 6 (15%), сахарный диабет – 7 (17,5%), хроническая сердечная недостаточность 2–3-й стадии – 9 (22,5%), бронхиальная астма – 2 (5%), хроническая обструктивная болезнь легких – 3 (7,5%) больных. ВИЧ-инфекция наблюдалась у 2 (5%), хронические заболевания почек – 8 (20%) пациентов, инъекционной наркоманией страдал 1 (2,5%) пациент, алкоголизмом – 2 (5%) больных. Также у 7 (17,5%) пациентов, включенных в данное исследование, были зарегистрированы актуальные онкологические заболевания. Статистически значимо группы отличалась только по наличию гипертонической болезни, которая зарегистрирована у 15 (50%) выживших пациентов и 9 (90%) больных из группы умерших ($p = 0,032$).

По данным рентгенографии органов грудной клетки, появление инфильтративных изменений в легочной паренхиме в период нахождения в стационаре обнаружено у 7 (23,3%) пациентов с благоприятным исходом госпитализации и у 2 (20%) умерших пациентов. Данные изменения на рентгенограмме с соответствующими клиническими проявлениями зарегистрированы через 48 ч и более от момента госпитализации, в связи с чем диагностирована нозокомиальная пневмония, развитие которой связывали с прогрессирующим течением основного заболевания и (или) проведением инвазивной респираторной поддержки [7].

Развитие инфекции МВП характеризовалось обнаружением лейкоцитурии и бактериурии по данным общеклинического анализа мочи у 100% пациентов. Всем пациентам в момент выявления сепсиса выполнялись бактериологические (культуральные) исследования крови и мочи. Установлено, что инфекция МВП у всех обследованных пациентов была вызвана одним возбудителем, наиболее часто из семейства Enterobacteriaceae. Основным возбудителем являлись *Escherichia coli* (у 73 % пациентов) и *Enterococcus faecium* (в 13% случаев), гораздо реже (не более чем в 1 случае) – *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и др. Позитивная гемокультура получена у 3 (7,5%) пациентов: *Klebsiella pneumoniae* идентифицирована у 1 пациента, *Escherichia coli* – у 1 пациента и *Enterococcus faecium* – у 1 пациента.

Группы сравнения не отличались значимо по выбору препаратов для стартовой антибиотикотерапии (АБТ), проведение которой было основано на стратификации пациентов по наличию факторов антибиотикорезистентности и соответствовало актуальным клиническим рекомендациям [8]. Так, амоксициллин (клавулановую кислоту) получали 5 (12,5%) пациентов, цефуроксим – 1 (2,5%), цефтаксим – 12 (30%), цефтриаксон – 3 (7,5%), цефепим – 1 (2,5%), цефоперазон/сульбактам – 1 (2,5%), ципрофлоксацин – 6 (15%), левофлоксацин – 6 (15%), эртапенем – 3 (7,5%) и меропенем – 2 (5%) пациента. У 33 (82,5%) пациентов потребовалась 1 (1; 2) смена антиинфекционного препарата; модификация режима АБТ в связи с ухудшением клинического течения заболевания – у 15 (37,5%) пациентов или в соответ-

ствии с результатами микробиологического исследования и теста на чувствительность к антибиотикам в ситуации сомнительной эффективности стартовой этиотропной терапии – у 18 (45%) пациентов.

На момент верификации сепсиса у пациентов с летальным исходом результат оценки по SOFA составил 6 (4; 7) баллов, в то время как у выздоровевших пациентов ее значение было значимо ниже – 3 (1; 5) балла, $p = 0,001$.

Результаты анализа гематологических показателей

Детализированный анализ гемограммы не продемонстрировал статистически значимых различий по большинству исследуемых показателей. В отличие от выздоровевших пациентов группа больных с летальным исходом отличалась тромбоцитопенией в обеих точках исследования: $235 (178; 392) \times 10^9/\text{л}$ vs $105 (82; 194) \times 10^9/\text{л}$ соответственно, исходно ($p = 0,019$) и $262 (203; 358) \times 10^9/\text{л}$ vs $101 (97; 174) \times 10^9/\text{л}$ соответственно, через 48 ч ($p = 0,058$). В то же время группы сравнения не различались значимо по таким параметрам, как средний объем тромбоцитов (MPV) и ширина распределения тромбоцитов (PDW).

Динамика наиболее значимых показателей лейкоцитарного роста периферической крови представлена в таблице. Группы сравнения характеризовались устойчивым увеличением числа нейтрофилов в первые 48 ч от момента диагностики септического состояния без значимых различий по числу зрелых и незрелых форм гранулоцитов, лимфоцитов и значению NLR (таблица).

Таблица

Динамика показателей лейкоцитарного роста периферической крови в первые 48 ч от момента верификации уросепсиса, Me (Q ₁ ; Q ₃)			
Показатель	Группа 1 – пациенты с благоприятным исходом	Группа 2 – пациенты с летальным исходом	P ₁₋₂
Лейкоциты, 10 ⁹ /л, исходно	11,74 (8,15; 21,60)	10,27 (5,90; 17,80)	0,391
Лейкоциты, 10 ⁹ /л, через 48 ч	10,86 (6,14; 15,63)	12,17 (10,10; 12,70)	0,942
Нейтрофилы, %, исходно	85,4 (75,2; 88,9)	88,0 (69,7; 93,2)	0,571
Нейтрофилы, %, через 48 ч	79,7 (71,3; 85,1)	85,2 (84,2; 89,3)	0,215
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л, исходно	9,27 (5,40; 18,96)	8,94 (5,20; 9,57)	0,524
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л, через 48 ч	7,91 (4,61; 13,45)	11,06 (10,25; 12,12)	0,616
NEUT-GI, ИФ, исходно	158,6 (154,1; 161,2)	152,9 (148,2; 159,2)	0,065
NEUT-GI, ИФ, через 48 ч	157,3 (151,3; 160,1)	148,4 (144,4; 154,9)	0,160
NEUT-RI, ИФ, исходно	59,2 (49,1; 62,6)	48,3 (46,9; 56,8)	0,086
NEUT-RI, ИФ, через 48 ч	56,9 (50,8; 60,5)	54,8 (47,8; 61,7)	0,670
Изменение NEUT-RI (T2-T1), ИФ	-1,65 (-3,85; 0,35)	4,15 (-0,20; 9,70)	0,033
Изменение NEUT-RI (T2-T1), ИФ, %	-3,24 (-6,92; 0,69)	7,44 (-0,49; 19,24)	0,038
Лимфоциты, %, исходно	7,3 (4,7; 16,3)	7,4 (5,5; 13,1)	0,941
Лимфоциты, %, через 48 ч	12,4 (8,2; 16,6)	8,4 (4,7; 9,0)	0,197
Лимфоциты, 10 ⁹ /л, исходно	1,12 (0,76; 1,64)	0,65 (0,60; 1,06)	0,058

Показатель	Группа 1 – пациенты с благоприятным исходом	Группа 2 – пациенты с летальным исходом	p_{1-2}
Лимфоциты, $10^9/л$, через 48 ч	1,42 (0,81; 2,01)	0,80 (0,51; 1,02)	0,175
NLR	12,84 (4,52; 21,46)	14,54 (7,39; 19,86)	0,658
NLR	6,91 (4,49; 11,62)	15,87 (5,34; 65,93)	0,345
Моноциты, %, исходно	6,0 (4,5; 7,7)	4,4 (3,1; 5,2)	0,038
Моноциты, %, через 48 ч	6,4 (4,7; 9,0)	4,3 (3,6; 6,7)	0,185
Моноциты, $10^9/л$, исходно	0,80 (0,41; 1,12)	0,55 (0,21; 0,59)	0,132
Моноциты, $10^9/л$, через 48 ч	0,69 (0,37; 0,88)	0,44 (0,44; 0,46)	0,161
Эозинофилы, %, исходно	0,4 (0,1; 1,4)	0,0 (0,0; 0,2)	0,021
Эозинофилы, %, через 48 ч	0,7 (0,3; 1,6)	0,0 (0,0; 0,0)	0,062
Эозинофилы, $10^9/л$, исходно	0,065 (0,030; 0,125)	0,010 (0,010; 0,040)	0,055
Эозинофилы, $10^9/л$, через 48 ч	0,085 (0,050; 0,155)	0,105 (0,090; 0,120)	0,531
Базофилы, %, исходно	0,3 (0,2; 0,5)	0,2 (0,1; 0,2)	0,067
Базофилы, %, через 48 ч	0,3 (0,2; 0,4)	0,6 (0,3; 0,7)	0,236
Базофилы, $10^9/л$, исходно	0,040 (0,020; 0,070)	0,025 (0,015; 0,030)	0,062
Базофилы, $10^9/л$, через 48 ч	0,030 (0,020; 0,040)	0,040 (0,010; 0,090)	0,716
IG, %, исходно	0,90 (0,50; 2,65)	1,70 (0,50; 2,70)	0,562
IG, %, через 48 ч	0,75 (0,40; 2,55)	0,50 (0,15; 4,10)	0,509
IG, $10^9/л$, исходно	0,11 (0,04; 0,60)	0,49 (0,08; 0,77)	0,349
IG, $10^9/л$, через 48 ч	0,08 (0,03; 0,25)	0,17 (0,06; 0,57)	0,693

Примечание. ИФ – интенсивность флуоресценции.

Отметим, что исходно группа пациентов с летальным исходом отличалась более низким относительным содержанием моноцитов и эозинофилов в крови. При этом число эозинофилов в этой группе на момент установления сепсиса фактически приближалось к нулю, составив 10 кл/мкл (см. таблицу).

В рамках исследования выполнена оценка интенсивности реактивности нейтрофилов (NEUT-RI). Несмотря на то что исходно и через 48 ч от момента верификации сепсиса группы сравнения значимо не отличались, характер изменения данного показателя в первые 2 сут в группах был разнонаправленным ($p < 0,05$). Так, в группе пациентов с летальным исходом значение NEUT-RI выросло почти на 7,5%, в то время как в группе с благоприятным исходом госпитализации снизилось более чем на 3% (см. таблицу).

Верификация потенциальных ранних предикторов летальности при УС методом ROC-анализа

Предикторами неблагоприятного исхода при УС могут быть:

– доля моноцитов от общего числа лейкоцитов исходно 5,5% и менее с чувствительностью 88,9% и специфичностью 57,1% (AUC 0,732; 95%-й ДИ (0,561; 0,864), $p = 0,032$);

– доля эозинофилов от общего числа лейкоцитов исходно 0% и более с чувствительностью 66,67% и специфичностью 82,14% (AUC 0,756; 95%-й ДИ (0,587; 0,882), $p = 0,011$) и абсолютное число эози-

нофилов исходно $0,01 \times 10^9/л$ и менее с чувствительностью 75,0% и специфичностью 83,3% (AUC 0,802; 95%-й ДИ (0,609; 0,927), $p = 0,009$);

– абсолютное число базофилов исходно $0,03 \times 10^9/л$ и менее с чувствительностью 87,5% и специфичностью 66,7% (AUC 0,718; 95%-й ДИ (0,540; 0,856), $p = 0,028$);

– интенсивность нейтрофильной зернистости (NEUT-GI) исходно 153,2 ИФ и менее с чувствительностью 66,7% и специфичностью 79,0% (AUC 0,754; 95%-й ДИ (0,543; 0,903), $p = 0,021$);

– интенсивность реактивности нейтрофилов (NEUT-RI) исходно 59,3 ИФ и менее с чувствительностью 100,0% и специфичностью 47,4% (AUC 0,737; 95%-й ДИ (0,524; 0,891), $p = 0,024$), а также увеличение данного показателя через 48 ч на более чем 0,9 ИФ с чувствительностью 75,0% и специфичностью 87,5% (AUC 0,852; 95%-й ДИ (0,623; 0,969), $p = 0,001$) или на более чем 1,34% с чувствительностью 75,0% и специфичностью 87,5% (AUC 0,844; 95%-й ДИ (0,614; 0,965), $p = 0,003$);

– уровень тромбоцитов исходно $144 \times 10^9/л$ и менее с чувствительностью 66,7% и специфичностью 82,8% (AUC 0,762; 95%-й ДИ (0,597; 0,885), $p = 0,007$) и через 48 ч $174 \times 10^9/л$ и менее с чувствительностью 80,00% и специфичностью 75,86% (AUC 0,769; 95%-й ДИ (0,593; 0,896), $p < 0,007$). Идентифицированные критические значения факторов, повышающих вероятность летального исхода, представлены на рисунке.

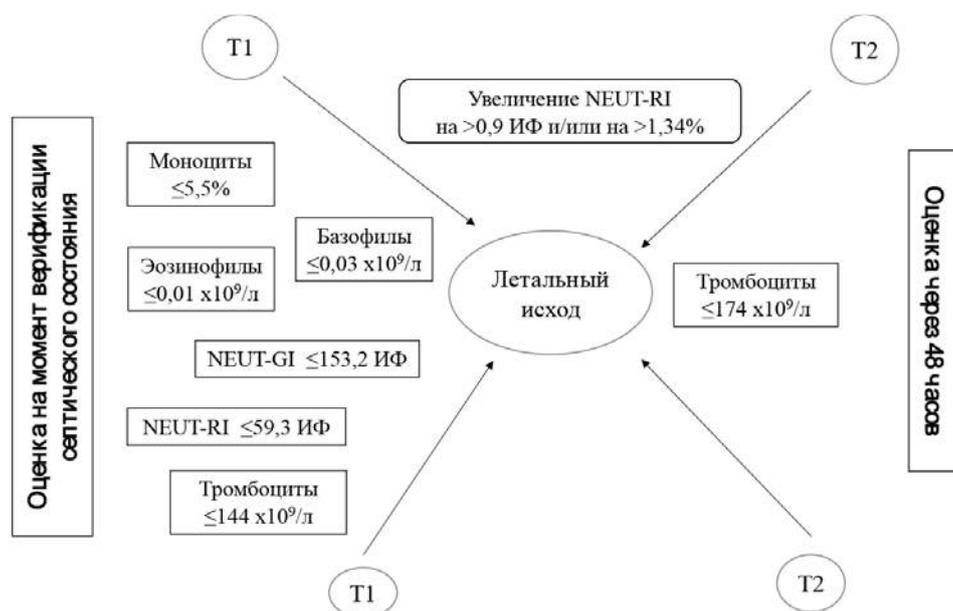


Рисунок. Факторы, ассоциированные с летальным исходом при уросепсисе: T1 – исходное значение; T2 – оценка через 48 ч

ОБСУЖДЕНИЕ

Сепсис вне зависимости от локализации источника инфекции является жизнеугрожающим состоянием и характеризуется системным воспалением с развитием дисфункции различных органов, нарушением гемодинамики и системной гипотензии, а также тканевой гипоксии. Реализация механизмов септического процесса не может не оказывать влияния на систему крови, которое наиболее часто ассоциируется с развитием коагуляционных нарушений и тромбоцитопении, а также разнонаправленными изменениями в лейкоцитарной формуле [9].

При сепсисе низкое количество тромбоцитов является хорошо известным биомаркером тяжести заболевания. В последнее время исследователи сосредоточили свое внимание на активной роли тромбоцитов в патогенезе полиорганной недостаточности и рассматривают их в качестве потенциальной терапевтической мишени при сепсисе [10]. Предполагается, что преобладающими являются периферические процессы, так называемое потребление тромбоцитов, определяемое их активацией, хемотаксисом и изоляцией в микроциркуляторном русле. Также обсуждаются иммунное разрушение и диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови [11]. В данном исследовании группа умерших пациентов отличалась снижением уровня тромбоцитов крови в обеих точках исследования. Отметим, что значения тромбоцитов на момент верификации сепсиса составляли $144 \times 10^9/\text{л}$ и менее, через 48 ч – менее $174 \times 10^9/\text{л}$ и были ассоциированы с летальным исходом.

Известно, что при сепсисе инфекция запускает сложный и продолжительный ответ хозяина, в котором участвуют системы как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа. Дисбаланс в системе продукции про- и противовоспалительных иммунорегуляторных молекул, а также неадекватное вовлечение эффекторных клеток ухудшает реакцию хозяина на инфекционные агенты и вызывает повреждение тканей. Недавние исследования на пациентах с сепсисом подтвердили, что значительное истощение циркулирующих CD4+ и CD8+ лимфоцитов ассоциировано со смертельным исходом в данной группе больных [12].

В выполненном нами исследовании в первые 48 ч в обеих группах зафиксировано значительное увеличение абсолютного числа нейтрофилов. В группе пациентов с неблагоприятным исходом лечения УС отмечена тенденция к развитию абсолютной лимфоцитопении (менее $1,0 \times 10^9/\text{л}$) с исходно более низким уровнем моноцитов. Количество эозинофилов в данной популяции пациентов приближалось к нулю.

Эозинопения нередко наблюдается при тяжелых непаразитарных инфекциях, характеризующихся сдвигом гемопоэза в сторону увеличения числа нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови. По данным Н. Shaaban и соавт. (2010), содержание эозинофилов менее 50 клеток/мкл с чувствительностью 81%, специфичностью 65% ассоциировалось с наличием сепсиса у взрослых [13]. В систематическом литературном обзоре отмечается, что из 39 проанализированных исследований, посвященных роли эозинофилов при сепсисе, в 11 исследованиях была

продемонстрирована связь между эозинопенией и сепсисом, а в восьми исследованиях обнаружена стойкая эозинопения через более чем 48 ч после поступления в ОРИТ. Авторы делают выводы о том, что стойкая периферическая эозинопения является маркером бактериального сепсиса и независимо связана с неблагоприятными исходами, такими как смерть или повторная госпитализация [14].

В выполненном нами исследовании в качестве предикторов летального исхода зарегистрированы исходные значения (показатели на момент верификации УС) эозинофилов – 0% и моноцитов – 5,5% и более в лейкоцитарной формуле, а также абсолютное число эозинофилов 10 клеток/мкл и менее и абсолютное число базофилов 30 кл/мкл и менее. Полученные данные в отношении прогностического значения числа базофилов в периферической крови у больных УС соотносятся с данными X. Chen и соавт. (2023), которые обнаружили, что отсутствие базофилов в крови у пациентов с сепсисом, находившихся в ОРИТ, ассоциировалось с критическим прогрессированием заболевания, положительно коррелировало с 28-дневной смертностью и служило независимым предиктором прогноза неблагоприятного исхода для данной группы больных (отношение шансов (ОШ) 3,425; 95%-й ДИ (3,717–3,165), $p < 0,001$) [15].

Моноциты играют важную роль в развитии сепсиса. Однако диагностическое и прогностическое значение изменения количества моноцитов является спорным. Некоторые авторы сообщают об увеличении количества моноцитов в периферической крови, в то время как другие описывают моноцитопению, связанную с повышенной смертностью [16, 17].

Современные возможности гематологического анализатора позволяют дополнительно оценить такие показатели, как интенсивность нейтрофильной зернистости и интенсивность реактивности нейтрофилов, обладающие, по нашему мнению, прогностическим потенциалом при сепсисе. Данные показатели являются индикаторами врожденного иммунного ответа: увеличение значения NEUT-GI отражает усиление воспалительного процесса, а NEUT-RI – метаболическую активность популяции нейтрофилов [18]. NEUT-RI потенциально может коррелировать с развитием сепсиса [19]. Так, NEUT-RI может предсказывать появление в периферической крови незрелых гранулоцитов и, таким образом, выступать в роли раннего маркера бактериальной инфекции. При этом повышение уровня NEUT-RI коррелировало с ростом концентрации иммуноглобулинов в периферической крови в течение 72 ч от развития инфекции [20]. Аналогично в исследовании R.J. Dinsdale и соавт. (2017) значение NEUT-RI было значительно

выше у пациентов с сепсисом после ожоговой травмы по сравнению с пациентами без сепсиса, что указывает на возможность ранней диагностики сепсиса [18]. В исследовании E. Mantovani и соавт. (2023) продемонстрировано, что у пациентов в ОРИТ для диагностики сепсиса NEUT-RI показал AUC $> 0,80$ и лучшую прогностическую ценность отрицательного результата, чем прокальцитонин и С-реактивный белок (87,4 против 83,9% и 86,6%, $p = 0,038$) [20].

Несмотря на то что в выполненном нами исследовании при УС исходно и через 48 ч группы сравнения по значению NEUT-RI статистически значимо не отличались, характер изменения этого показателя в первые 2 сут в группах был разнонаправленным ($p < 0,05$). Так, в группе пациентов с летальным исходом значение NEUT-RI продолжило рост с более низких значений, в то время как в группе с благоприятным исходом госпитализации наметилась тенденция к снижению показателя. При этом методом ROC-анализа выявлено, что исходная величина NEUT-RI $\leq 59,3$ ИФ, а также увеличение данного показателя через 48 ч на более чем 0,9 ИФ прогнозировали наступление летального исхода. Отметим, что исходный уровень NEUT-GI $\leq 153,2$ ИФ также был ассоциирован со смертью больных УС. Возможно, запоздалая активация нейтрофилов с относительно низким исходным уровнем зернистости при УС отражает отсроченный и неадекватный ответ на инфекцию, что может быть связано с увеличением риска летального исхода при УС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что определенные гематологические параметры могут служить предикторами летального исхода при УС. Например, было обнаружено, что низкий уровень тромбоцитов на момент верификации сепсиса и через 48 ч, а также изменение значений некоторых параметров лейкоцитарной формулы могут быть связаны с летальным исходом.

Такие параметры, как интенсивность нейтрофильной зернистости и реактивности нейтрофилов, также могут играть важную роль в прогнозировании исхода сепсиса. Их изменения в первые дни заболевания могут быть индикаторами тяжести процесса и свидетельствовать о неадекватном иммунном ответе на инфекцию.

Таким образом, гематологические параметры, изученные в данном исследовании, могут быть полезны для оценки риска летального исхода при УС и использоваться в качестве предикторов его развития. Дальнейшие исследования и клинические наблюдения могут помочь уточнить их роль в прогнозировании и лечении данной группы пациентов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Guliciuc M., Maier A.C., Maier I.M., Kraft A., Cucuruzac R.R., Marinescu M. et al. The Urosepsis-A Literature Review. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(9):872. DOI: 10.3390/medicina57090872.-
2. Hotchkiss R.S., Karl I.E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348(2):138–150. DOI: 10.1056/NEJMra021333.
3. Cardoso T., Ribeiro O., Costa-Pereira A., Carneiro A. & a SACiUCI Study Group. Community-acquired and health-care-related urosepsis: a multicenter prospective study. *Crit. Care*. 2008;12(2):P8. DOI: 10.1186/cc6229.
4. Weiss S.L., Peters M.J., Alhazzani W., Agus M.S.D., Flori H.R., Inwald D.P. et al. Surviving sepsis campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children. *Int. Care Med.* 2020;46(1–1):10–67. DOI: 10.1007/s00134-019-05878-6.
5. Porat A., Bhutta B.S., Kesler S. Urosepsis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
6. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
7. Shebl E., Gulick P.G. Nosocomial Pneumonia. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
8. Федеральные клинические рекомендации. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. М., 2022.
9. Orfanu A.E., Popescu C., Leuştean A., Negru A.R., Tilişcan C., Aramă V. et al. The importance of haemogram parameters in the diagnosis and prognosis of septic patients. *J. Crit. Care Med. (Targu Mures)*. 2017;3(3):105–110. DOI: 10.1515/jccm-2017-0019.
10. Greco E., Lupia E., Bosco O., Vizio B., Montrucchio G. Platelets and multi-organ failure in sepsis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(10):2200. DOI: 10.3390/ijms18102200.
11. Серебряная Н.Б., Якуцени П.П. Тромбоциты в развитии сепсиса, септического шока и синдрома полиорганной недостаточности. *Медицинская иммунология*. 2020;22(6): 1085–1096. DOI: 10.15789/1563-0625-BPI-2090.
12. De Pablo R., Monserrat J., Prieto A., Alvarez-Mon M. Role of circulating lymphocytes in patients with sepsis. *Biomed. Res. Int.* 2014;2014:671087. DOI: 10.1155/2014/671087.
13. Shaaban H., Daniel S., Sison R., Slim J., Perez G. Eosinopenia: Is it a good marker of sepsis in comparison to procalcitonin and C-reactive protein levels for patients admitted to a critical care unit in an urban hospital? *J. Crit. Care*. 2010;25(4):570–575. DOI: 10.1016/j.jcrc.2010.03.002.
14. Al Duhailib Z., Farooqi M., Piticar J., Alhazzani W., Nair P. The role of eosinophils in sepsis and acute respiratory distress syndrome: a scoping review. *Can. J. Anaesth.* 2021;68(5):715–726. DOI: 10.1007/s12630-021-01920-8.
15. Chen X., Zhu X., Zhuo H., Lin J., Lin X. Basophils absence predicts poor prognosis and indicates immunosuppression of patients in intensive care units. *Sci. Rep.* 2023;13(1):18533. DOI: 10.1038/s41598-023-45865-y.
16. Radzyukevich Y.V., Kosyakova N.I., Prokhorenko I.R. Participation of monocyte subpopulations in progression of experimental endotoxemia (EE) and systemic inflammation. *J. Immunol. Res.* 2021;2021:1762584. DOI: 10.1155/2021/1762584;
17. Chung H., Lee J.H., Jo Y.H., Hwang J.E., Kim J. Circulating monocyte counts and its impact on outcomes in patients with severe sepsis including septic shock. *Shock*. 2019;51:423–429. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001193.
18. Dinsdale R.J., Devi A., Hampson P., Wearn C.M., Bamford A.L., Hazeldine J. et al. Changes in novel haematological parameters following thermal injury: A prospective observational cohort study. *Sci. Rep.* 2017;7(1):3211. DOI: 10.1038/s41598-017-03222-w.
19. Lee J., Gu J., Seo J.E., Kim J.W., Kim H.K. Diagnostic and prognostic values of neutrophil reactivity intensity (NEUT-RI) in pediatric systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2023;53(2):173–180.
20. Mantovani E.M.A., Formenti P., Pastori S., Roccaforte V., Gotti M., Panella R. et al. The Potential Role of Neutrophil-Reactive Intensity (NEUT-RI) in the Diagnosis of Sepsis in Critically Ill Patients: a retrospective cohort study. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(10):1781. DOI: 10.3390/diagnostics13101781.

Вклад авторов

Федосенко С.В. – разработка концепции и дизайна исследования, координация выполнения исследования, написание текста статьи, анализ литературы, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Родионова Ю.О. – составление базы данных, получение и интерпретация клинических данных. Иванова А.И. – статистическая обработка данных, интерпретация данных, написание текста статьи. Аржаник М.Б. – разработка концепции и дизайна исследования, статистическая обработка данных, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания. Семенова О.Л. – статистическая обработка данных. Нестерович С.В. – координация выполнения исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания. Старовойтова Е.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи. Зима А.П. – интерпретация данных лабораторных исследований, проверка критически важного интеллектуального содержания. Винокурова Д.А., Камалтынова Е.М. – проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста статьи. Калюжин В.В. – анализ литературы, интерпретация данных, окончательное утверждение содержания для публикации рукописи.

Информация об авторах

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

Родионова Юлия Олеговна – зав. отделом клинической фармакологии, врач клинический фармаколог, ассистент, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, rodionova.yo@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6819-6968>

Иванова Анастасия Игоревна – студент, медико-биологический факультет, СибГМУ, г. Томск, nastya-170502@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0001-7948-1665>

Аржаник Марина Борисовна – канд. пед. наук, доцент кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, arzh_m@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4844-9803>

Семенова Оксана Леонидовна – ст. преподаватель, кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, oksleon@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6866-5020>

Нестерович Софья Владимировна – канд. мед. наук, главный врач клиник, СибГМУ, г. Томск, snesterovich@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2098-2964>

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

Зима Анастасия Павловна – д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск, zima2302@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-9034-7264>

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

Камалтынова Елена Михайловна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск, eleant21@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2234-5355>

Калужин Вадим Витальевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhinvv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>

(✉) **Иванова Анастасия Игоревна**, nastya-170502@mail.ru

Поступила в редакцию 18.03.2024;
одобрена после рецензирования 03.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616.127-005.8-036.11-02:577.122.38
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-126-135>

Прогностическая ценность повышенного уровня трансаминаз в качестве предиктора неблагоприятного исхода у больных 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, г. Хошимин, Вьетнам
Вьетнам, 72410, г. Хошимин, ул. Дуонг Куанг Трунг, 02

² Кардиологическая больница Там Дык
Вьетнам, 756335, г. Хошимин, ул. Нгуен Лыонг Банг, 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 распространенность повышенного уровня аланинаминотрансферазы (аланинтрансаминазы, АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (аспартаттрансаминазы, АСТ) у больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ) и их возможное прогностическое влияние на госпитальную и долгосрочную смертность.

Материалы и методы. Проспективное наблюдательное исследование включало 416 последовательных пациентов с ОИМ без известного на момент госпитализации заболевания печени (медиана возраста 65 лет, 40,9% женщин, 46,9% с подъемом сегмента ST), которым выполняли коронарографию в течение первых 24 ч после поступления в стационар. Сывороточные показатели АСТ и АЛТ определялись сразу при поступлении. Значения сывороточных трансаминаз считались повышенными, если их уровень превышал верхнюю границу нормы, определенной для локальной лаборатории. Конечными клиническими точками обсервационного исследования были определены внутрибольничная и 18-месячная смертность. Связь между клиническими конечными точками и вероятными факторами риска, включая уровень сывороточных трансаминаз, оценивались с применением многофакторного логистического регрессионного анализа.

Результаты. Повышенные значения трансаминаз наблюдались у 28,6% пациентов с ОИМ: изолированное повышение АЛТ отмечалось у 17,8% больных, изолированная гиперферментемия АСТ – в 25% случаев. Внутрибольничная и 18-месячная смертность в исследовании составили 5,8 и 11,3% соответственно. Повышение уровня трансаминаз было связано с регистрацией подъема сегмента ST на электрокардиограмме (отношение шансов (ОШ) 1,873; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,218–2,881; $p = 0,004$), более низким систолическим и диастолическим артериальным давлением (ОШ 0,993; 95%-й ДИ 0,986–1,0; $p = 0,04$ и 0,979; 95%-й ДИ 0,964–0,994; $p = 0,007$ соответственно), высоким классом острой сердечной недостаточности по шкале Killip (ОШ 1,510; 95%-й ДИ 1,142–1,999; $p = 0,004$) и повышением уровня креатинина (ОШ 1,010; 95%-й ДИ 1,003–1,016; $p = 0,004$). В многофакторном анализе повышение трансаминаз независимо было ассоциировано с внутрибольничной и 18-месячной смертностью (ОШ 3,607; 95%-й ДИ 1,199–10,848; $p = 0,022$ и 2,182; 95%-й ДИ 1,011–4,708; $p = 0,047$ соответственно).

Заключение. Повышенный уровень трансаминаз обнаружен у трети пациентов с ОИМ. Он ассоциирован с определенными клиническими, биологическими и прогностическими особенностями, включая отрицательное прогностическое влияние на внутрибольничную и долгосрочную смертность пациентов с ОИМ.

✉ Хоанг Чыонг Хюй, truonghh@pnt.du.vn

Ключевые слова: аланинтрансаминаза, аспартаттрансаминаза, внутрибольничная смертность, долгосрочная смертность, острый инфаркт миокарда, прогноз

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явного или потенциального конфликта интересов, связанного с публикацией данной статьи.

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

Соответствие принципам этики. Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом Российского университета дружбы народов им. Патриса Лумумбы.

Для цитирования: Хоанг Ч.Х., Майсков В.В., Мерай И.А., Кобалава Ж.Д. Прогностическая ценность повышенного уровня трансаминаз в качестве предиктора неблагоприятного исхода у больных с острым инфарктом миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):126–135. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-126-135>.

Prognostic value of elevated transaminase levels as predictors of adverse outcomes 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

¹ Pham Ngoc Thach University of Medicine
02, Duong Quang Trung Str., Ho Chi Minh city, 72410, Vietnam

² Tam Duc Heart Hospital
04, Nguyen Luong Bang Str., Ho Chi Minh City, 756335, Vietnam

³ Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University)
6, Mikluho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

⁴ Vinogradov Municipal Clinical Hospital
61, Vavilova Str., Moscow, 117292, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the prevalence of elevated serum liver transaminases (LTs), including alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), and their impact on in-hospital and long-term mortality in patients with acute myocardial infarction (AMI).

Materials and methods. The prospective observational study included 416 consecutive AMI patients (median age 65 years, 40.9% female, 46.9% with ST elevation) without prior liver diseases, who underwent coronary angiography within 24 hours after hospitalization. AST and ALT levels were measured upon admission. LTs were considered as abnormal when their levels exceeded the local upper limit of normal. Clinical endpoints were all-cause in-hospital and 18-month mortality. Associations between clinical endpoints and various risk factors, including LT levels, were assessed by the multivariate logistic regression analysis.

Results. Elevated LT levels were seen in 28.6% of AMI patients: an isolated increase in ALT was noted in 17.8% of patients, while an isolated increase in AST was registered in 25% of cases. In-hospital and 18-month mortality was 5.8 and 11.3%, respectively. Abnormal LT levels were associated with the presence of ST elevation (odds ratio (OR) 1.873, 95% confidence interval (CI) 1.218–2.881, $p = 0.004$), lower systolic and diastolic blood pressure (OR 0.993, 95% CI 0.986–1.0, $p = 0.04$ and 0.979, 95% CI 0.964–0.994, $p = 0.007$, respectively), higher Killip class (OR 1.510, 95% CI 1.142–1.999, $p = 0.004$), and higher creatinine level (OR 1.010, 95% CI 1.003–1.016, $p = 0.004$). In the multivariate analysis, elevated LT levels were independently associated with in-hospital and 18-month mortality (OR 3.607, 95% CI 1.199–10.848, $p = 0.022$ and 2.182, 95% CI 1.011–4.708, $p = 0.047$, respectively).

Conclusion. Elevated LT levels were present in about a third of patients with AMI. They were associated with specific clinical, biological, and prognostic features, including in-hospital and long-term mortality in AMI patients.

Keywords: acute myocardial infarction; alanine transaminase; aspartate transaminase; in-hospital mortality; long-term mortality, prognosis

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

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

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at RUDN University.

For citation: Hoang T.H., Maiskov V.V., Merai I.A., Kobalava Zh.D. Prognostic value of elevated transaminase levels as predictors of adverse outcomes in patients with acute myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):126–135. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-126-135>.

ВВЕДЕНИЕ

Острый инфаркт миокарда (ОИМ) развивается вследствие острой тотальной или субтотальной обструкции просвета коронарной артерии тромбом на поверхности изъязвленной атеросклеротической бляшки или тромбоемболом. Острая продолжительная ишемия миокарда приводит к некрозу кардиомиоцитов в бассейне инфаркт-ответственной артерии [1]. Обширный ОИМ вызывает острое угнетение насосной функции сердца, что приводит к снижению сердечного выброса, транзиторной гипоперфузии паренхиматозных органов, вплоть до некротизирования тканей, и развитию пассивного венозного застоя [2]. Эти гемодинамические колебания в значительной мере влияют и на печень, которая получает до четверти от минутного объема крови, выбрасываемого левым желудочком сердца в систему большого круга кровообращения [3].

В клинической практике уровни сывороточных аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) регулярно определяются для оценки функции печени [4]. Аланинаминотрансфераза, преимущественно локализованная в гепатоцитах с минимальным распространением в сердечной, почечной и мышечной тканях, служит специфическим маркером в качестве критерия печеночной дисфункции [4]. В отличие от АЛТ повышение АСТ связано с разрушением клеточных структур не столько печеночной ткани, но и других различных локализаций, включая сердце, эритроциты, скелетную мускулатуру, почки и мозг. Повышенный уровень АСТ закономерно наблюдается после ишемической гибели клеток в этих органах [4]. Хотя предыдущие исследования продемонстрировали связь между повышением уровня трансаминаз и сердечно-сосудистыми исходами [5–8], распространенность гипертрансаминаземии и связанные с ней исходы у пациентов с ОИМ остаются до конца не изученными.

Цель данного исследования – в проспективном исследовании изучить распространенность и выявить факторы риска повышения уровня трансаминаз в когорте пациентов с ОИМ, а также оценить их влияние на госпитальную и долгосрочную смертность от всех причин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Одноцентровое проспективное наблюдательное исследование проводилось в городской клинической больнице им. В.В. Виноградова (г. Москва, Россия) с января 2021 г. по декабрь 2022 г. В исследование включали последовательных госпитализированных пациентов в возрасте старше 18 лет с ОИМ, прошедших прямую коронарографию в течение 1-х сут с момента госпитализации. В исследование не включались больные с диагнозом инфаркта миокарда типа 3, 4 и 5, а также с внутригоспитальным инфарктом. Кроме того, из исследования исключались пациенты с повышенными значениями трансаминаз, указывающими на активность гепатитов В и С, цирроз печени, жировую дистрофическую болезнь печени, желчнокаменную болезнь, панкреатит, болезни костей, иные инфекционные заболевания, а также после известного употребления алкоголя накануне индексного события (соотношение АСТ к АЛТ равно 2 нормам и более) [9]. Диагноз ОИМ устанавливался на основе Третьего универсального определения инфаркта миокарда [10].

Нами собраны базовые демографические и клинические характеристики, факторы сердечно-сосудистого риска, сопутствующие заболевания, данные физического обследования, результаты анализов крови и инструментального исследования, включая электрокардиографию, эхокардиографию и прямую коронарографию. Пациенты с неполным медицинским анамнезом исключались из исследования. Анализ крови, полученный при поступлении, анализировался в главной лаборатории ГКБ им. В.В. Виноградова.

Уровень кардиального тропонина I измерялся с использованием системы иммуноанализа Access 2 (Beckman Coulter, США) с верхним предельным уровнем отсылки 99-го перцентиля в 0,02 нг/л. Показатели АЛТ и АСТ определялись с помощью клинического химического анализатора Beckman Coulter (AU 680, США) и считались повышенными, когда их значения были больше 50 Е/л для каждой. Повреждение печени классифицировалось в зависимости от степени гиперферментемии печеночных трансаминаз: легкое (больше чем в 1–2 раза выше верхней границы нормы (ВГН)), умеренное (в 2–5 раз больше ВГН) и тяжелое (в 5 раз больше ВГН) [11, 12]. Стратификация риска пациентов с инфарктом миокарда выполнялась с использованием шкалы Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE 2.0) [13].

Первичной конечной точкой была госпитальная смертность, полученная из медицинских записей. Вторичной конечной точкой была смертность за 18 мес. Смертность определялась как смерть от любых причин, зафиксированная в медицинских записях пациентов и реестрах смерти. Долгосрочная смертность оценивалась с помощью структурированных телефонных интервью через 1, 3, 6, 12, 15 и 18 мес после выписки. На дату завершения исследования вся информация о дальнейшем наблюдении была доступна. Исследование соответствовало рекомендациям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и было одобрено локальным этическим комитетом Медицинского института Университета дружбы народов им. Патриса Лумумбы. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс, США). Категориальные переменные описывались как частоты и проценты, а непрерывные переменные представлялись с использованием медианы и интерквартильного размаха (Me (Q_1 ; Q_3)). Для сравнения категориальных переменных использовались критерий χ^2 или точный

критерий Фишера, а для сравнения непрерывных переменных между группами – тест Краскела – Уоллиса. Для идентификации факторов риска, ассоциированных с повышенным уровнем трансаминаз, а также факторов, связанных с госпитальной и 18-месячной смертностью, использовались однофакторные и многофакторные логистические регрессионные модели. Рассчитывались отношение шансов (ОШ) и доверительный интервал 95%-й (ДИ). Значимость рассматривалась при двустороннем $p < 0,05$ для всех анализов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные клинические характеристики

Всего в исследование были включены 416 пациентов, из них 170 (40,9%) – женщин, 195 (46,9%) больных с подъемом сегмента ST на электрокардиограмме. Медиана возраста составила 65,0 лет. Группа больных с повышенным значением АЛТ и (или) АСТ достоверно отличалась от пациентов общей популяции и группы контроля по частоте встречаемости подъема сегмента ST, проявлению острой сердечной недостаточности по классификации Killip II–IV, повышением сывороточного креатинина, наличием интенсивного болевого синдрома в груди, более низким значением диастолического артериального давления и увеличением уровня тропонина. В остальном значимых различий между группами не выявлено.

Оценка результатов тестов на показатели трансаминаз

Повышение уровня трансаминаз было выявлено у 119 (28,6%) пациентов (только АЛТ или только АСТ в 17,8 и 25% случаев соответственно), в большинстве случаев оно было незначительным (табл. 2). В подгруппе с подъемом сегмента ST у 35,4% ($n = 69$) пациентов наблюдалось увеличение уровня АСТ и АЛТ, у 30,8% ($n = 60$) – уровня АСТ, а у 19% ($n = 37$) – уровня АЛТ. В подгруппе без подъема сегмента ST у 22,6% ($n = 50$) пациентов было обнаружено повышение показателей АСТ и АЛТ, у 18,6% ($n = 41$) – уровня АСТ, у 14% ($n = 31$) – уровня АЛТ.

Таблица 1

Основные характеристики пациентов с инфарктом миокарда				
Показатель	Популяция пациентов, $n = 416$	АСТ и АЛТ в норме, $n = 297$	Повышение АЛТ или АСТ, $n = 119$	p
Возраст, годы, Me (Q_1 ; Q_3)	65 (56; 74)	65 (55; 74)	65 (57; 76)	0,595
Женщины, n (%)	170 (40,9)	126 (42,4)	44 (37)	0,322
Подъем сегмента ST, n (%)	195 (46,9)	126 (42,4)	69 (58)	0,005
<i>Сердечно-сосудистый анамнез</i>				
Артериальная гипертензия, n (%)	370 (88,9)	259 (87,2)	111 (93,3)	0,084
ИБС, n (%)	177 (42,5)	132 (44,4)	45 (37,8)	0,229

Окончание табл. 1

Показатель	Популяция пациентов, n = 416	АСТ и АЛТ в норме, n = 297	Повышение АЛТ или АСТ, n = 119	p
Предшествующий ИМ, n (%)	85 (20,4)	67 (22,6)	18 (15,1)	0,106
Предшествующая реваскуляризация миокарда, n (%)	49 (11,8)	40 (13,5)	9 (7,6)	0,096
Предшествующая СН, n (%)	33 (7,9)	20 (6,7)	13 (10,9)	0,163
Сахарный диабет, n (%)	85 (20,4)	57 (19,2)	28 (23,5)	0,347
Предшествующий ЦВИ, n (%)	32 (7,7)	20 (6,7)	12 (10,1)	0,308
Фибрилляция предсердий в анамнезе, n (%)	43 (10,3)	30 (10,1)	13 (10,9)	0,859
ХБП, n (%)	32 (7,7)	24 (8,1)	8 (6,7)	0,839
ЗПА, n (%)	12 (2,9)	7 (2,4)	5 (4,2)	0,336
Хроническое заболевание легких, n (%)	60 (14,4)	40 (13,5)	20 (16,8)	0,440
ЯБ желудка и 12-перстной кишки, n (%)	39 (9,4)	30 (10,1)	9 (7,6)	0,464
Анемия, n (%)	107 (25,7)	72 (24,2)	35 (29,4)	0,321
Боль в грудной клетке, n (%)	380 (91,3)	277 (93,3)	103 (86,6)	0,034
Одышка, n (%)	81 (19,5)	56 (18,9)	25 (21)	0,681
Класс Killip II–IV, n (%)	98 (23,6)	61 (20,5)	37 (31,1)	0,029
Систолическое АД, мм рт. ст., Me (Q ₁ ; Q ₃)	138 (120; 160)	140 (120; 160)	130,5 (111,5; 160)	0,063
Диастолическое АД, мм рт. ст., Me (Q ₁ ; Q ₃)	80 (74; 90)	80 (77; 90)	80 (67,7; 83,2)	0,005
Тропонин I, нг/мл, Me (Q ₁ ; Q ₃)	0,39 (0,10; 2,88)	0,25 (0,09; 1,69)	1,83 (0,30; 7,45)	<0,001
Гемоглобин, г/л, Me (Q ₁ ; Q ₃)	137 (123; 146)	136 (123; 146)	138 (122; 148)	0,734
АЛТ, Е/л, Me (Q ₁ ; Q ₃)	25 (18; 40)	21 (15; 28)	53,3 (36; 87)	<0,001
АСТ, Е/л, Me (Q ₁ ; Q ₃)	29 (23; 49,2)	25 (21; 31)	77 (55; 129,9)	<0,001
Креатинин, мкмоль/л, Me (Q ₁ ; Q ₃)	95 (82; 109)	94 (81,2; 108)	96 (84; 121)	0,029
СКФ < 60 мл/мин/1,73м ² , n (%)	160 (39,5)	110 (37,2)	54 (45,4)	0,149
ФВЛЖ, %, Me (Q ₁ ; Q ₃)	45 (40; 55)	45 (40; 55)	44 (40; 53)	0,288
Отсутствие поражений (стеноз) <50% КА, n (%)	55 (13,2)	38 (12,8)	17 (14,3)	0,749
Трехсосудистое поражение КА, n (%)	203 (48,8)	153 (51,5)	50 (42)	0,084
ЧКВ, n (%)	328 (78,8)	235 (79,1)	93 (78,2)	0,894
Шкала GRACE, баллы, Me (Q ₁ ; Q ₃)	117 (97,2; 142,7)	116 (95,5; 140,5)	119 (99; 152)	0,081
<i>Смертность</i>				
Внутрибольничная, n (%)	24 (5,8)	11 (3,7)	13 (10,9)	0,009
За 18 мес, n (%)	47 (11,3)	27 (9,1)	20 (16,8)	0,038

Примечание. АД – артериальное давление; ЗПА – заболевания периферических артерий; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИКЧ – индекс коморбидности Чарльсона; ИМ – инфаркт миокарда; КА – коронарные артерии; СН – сердечная недостаточность; ФВЛЖ – фракция выброса левого желудочка; ХБП – хроническая болезнь почек; ЦВИ – цереброваскулярный инцидент; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; ЯЗ – язвенная болезнь.

Таблица 2

Уровень трансаминаз у пациентов при поступлении, n (%)		
Показатель	АЛТ, n = 416	АСТ, n = 416
Норма	342 (82,2)	312 (75)
1–2 раза ВГН	54 (13)	64 (15,4)
≥2–5 раз ВГН	17 (4,1)	28 (6,7)
≥5 раз ВГН	3 (0,7)	12 (2,9)

Факторы, ассоциированные с аномально высокими значениями трансаминаз в начале исследования

Однофакторный анализ продемонстрировал, что аномальные уровни АЛТ и (или) АСТ в начале исследования были ассоциированы с более высокой распространенностью подъема сегмента ST, высоким классом острой СН по Killip, большими значениями креатинина, систолического и диастолического АГ.

Таблица 3

Однофакторный логистический регрессионный анализ для оценки предикторов аномального уровня аланинаминотрансферазы и (или) аспаргатаминотрансферазы у пациентов с острым инфарктом миокарда			
Показатель	ОШ	95%-й ДИ	p
Подъем сегмента ST (да или нет)	1,873	1,218–2,881	0,004
Систолическое АГ (на каждый мм рт. ст.)	0,993	0,986–1,0	0,04
Диастолическое АГ (на каждый мм рт. ст.)	0,979	0,964–0,994	0,007
Класс Killip (на каждый класс)	1,510	1,142–1,999	0,004
Креатинин (на каждый мкмоль/л)	1,010	1,003–1,016	0,004

Аномалии функции печени и исход

Показатели общей смертности составляли 5,8 на госпитальном этапе и 11,3% через 18 мес соответственно. Повышенные значения АЛТ и АСТ в

3 раза чаще выявлялись среди пациентов, умерших на госпитальном периоде по сравнению с группой контроля без гипертрансаминаземии (10,9 против 3,7%; $p = 0,009$) и в 2 раза чаще среди пациентов, в последующем умерших через 18 мес (16,8 против 9,1%; $p = 0,038$) (см. табл. 1). Таблицы 4 и 5 представляют результаты многовариантного логистического регрессионного анализа, указывающие на то, что аномальные величины трансаминаз были значимым и независимым предиктором го-

спитальной (ОШ 3,607; 95%-й ДИ: 1,199–10,848; $p = 0,022$) и долгосрочной смертности (ОШ 2,182; 95%-й ДИ: 1,011–4,708; $p = 0,047$). Кроме того, факторы, связанные с увеличением шансов госпитальной и долгосрочной смертности, включали наличие анемии, трехсосудистого атеросклеротического поражения коронарных артерий и острой СН класса II–IV по классификации Killip. Следует обратить внимание на то, что возраст независимо ассоциировался только лишь с долгосрочным исходом.

Таблица 4

Многовариантный логистический регрессионный анализ предикторов госпитальной смертности при остром инфаркте миокарда				
Показатель	Однофакторный анализ	P	Многофакторный анализ	P
	ОШ (95%-й ДИ)		ОШ (95%-й ДИ)	
Возраст (на каждый год)	1,098 (1,051–1,147)	<0,001	1,030 (0,975–1,088)	0,287
Сахарный диабет (да или нет)	2,495 (1,052–5,916)	0,038	1,084 (0,349–3,368)	0,889
Фибрилляция предсердий (да или нет)	3,198 (1,195–8,556)	0,021	2,217 (0,659–7,460)	0,198
Анемия (да или нет)	8,149 (3,277–20,268)	<0,001	3,977 (1,313–12,051)	0,015
СКФ < 60 мл/мин/1,73 м ² (да или нет)	4,722 (1,821–12,246)	0,001	1,439 (1,443–4,677)	0,545
Трехсосудистое поражение коронарных артерий (да или нет)	4,296 (1,573–11,734)	0,004	4,572 (1,346–15,530)	0,015
Класс II и выше Killip (да или нет)	45,737 (10,526–198,727)	<0,001	26,432 (5,621–124,287)	<0,001
Повышение уровня АЛТ и (или) АСТ (да или нет)	3,189 (1,386–7,337)	0,006	3,607 (1,199–10,848)	0,022

Примечание. СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

Таблица 5

Многофакторный логистический регрессионный анализ предикторов долгосрочной смертности при остром инфаркте миокарда				
Показатель	Однофакторный анализ	P	Многофакторный анализ	P
	ОШ (95%-й ДИ)		ОШ (95%-й ДИ)	
Возраст (на каждый год)	1,102 (1,066–1,139)	<0,001	1,060 (1,018–1,104)	0,005
Сахарный диабет (да или нет)	2,002 (1,028–3,898)	0,041	1,103 (0,488–2,493)	0,814
Фибрилляция предсердий (да или нет)	2,334 (1,041–5,234)	0,040	1,170 (0,434–3,158)	0,756
Анемия (да или нет)	5,410 (2,871–10,192)	<0,001	2,722 (1,291–5,739)	0,009
СКФ < 60 мл/мин/1,73 м ² (да или нет)	2,781 (1,488–5,196)	0,001	1,233 (0,549–2,739)	0,611
Трехсосудистое поражение коронарных артерий (да или нет)	3,959 (1,955–8,017)	<0,001	3,260 (1,431–7,426)	0,005
Класс II и выше по Killip (да или нет)	6,295 (3,326–11,915)	<0,001	3,397 (1,634–7,062)	0,001
Пол (женский пол)	2,605 (1,395–4,865)	0,003	1,353 (0,592–3,091)	0,474
Предыдущий инсульт (да или нет)	4,263 (1,876–9,686)	0,001	2,333 (0,802–6,218)	0,124
Предыдущий инфаркт миокарда (да или нет)	2,002 (1,028–3,898)	0,041	1,237 (0,540–2,837)	0,615
Повышение уровня АЛТ и (или) АСТ (да или нет)	2,020 (1,084–3,764)	0,027	2,182 (1,011–4,708)	0,047

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты данного исследования демонстрируют, что повышение уровня печеночных трансаминаз было выявлено у трети больных с ОИМ. При этом наличие подъема сегмента ST на электрокардиограмме, более высокий класс острой СН по классификации Killip, низкое АД и повышенный показатель сывороточного креатинина независимо ассоциировались с увеличением уровня трансаминаз. Было установлено, что возрастание уровня трансаминаз в сыворотке крови независимо связано с худшим клиническим прогнозом – повышенными рисками госпитальной и долгосрочной смертности от всех причин.

Известно, что распространенность гипертрансаминаземии среди пациентов с ОИМ варьирует в зависимости от установленных пороговых значений и изучаемой популяции. Так, например, используя пороговые значения, рекомендованные локальными лабораториями (АЛТ > 50 Е/л для мужчин и > 40 Е/л для женщин; АСТ > 40 Е/л для мужчин и > 35 Е/л для женщин), М. Gao и соавт. обнаружили повышенный уровень АЛТ у 38,9% и АСТ у 71,9% из 2417 последовательных пациентов с ОИМ с подъемом сегмента ST (ОКСпST) [14]. Эти результаты выше, чем в нашем исследовании: 19% для АЛТ и 30,8% для АСТ.

В то же время, J. Moon и соавт. сообщили о распространенности гипоксического повреждения пече-

ни в 22% среди 456 пациентов ОКСпСТ, проходящих первичное транслюминальное коронарное вмешательство (первичное ЧКВ) [15]. Также имеются публикации, свидетельствующие о распространенности увеличения уровня трансаминаз до 19,5% среди 1 176 пациентов с ОКСпСТ [16]. В обеих работах в качестве пороговых значений сывороточных трансаминаз принималось повышение вдвое выше ВГН (>80 Е/л для АЛТ и >80 Е/л для АСТ). Используя критерии гипоксической гепатопатии, которые определяют острое печеночное повреждение как внезапное, кратковременное повышение в 10 или более раз верхнего порогового значения в течение 48 ч после ишемического события в двух или более последовательных заборах крови для лактатдегидрогеназы, АЛТ и АСТ, R. Birrer и соавт. установили распространенность гипоксического повреждения печени – 27% среди 87 пациентов с ОИМ [17]. Подобные вариации значений еще раз подчеркивают важность стандартизации диагностических критериев и необходимость соблюдения дидактических принципов для учета гетерогенности популяции пациентов при оценке аномального уровня трансаминаз в контексте заболевания ОИМ.

В проведенном нами исследовании было обнаружено, что повышение уровня трансаминаз ассоциировалось с признаками тканевой гипоперфузии, АГ, дисфункцией почек и СН, оцененной по классификации Killip. Данные результаты согласуются с ранее опубликованными исследованиями [11, 14], в которых повреждение гепатоцитов связывали с уменьшением перфузии в центрлобулярной зоне печени, где кровоток наименее интенсивен за счет анатомического более удаленного расположения от магистральных сосудов (печеночной артерии и портальных вен). Таким образом, снижение минутного кровотока вследствие быстрого угнетения миокарда и острой сердечно-сосудистой дисфункции может приводить к транзиторной ишемии печени.

Более того, патофизиологическое взаимодействие между сердцем и печенью имеет еще и общие механизмы с кардиоренальными синдромами, такими как увеличение венозного застоя и (или) снижение сердечного выброса, что может негативно влиять на функцию почек [18], как это и было продемонстрировано независимой связью между повышением уровня креатинина и трансаминаз в нашем анализе. Результаты нашего исследования еще раз подтверждают наличие ассоциации между повышением уровня трансаминаз и неблагоприятным клиническим краткосрочным и отдаленным прогнозом.

Результаты последних исследований демонстрируют, что острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST на электрокардиограмме с повышен-

ными значениями сывороточных трансаминаз связан с худшим клиническим прогнозом в госпитальном и отдаленном периодах наблюдения [14–16, 19–21]. J. Li и соавт. провели анализ 712 пациентов с ОИМ без известного заболевания печени, установив распространенность госпитальной смертности в этой популяции до 27% ($n = 192$). При этом многовариантный логистический регрессионный анализ установил, что значение АЛТ более двух ВГН является независимым предиктором госпитальной смертности (ОР 2,240; 95%-й ДИ 1,331–3,771; $p = 0,002$), в то время как уровень АСТ не подтвердил такой ассоциации [19].

Подобные результаты уже были получены А. Huseynov и соавт. при изучении прогностической ценности повышения сывороточных трансаминаз в предсказании госпитальных серьезных сердечно-сосудистых событий (ОНСС), определенных как комбинированный исход ОИМ: необходимости повторной реваскуляризации целевой артерии методами чрескожного коронарного стентирования или аорто-коронарного шунтирования и смерти от всех причин [20]. В исследовании было определено значение общей частоты госпитальной ОНСС, равной 9,8%, в основном вызванной смертью от всех причин (8,4%). В логистической регрессионной модели как АЛТ (ОШ 1,0018; 95%-й ДИ 1,0008–1,0028; $p = 0,0003$), так и АСТ (ОШ 1,0011; 95%-й ДИ 1,0005–1,0018; $p = 0,0006$) были независимо ассоциированы с ОНСС после коррекции по возрасту и уровню кардиоспецифических ферментов (тропонин I и креатинфосфокиназа) [20].

M. Gao и соавт. исследовали ассоциацию сывороточных трансаминаз с 2-летней смертностью у 2 417 пациентов с ОИМ и обнаружили, что показатели АЛТ и АСТ ≥ 95 -го перцентиля были ассоциированы с увеличенным риском неблагоприятных клинических исходов (ОШ 1,051; 95%-й ДИ 0,302–3,652) и (ОШ 1,796; 95%-й ДИ 0,588–5,481) соответственно, после коррекции факторов, способных оказать влияние на конечные результаты [14].

В качестве объяснения установленных ассоциаций рассматривались несколько потенциально возможных механизмов, объясняющих наличие связи между повышенным уровнем трансаминаз и худшим клиническим прогнозом на госпитальном и долгосрочном периодах, в том числе смерти от всех причин после перенесенного ОИМ. Печень, известная высокой скоростью тканевой перфузии и высоким содержанием кислорода вблизи печеночных сфероидов, обладающая высокой метаболической активностью, на самом деле очень чувствительна к снижению АД и продолжительной гипоперфузии, вызванной ОИМ. Подобный сце-

нарий индексного ишемического события вполне может быть ответственным за увеличение уровня АЛТ и АСТ в биохимическом анализе крови [11].

Кроме того, повышение уровня трансаминаз может являться следствием длительного венозного застоя печени, обусловленного дисфункцией правого желудочка [22]. Опубликованные работы подчеркивают важность проведения инструментального и лабораторного контроля за состоянием венозного полнокровия печени, снижения насыщения гепатоцитов кислородом и целостности мембран клеточной стенки гепатоцитов в развитии состояния с повышенным уровнем сывороточных аминотрансфераз [22, 23]. Хотя повышение уровня сывороточных трансаминаз может происходить и из ишемизированной мышечной ткани сердца, их увеличение часто указывает на гипоксическое повреждение печени вторично, особенно по отношению к осложненному течению ОИМ.

Один из самых крупных опубликованных мета-анализов, включивший более 9,24 млн наблюдений и 242 953 случая смерти от всех причин, продемонстрировал умеренно значимую ассоциацию АСТ с показателем смерти от всех причин, наряду с географическими изменениями в корреляции и повышенным значением АЛТ в общей популяции [24]. Обращает на себя внимание, что дополнительные исследования документировали повышение активности сывороточных аминотрансфераз, включая АЛТ и АСТ, у пациентов, страдающих СН и другими заболеваниями сердечно-сосудистой системы, при которых острое печеночное повреждение вызывается длительной ишемией или венозным застоем [25–28]. Результаты этих исследований дополнительно подтверждают наблюдаемую нами ассоциацию между повышением величины трансаминаз и риском смерти в госпитальном и отдаленном периодах у больных ОИМ.

Кроме повышения активности сывороточных аминотрансфераз, наше исследование дополнительно выявило несколько клинических факторов, которые также ассоциируются с увеличением госпитальной и 18-месячной смертности у пациентов с ОИМ, что также соответствует данным ранее опубликованных исследований [29–35]. Особенно следует отметить, что наличие анемии, трехсосудистого атеросклеротического поражения коронарных артерий и более высокого класса острой СН по классификации Killip при поступлении в стационар были значительно связаны с неблагоприятными клиническими исходами.

Анемия уже давно признается прогностическим индикатором неблагоприятных клинических исходов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, включая ОИМ. Ее ассоциация с

увеличенной смертностью обусловлена ролью в усугублении ишемии без того остроинфарктированного миокарда за счет снижения доставки кислорода к миокарду и увеличения нагрузки на миокард [31, 36, 37]. Аналогично анемии тяжесть атеросклеротического поражения коронарных артерий, особенно при трехсосудистом поражении, последовательно ассоциируется с более высокими показателями смертности у пациентов с ОИМ. Эта ассоциация в значительной степени обусловлена обширным повреждением миокарда и невозможностью полноценной перераспределительной компенсаторной гиперкинезии в бассейне инфаркт-неответственных коронарных артерий [33, 38].

Более высокий класс острой сердечной недостаточности по классификации Killip при поступлении в стационар отражает тяжесть СН и является независимым предиктором смертности у пациентов с ОИМ в нашем исследовании. Более высокий класс острой СН по классификации Killip указывает на обширное повреждение миокарда, угнетение его насосной функции и более глубокие гемодинамические расстройства кровообращения, приводящие к менее благоприятному прогнозу [32, 39]. Кроме того, возраст пациентов является одним из самых мощных факторов риска неблагоприятных клинических исходов у госпитализированных пациентов с острым коронарным синдромом, включая ОИМ. Пожилой возраст ассоциируется с возрастными физиологическими изменениями, сопутствующими заболеваниями, коморбидными состояниями и уменьшением физиологических резервов, приводящих к увеличению риска смерти [40]. В целом эти результаты подчеркивают многофакторную природу риска смерти среди пациентов с ОИМ и демонстрируют важность комплексной оценки этого риска, включающей демографические, клинические и лабораторно-инструментальные факторы для оптимизации стратегии лечения и улучшения прогноза.

Следует признать, что наше исследование имело несколько потенциальных ограничений. Во-первых, оно ограничено одним медицинским центром и относительно небольшим объемом выборки. Во-вторых, несмотря на усилия по исключению из исследования пациентов с известными заболеваниями печени на основе медицинских записей и факторов риска, потенциально влияющих на активность сывороточных трансаминаз, мы допускаем, что недиагностированные заболевания печени и прием медикаментов могли остаться незамеченными. Кроме того, наличие АСТ в органах помимо печени усложняет интерпретацию повышенного значения сывороточных трансаминаз, при этом точный

источник гиперферментемии может остаться и невыявленным. Нужно отметить, что определение уровня ферментов печени проводилось только 1 раз при поступлении в отделение интенсивной терапии, непосредственно после реваскуляризации, что также представляет собой ограничение исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышенные показатели трансаминаз при поступлении наблюдались у трети пациентов, госпитализированных с симптомами ОИМ, что значительно связано с подъемом сегмента ST на электрокардиограмме, систолическим и диастолическим АД, классом острой СН по классификации Killip и уровнем креатинина. Наше исследование продемонстрировало, что высокий уровень трансаминаз влияет на госпитальную и долгосрочную смертность, и эти результаты могут быть использованы для разработки будущих персонализированных стратегий лечения пациентов с ОИМ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S., Chaitman B.R., Bax J.J., Morrow D.A. et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur. Heart J.* 2019;40(3):237–269. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy462.
2. Samsky M.D., Morrow D.A., Proudfoot A.G., Hochman J.S., Thiele H., Rao S.V. Cardiogenic Shock After Acute Myocardial Infarction A Review. *JAMA.* 2021;326(18):1840–1850. DOI: 10.1001/jama.2021.25175.
3. Vollmar B., Menger M.D. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol. Rev.* 2009;89(4):1269–1339. DOI: 10.1152/physrev.00027.2008.
4. Kalas M.A., Chavez L., Leon M., Taweeseed P.T., Surani S. Abnormal liver enzymes: A review for clinicians. *World J. Hepatol.* 2021;13(11):1688–1698. DOI: 10.4254/wjh.v13.i11.1688.
5. Yun K.E., Shin C.Y., Yoon Y.S., Park H.S. Elevated alanine aminotransferase levels predict mortality from cardiovascular disease and diabetes in Koreans. *Atherosclerosis.* 2009;205(2):533–537. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.12.012.
6. Alvarez A.M., Mukherjee D. Liver abnormalities in cardiac diseases and heart failure. *Int. J. Angiol.* 2011;20(3):135–142. DOI: 10.1055/s-0031-1284434.
7. Poelzl G., Ess M., Mussner-Seeber C., Pachinger O., Frick M., Ulmer H. Liver dysfunction in chronic heart failure: Prevalence, characteristics and prognostic significance. *Eur. J. Clin. Invest.* 2012;42(2):153–163. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2011.02573.x.
8. Lee H., Shin D.W., Lee T.H., Yang H.K., Ahn E., Yoon J.M. et al. Association between change in serum aminotransferase and mortality a nationwide cohort study in Korea. *Med. (United States).* 2016;95(12):1–7. DOI: 10.1097/MD.00000000000003158.
9. Sutoh Y., Hachiya T., Suzuki Y., Komaki S., Ohmomo H., Kakisaka K. et al. ALDH2 genotype modulates the association between alcohol consumption and AST/ALT ratio among middle-aged Japanese men: a genome-wide G × E interaction analysis. *Sci. Rep.* 2020;10(1):16227. DOI: 10.1038/s41598-020-73263-1.
10. 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.
11. Nikolaou M., Parissis J., Yilmaz M.B., Seronde M.F., Kivikko M., Laribi S. et al. Liver function abnormalities, clinical profile, and outcome in acute decompensated heart failure. *Eur. Heart J.* 2013;34(10):742–749. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs332.
12. Krishnan A., Prichett L., Tao X., Alqahtani S.A., Hamilton J.P., Mezey E. et al. Abnormal liver chemistries as a predictor of COVID-19 severity and clinical outcomes in hospitalized patients. *World J. Gastroenterol.* 2022;28(5):570–587. DOI: 10.3748/wjg.v28.i5.570.
13. 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.
14. Gao M., Cheng Y., Zheng Y., Zhang W., Wang L., Qin L. Association of serum transaminases with short- and long-term outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2017;17(1):1–8. DOI: 10.1186/s12872-017-0485-6.
15. Moon J., Kang W., Oh P.C., Seo S.Y., Lee K., Han S.H. et al. Serum transaminase determined in the emergency room predicts outcomes in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction who undergo primary percutaneous coronary intervention. *Int. J. Cardiol.* 2014;177(2):442–447. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.09.002.
16. Oh P.C., Eom Y.S., Moon J., Jang H.J., Kim T.H., Suh J. et al. Prognostic impact of the combination of serum transaminase and alkaline phosphatase determined in the emergency room in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *PLoS One.* 2020;15(5):1–13. DOI: 10.1371/journal.pone.0233286.
17. Birrer R., Takuda Y., Takara T. Hypoxic hepatopathy: pathophysiology and prognosis. *Intern. Med.* 2007;46(14):1063–1070. DOI: 10.2169/internalmedicine.46.0059.
18. Ronco C., Haapio M., House A.A., Anavekar N., Bellomo R. Cardiorenal syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008;52(19):1527–1539. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.07.051.
19. Li J., Zhao Z., Jiang H., Jiang M., Yu G., Li X. Predictive value of elevated alanine aminotransferase for in-hospital mortality in patients with acute myocardial infarction. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2021;21(1):1–9. DOI: 10.1186/s12872-021-01903-z.
20. Huseynov A., Baumann S., Becher T., Koepf J., Lang S., Jabbour C. et al. Liver and cholestatic parameters as prognostic biomarkers of in-hospital MACE in patients with STEMI. *Eur. J. Clin. Invest.* 2016;46(8):721–729. DOI: 10.1111/eci.12655.
21. Kim J.G., Chang K., Choo E.H., Lee J.M., Seung K.B. Serum gamma-glutamyl transferase is a predictor of mortality in patients with acute myocardial infarction. *Med. (United States).* 2018;97(29). DOI: 10.1097/MD.00000000000011393.

22. Xanthopoulos A., Starling R.C., Kitai T., Triposkiadis F. Heart failure and liver disease: cardiohepatic interactions. *JACC Hear Fail.* 2019;7(2):87–97. DOI: 10.1016/j.jchf.2018.10.007.
23. Ndrepepa G. Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease – A narrative review. *J. Lab. Precis. Med.* 2021;6(6):1–17. DOI: 10.21037/jlpm-20-93.
24. Kunutsor S.K., Apekey T.A., Seddoh D., Walley J. Liver enzymes and risk of all-cause mortality in general populations: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* 2014;43(1):187–201. DOI: 10.1093/ije/dyt192.
25. Masoudkafir F., Karbalai S., Vasheghani-Farahani A., Aliabadi L.L., Boroumand M.A., Aiatollahzade-Esfahani F. et al. The association of liver transaminase activity with presence and severity of premature coronary artery disease. *Angiology.* 2011;62(8):614–619. DOI: 10.1177/0003319711405312.
26. Çalı K., Başar F.N., Tok D., Turak O., Başar Ö. How to interpret liver function tests in heart failure patients? *Turkish J. Gastroenterol.* 2015;26(3):197–203. DOI: 10.5152/tjg.2015.0086.
27. Møller S., Bernardi M. Interactions of the heart and the liver. *Eur. Heart J.* 2013;34(36):2804–2811. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz246.
28. Kavoliuniene A., Vaitiekiene A., Cesnaite G. Congestive hepatopathy and hypoxic hepatitis in heart failure: A cardiologist's point of view. *Int. J. Cardiol.* 2013;166(3):554–558. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.05.003.
29. Salisbury A.C., Amin A.P., Reid K.J., Wang T.Y., Masoudi F.A., Chan P.S. et al. Hospital-acquired anemia and in-hospital mortality in patients with acute myocardial infarction. *Am. Heart J.* 2011;162(2):300–309.e3. DOI: 10.1016/j.ahj.2011.05.021.
30. González-Ferrer J.J., García-Rubira J.C., Balcones D.V., Gil I.N., Barrio R.C., Fuentes-Ferrer M. et al. Influence of hemoglobin level on in-hospital prognosis in patients with acute coronary syndrome. *Rev. Esp. Cardiol.* 2008;61(9):945–952. DOI: 10.1157/13125516.
31. Younge J.O., Nauta S.T., Akkerhuis K.M., Deckers J.W., Van Domburg R.T. Effect of anemia on short- and long-term outcome in patients hospitalized for acute coronary syndromes. *Am. J. Cardiol.* 2012;109(4):506–510. DOI: 10.1016/j.amjcard.2011.09.046.
32. Steg P.G., Dabbous O.H., Feldman L.J., Cohen-Solal A., Aumont M.C., López-Sendón J. et al. Determinants and Prognostic Impact of Heart Failure Complicating Acute Coronary Syndromes: Observations from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Circulation.* 2004;109(4):494–499. DOI: 10.1161/01.CIR.0000109691.16944.DA.
33. 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.
34. Ndrepepa G. De Ritis ratio and cardiovascular disease: evidence and underlying mechanisms. *J. Lab. Precis. Med.* 2023;8(6):1–24. DOI: 10.21037/JLPM-22-68.
35. Schupp T., Rusnak J., Weidner K., Ruka M., Egner-Walter S., Dudda J. et al. Prognostic Value of the AST/ALT Ratio versus Bilirubin in Patients with Cardiogenic Shock. *J. Clin. Med.* 2023;12(16):5275. DOI: 10.3390/jcm12165275.
36. Bassand J.P., Afzal R., Eikelboom J., Wallentin L., Peters R., Budaj A. et al. Relationship between baseline haemoglobin and major bleeding complications in acute coronary syndromes. *Eur. Heart J.* 2010;31(1):50–58. DOI: 10.1093/eurheartj/ehp401.
37. Vicente-Ibarra N., Marín F., Pernías-Escrig V., Sandín-Rollán M., Núñez-Martínez L., Lozano T. et al. Impact of anemia as risk factor for major bleeding and mortality in patients with acute coronary syndrome. *Eur. J. Intern. Med.* 2019;61(May):48–53. DOI: 10.1016/j.ejim.2018.12.004.
38. 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.
39. Khot U.N., Jia G., Moliterno D.J., Lincoff A.M., Khot M.B., Harrington R.A. et al. Prognostic importance of physical examination for heart failure in non-ST-elevation acute coronary syndromes. *JAMA.* 2003;290(16):2174–2181.
40. Darden D.B., Moore F.A., Brakenridge S.C., Navarro E.B., Anton S.D., Leeuwenburgh C. et al. The effect of aging physiology on critical care. *Crit. Care Clin.* 2021;37(1):135–150. DOI: 10.1016/j.ccc.2020.08.006.

Информация об авторах

Хоанг Чыонг Хюй – канд. мед. наук, преподаватель, кафедра внутренних болезней, Медицинский университет Фам Нгок Тач; врач-кардиолог, кардиологическое отделение № 5, Кардиологическая больница Там Дык, г. Хошимин, Вьетнам, truonghh@pnt.du.vn, <https://orcid.org/0000-0002-2013-2647>

Майсков Виктор Викторович – канд. мед. наук, доцент, кафедра 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, г. Москва, maisikov-angio@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0002-2135-2606>

Мерай Имад Ахмадович – канд. мед. наук, доцент, кафедра 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, г. Москва, imadmerai@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0001-6818-8845>

Кобалава Жанна Давидовна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. каф. внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН, zkobalava@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5873-1768>

(✉) **Хоанг Чыонг Хюй**, truonghh@pnt.du.vn

Поступила в редакцию 23.02.2024;
одобрена после рецензирования 15.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616-018.2-007.17-06:616-008.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-136-144>

Гормонально-метаболические нарушения при дисплазиях соединительной ткани

Беспалова И.Д., Чомаева З.С., Тетенева А.В., Кошавцева Ю.И., Митриченко У.М., Романов Д.С., Нестерович С.В., Полякова Д.В., Букреева Е.Б., Сорокина Т.В., Калюжина Е.В., Тетенев К.Ф., Карзилов А.И., Месько П.Е., Боярко В.В., Черногорюк Г.Э., Чернявская Г.М.

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

РЕЗЮМЕ

В лекции обсуждаются результаты исследований отечественных и зарубежных ученых, касающиеся особенностей нарушений всех видов обмена и гормонального дисбаланса при недифференцированной дисплазии соединительной ткани (ДСТ). Понимание роли гормонально-метаболических нарушений в развитии и течении ассоциированных с ДСТ заболеваний имеет большое значение для разработки патогенетически обоснованных алгоритмов диагностики, лечения и профилактики неотложных состояний.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, нарушения обмена, гормональный статус

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: Беспалова И.Д., Чомаева З.С., Тетенева А.В., Кошавцева Ю.И., Митриченко У.М., Романов Д.С., Нестерович С.В., Полякова Д.В., Букреева Е.Б., Сорокина Т.В., Калюжина Е.В., Тетенев К.Ф., Карзилов А.И., Месько П.Е., Боярко В.В., Черногорюк Г.Э., Чернявская Г.М. Гормонально-метаболические нарушения при дисплазиях соединительной ткани. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):136–134. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-136-144>.

Hormonal and metabolic disorders in connective tissue dysplasia

Bespalova I.D., Chomaeva Z.S., Teteneva A.V., Koshchavtseva Yu.I., Mitrichenko U.M., Romanov D.S., Nesterovich S.V., Poljakova D.V., Bukreeva E.B., Sorokina T.V., Kalyuzhina E.V., Tetenev K.F., Karzilov A.I., Mesko P.E., Boyarko V.V., Chernogoryuk G.E., Chernyavskaya G.M.

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

ABSTRACT

The lecture considers the results of research conducted by Russian and foreign scientists concerning the characteristics of all types of metabolic disorders and hormonal imbalance in undifferentiated connective tissue dysplasia (CTD). Understanding the role of hormonal and metabolic disorders in the development and course of

✉ Беспалова Инна Давидовна, innadave@mail2000.ru

diseases associated with CTD is of great importance for the development of pathogenetically grounded algorithms for the diagnosis, treatment, and prevention of emergency conditions.

Keywords: connective tissue dysplasia, metabolic disorders, hormonal status

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: Bepalova I.D., Chomaeva Z.S., Teteneva A.V., Koshchavtseva Yu.I., Mitrichenko U.M., Romanov D.S., Nesterovich S.V., Poljakova D.V., Bukreeva E.B., Sorokina T.V., Kalyuzhina E.V., Tetenev K.F., Karzlov A.I., Mesko P.E., Boyarko V.V., Chernogoryuk G.E., Chernyavskaya G.M. Hormonal and metabolic disorders in connective tissue dysplasia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 024;23(3):136–134. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-136-144>.

ВВЕДЕНИЕ

Понятие «дисплазия соединительной ткани» (ДСТ) консолидируют структурно-функциональные нарушения соединительной ткани и обусловленные ими полиорганные системные проявления. Синдром ДСТ индексируется рядом определенных патологических состояний соединительной ткани, которые обозначают как генетические коллагеновые болезни в виду того, что они сопряжены с врожденными метаболическими и структурными дефектами коллагена. Помимо ряда детально описанных наследственных синдромов (синдром Марфана, Элерса – Данлоса, Стиклера и др.), имеют существенное социально-медицинское значение патологические изменения в виде неполных, стертых, неопределенных форм, которые объединяют в группу недифференцированных дисплазий соединительной ткани (нДСТ) [1]. Они не соответствуют диагностическим критериям вышеперечисленных генетически детерминированных синдромов, но при этом обладают набором признаков-фенов, свидетельствующих о наличии полиорганного соединительнотканного дефекта [2].

В виду системного характера проявлений симптомы нДСТ являются предметом профессионального интереса клиницистов разного профиля, не только педиатров и терапевтов, но и узких специалистов: кардиологов, хирургов, гинекологов, урологов, пульмонологов и др. [3]. Научный и практический интерес исследователей к данному патологическому процессу объясняется как высоким уровнем его распространенности, разнообразием фенотипических признаков, склонностью к прогрессивному течению и развитием неблагоприятных исходов, так и актуальностью поиска прогностически значимых маркеров тяжелого течения и осложнений ассоциированной патологии [4].

В настоящее время нет общепринятой классификации патологических состояний, объединенных

рамками нДСТ, которая бы устроила всех исследователей и клиницистов, нет единой позиции в отношении диагностических критериев, терминологии, оценки степени тяжести данного состояния. Однако пациенты с нДСТ представляют многочисленную группу с полиорганными нарушениями разной степени выраженности и требуют междисциплинарного подхода в их медицинском сопровождении [3–6].

НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ПРИ ДСТ

В основе формирования данного патологического процесса лежит генетически детерминированный дефект развития мезенхимального матрикса организма, сопровождающийся снижением прочности соединительнотканного каркаса систем и органов, с последующими морфофункциональными нарушениями, тесно связанными с изменением гормонально-метаболического состояния [7]. Показатели, характеризующие гормонально-метаболический статус, могут составить панель биологических маркеров ДСТ на доклиническом этапе, что определяет актуальность данного литературного анализа.

По мнению ряда авторов, ДСТ – это наследственно обусловленная метаболическая аномалия, в основе которой лежит нарушение формирования и созревания структур соединительной ткани организма, что и приводит к развитию диспластических изменений тканей, способствует возникновению заболеваний опорно-двигательного аппарата и внутренних органов [8]. Считают, что нарушенный синтез фибриллярного белка коллагена, основного структурного элемента соединительной ткани, лежит в основе органных дисфункций при ДСТ. Белки, включающие гликозаминогликаны – гликопротеины, выполняют структурную функцию в составе различных слизистых секретов и клеточных мембран, являясь важным компонентом межклеточного матрикса. Дезорганизация коллагена является

следствием нарушения межмолекулярных связей [9]. О состоянии коллагена на практике судят по уровню ряда аминокислот – структурных его компонентов в биологических средах организма. Оксипролин – одна из основных аминокислот коллагена, биомаркер, отражающий катаболизм данного белка. Повышение концентрации оксипролина в суточной моче взаимосвязано с тяжестью ДСТ и повышенным уровнем других аминокислот в крови – гидроксипролина, лизина, пролина [3].

Наличие ДСТ значительно влияет на толерантность и адаптацию к физическим нагрузкам. Пациенты с нДСТ часто страдают от нарушений опорно-двигательного аппарата вследствие физических нагрузок и предрасположены к повторным травмам [10]. В связи с этим наличие ДСТ подразумевает проведение персонализированного подхода к режиму физической активности у данных пациентов.

Астенический тип телосложения, ассоциированный с недостаточностью питания, по мнению ряда авторов, относится к наиболее важным фенотипическим признакам ДСТ и статистически значимо чаще наблюдается при данном патологическом процессе, чем в общей популяции [11]. Белково-энергетическая недостаточность при нДСТ регистрируется в 40% случаев и сопровождается нарушением всех видов обмена, что является основанием для активного поиска механизмов, объясняющих эту ассоциацию [12]. Существует точка зрения о том, что дефицит нутриентов во внутриутробном периоде в качестве адаптации приводит к сложным изменениям метаболизма, которые детерминируют коллагенопатию и связанную с ней дисфункцию систем организма. Ввиду того, что отражением адаптационных возможностей организма является статус гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [13], особенности гестационного периода могут программировать состояние этой системы и способствовать неблагоприятному прогнозу в отношении заболеваний во взрослом возрасте.

Это положение иллюстрируется данными литературы о том, что низкая масса тела новорожденных ассоциирована с артериальной гипертензией как у детей, так и у взрослых, а также с повышенной экскрецией андрогенов и глюкокортикоидов. Повышенная активность гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы способствует усилению катаболических процессов с прогрессирующей потерей массы тела на фоне гипопроteinемии и гипоальбуминемии. Высокий симпатический тонус обеспечивает увеличение интенсивности основного обмена и резкое снижение расходов энергии. Усиление катаболизма на фоне гипотрофии характеризуется

истощением вначале гликогеновых и жировых депо. Затем при значительном дефиците нутриентов происходит распад белка в мышечной ткани, снижается уровень транспортных белков крови. В результате белкового дефицита возникает угнетение иммунитета, связанное как с ограниченным синтезом иммуноглобулинов, так и неэффективной антиоксидантной защитой, что в совокупности способствует дефициту внутриклеточной энергии, нарушению адекватного транспорта микронутриентов, повреждению клеточных мембран [12].

Нарушение белкового обмена при ДСТ проявляется также изменениями сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, о чем свидетельствует наличие тромбоцитарных дисфункций у большинства детей [14]. Обнаружена взаимосвязь степени тяжести анемии с числом клинических признаков ДСТ. Это подтверждается низким уровнем гемоглобина, эритроцитов, ферритина и сывороточного железа [15]. Исследователи рассматривают разные механизмы развития анемий при ДСТ. Однако большинство склоняются к ведущей роли в сокращении продолжительности жизни эритроцитов нарушения структуры их подмембранного цитоскелета, что значительно влияет на эластичность и уменьшает их способность к упругой деформации при прохождении через микроциркуляторное русло [16, 17]. В частности, было показано, что у детей подросткового возраста с нДСТ наблюдается дисбаланс антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы). Это, в свою очередь, может приводить к накоплению в плазме крови агрессивных гидроперекисей, обладающих деструктивной активностью в отношении клеток крови, и способствовать развитию перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов [18].

Было также установлено, что дефицит массы тела новорожденных ассоциирован с инсулинорезистентностью и нарушением толерантности к глюкозе впоследствии. Поскольку скелетная мускулатура и жировая ткань относятся к основным периферическим тканям, на которые действует инсулин у взрослых, дефицит массы тела и гипотрофия при рождении могут быть рассмотрены как адаптивные проявления [19]. Однако исследователями Донецкого национального медицинского университета было показано, что у детей с нДСТ и функциональной диспепсией (ФД) уровни инсулина и кортизола статистически значимо были более низкими, чем у детей, не имевших признаки ДСТ, так и у здоровых лиц [20]. Усиление процессов катаболизма при дефиците массы тела и связанный с этим стресс ассоциированы также со снижением активности ферментов и синтеза инсулина, наблюдается увеличение индекса кортизол/инсулин.

При недостаточности питания связанной с ДСТ существенно меняется энергетический обмен, главным образом, с углеводного на липидный. Умеренная гипотрофия сопровождается усиленным распадом жира, в этом случае важным источником энергии становятся неэстерифицированные жирные кислоты (НЭЖК). В этих условиях активируется биосинтез жирных кислот из холестерина, что необходимо для удовлетворительного функционирования системы пищеварения и полноценного синтеза кортикостероидов – регуляторов реакций адаптации. При более тяжелой белково-энергетической недостаточности с гипотрофией III степени на фоне замедления катаболизма жиров ухудшается усвоение НЭЖК, снижается уровень холестерина и его фракций в крови, что способствует нарушению структуры и функционирования клеточных мембран, уменьшению концентраций кортикостероидов и жирных кислот [12].

Нарушение липидного обмена при ДСТ – ключевое звено патогенеза формирования многих заболеваний лиц любого возраста. Полагают, что содержание свободных и связанных жирных кислот в крови служит дополнительным биомаркером ДСТ [3]. Обсуждается значение патологии клеточных мембран, липидного и жирно-кислотного состава плазмы крови в патогенезе артериальной гипертензии и других заболеваний сердечно-сосудистой системы [21]. В настоящее время известно, что дефицит полиненасыщенных омега-3 жирных кислот лежит в основе возникновения сердечно-сосудистой патологии. Заболевания сердечно-сосудистой системы у детей занимают одно из ведущих мест в структуре патологии детского возраста [22, 23]. Изменения архитектоники сердца и магистральных сосудов у молодых лиц с ДСТ с их дисфункцией объясняют в том числе нарушением липидного обмена.

Нарушение минерального обмена является еще одним важным звеном патогенеза ДСТ, учитывая большую роль макро- и микроэлементов в формировании структуры соединительной ткани. Согласно литературным данным, у большей части пациентов с ДСТ отмечается изменение макро- и микроэлементного состава биологических сред. Так, у лиц с ДСТ описан дефицит следующих элементов: кремния, селена, калия, кальция, меди, марганца, магния и цинка. Все вышеперечисленные элементы в той или иной степени принимают участие в минерализации костной ткани, синтезе и созревании коллагена [24]. Сравнительный анализ клинико-лабораторных данных детей с дефицитом массы тела с ДСТ и без нее показал, что при отсутствии статистически значимых различий по антропометрическим показателям, включавшим данные биоимпедансометрии, у паци-

ентов без ДСТ количество минеральных веществ в организме находилось в пределах референсных значений [25].

Анализ литературных данных показал, что наибольший интерес исследователей направлен на изучение роли кальция и магния в патогенезе морфофункциональных нарушений, ассоциированных с ДСТ [26]. Дефицит этих элементов сопряжен не только со снижением прочности костного скелета по данным денситометрии, но и с нарушением структуры сосудистой стенки, функционирования нервной системы. При этом низкий уровень магния отрицательно коррелирует с выраженностью и количеством фенотипических признаков ДСТ [27, 28]. Известно также что гипомagneмия лежит в основе развития инсулинорезистентности и увеличивает риск нарушения толерантности к глюкозе. Нередко у детей с ДСТ обнаруживается дефицит не одного, а целого ряда микроэлементов, наиболее часто описываемым сочетанием, как и следовало ожидать, является одновременный дефицит кальция и магния, в то же время некоторыми исследователями описан сочетанный дефицит таких микроэлементов – активных участников коллагенообразования. как цинк, селен, йод и медь [29].

ГОРМОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ДСТ

Описанные выше нарушения обмена при изучаемом нами патологическом процессе имеют сложную гормональную регуляцию, это подтверждается результатами научных исследований, характеризующими гормональный дисбаланс при ДСТ. В виду того, что крайним проявлением нарушений углеводного обмена является сахарный диабет (СД) и формирование сосудистых и неврологических осложнений при этой патологии связано с вовлечением в патологический процесс соединительной ткани, принята попытка изучить особенности ассоциации нДСТ и СД. Было установлено, нДСТ негативно влияет на прогноз и течение СД 1-го [30] и СД 2-го типа, что проявляется более ранним истощением механизмов регуляции, снижением возможностей для реабилитации и психологической адаптации. Синдром нДСТ в сочетании с СД 2-го типа считается независимым сердечно-сосудистым фактором риска в отношении нарушений ритма сердечной деятельности, дисфункции клапанов и вегетативного дисбаланса, способствует симпатикотонии, электрической нестабильности миокарда и удлинению интервала PQ, увеличивает риск внезапной смерти [31].

Анализ результатов масштабного мониторинга функционального состояния основных систем организма продемонстрировал, что у пациентов с нДСТ

чаще наблюдалось некомпенсированное течение СД, на 2–3 года раньше и в 2 раза чаще возникали поздние осложнения, чем у пациентов без ДСТ [32]. Симптомы ДСТ расценивались как предикторы развития коморбидной патологии у больных СД 2-го типа, в первую очередь, заболеваний сердечно-сосудистой системы и опорно-двигательного аппарата [32]. У детей и подростков с СД 1-го типа на фоне с ДСТ такие осложнения, как диабетическая нейропатия и нефропатия, формируются в более ранние сроки от дебюта заболевания и имеют более тяжелое течение, чем у пациентов без дисплазии, что позволяет рассматривать их в качестве особой группы риска [33].

Патологию щитовидной железы относят к наиболее часто диагностируемой у пациентов с ДСТ. Аутоиммунный тиреоидит встречается более чем у 37% пациентов, что статистически значимо чаще, чем в группе контроля [34]. Тиреоидные гормоны участвуют в регуляции роста и созревании скелета [4]. Известно, что свободный тироксин и трийодтиронин активируют синтез коллагена I типа и остеокальцина в костях, также к биологическим эффектам гормонов щитовидной железы и тиреотропного гормона относят угнетение пролиферации фибробластов и дифференцировки хондроцитов в различных видах соединительной ткани, что лежит в основе увеличения плотности костей при гипотиреозе [35].

Краснодарскими исследователями было показано, что из всех эндокринных заболеваний, выявленных у больных нДСТ, наиболее распространенной является аутоиммунная патология щитовидной железы, диагностируемая в 37,7% случаев, и базальная и (или) постпрандиальная гиперинсулинемия (43,4%), что статистически значимо выше, чем в группе контроля [34]. Разными исследовательскими группами показано, что у молодых людей с нДСТ аутоиммунный тиреоидит диагностируется в 32,5% случаев, у женщин фертильного возраста – в 42,9% случаев, что чаще, чем в общей популяции. При этом частота и выраженность висцеральных, костно-суставных и кожных фенотипических признаков нДСТ более значительная, чем у лиц с нДСТ без патологии щитовидной железы. Также у этой категории лиц фиксируются более высокие титры антител к тиреопероксидазе и тиреоглобулину в отличие от здоровых, что позволяет рассматривать всех пациентов с нДСТ в качестве группы риска по развитию аутоиммунной тиреоидной патологии [36]. Высокий риск развития аутоиммунных тиреопатий и гипотироксинемии при синдроме гипермобильных суставов является основанием для активной диагностики нарушений функции щитовидной железы с последующей направленной персонифицированной

терапией и йодопрофилактикой у данной целевой группы [35].

Нарушение формирования репродуктивной системы у подростков является следствием нДСТ. У девочек наиболее распространенной проблемой является нарушение менструальной функции, характеризующееся ранним менархе, гипоменструальным синдромом и аменореей, а также маточными кровотечениями пубертатного периода. Гормональные и метаболические изменения и менструальная дисфункция, в свою очередь, усугубляют течение ДСТ. Оценка гормонального статуса девочек-подростков с нДСТ и нарушениями менструального цикла показала, что у девочек младшей возрастной группы (11–13 лет) с нДСТ обнаружено повышение уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и снижение лютеинизирующего гормона (ЛГ), индекс ЛГ/ФСГ был снижен до 0,7, что соответствует инфантильному типу гонадотропной функции и недостаточности лютеиновой фазы.

У девочек-подростков с нДСТ (14–16 лет) 55% также была диагностирована незрелость половой системы, что, возможно, связано с нДСТ (индекс пубертатной зрелости менее 1,0), однако у 45% пациентов отмечен высокий индекс пубертатной зрелости (2,0–2,5) [37]. Гормональный статус подростков с нДСТ обоих полов отличался более высоким уровнем гонадотропинов, чем у здоровых сверстников. При этом у пациентов с минимальными проявлениями дисплазии уровень ФСГ был значительно выше, чем у лиц контрольной группы и у пациентов с умеренной и тяжелой степенью тяжести, а уровень ЛГ был статистически значимо выше, чем в контрольной группе.

Однако при тяжелой дисплазии обнаружили гендерные особенности гормонального статуса. Так, в группе девочек на фоне тяжелой ДСТ уровни ФСГ были существенно снижены и имели обратную корреляцию со степенью тяжести дисплазии. В группе мальчиков были отмечены высокие значения показателей ФСГ и ЛГ при легкой степени нДСТ и низкие концентрации при тяжелой степени [37]. Это свидетельствует о том, что при тяжелой степени наблюдается угнетение гонадотропной функции гипофиза, тогда как при минимальных диспластических изменениях имеет место высокая гонадотропная активность. Гиперпролактинемия у подростков с нДСТ исследователи объясняют как реакцию, обусловленную неадекватным ответом организма на стресс. Известно, что пациенты с нДСТ характеризуются наличием кластера эмоционально-личностных и характерологических особенностей, что тоже требует глубокого изучения [38, 39].

Наличие ДСТ у мальчиков также может лежать в основе задержки полового развития, в том числе симптомов, которые требуют хирургического вмешательства, таких как микропенис, гипермобильность, гипоплазия яичек и варикоцеле [40]. Одним из проявлений ДСТ у мужчин может также являться варикоцеле. При обследовании 721 пациента в подростковом возрасте с диагнозом варикоцеле было установлено следующее: у тех пациентов, которые имели рецидив варикоцеле, верифицировано более семи диагностических признаков ДСТ, что позволяет рассматривать синдром нДСТ как причину развития рецидива. Характерным для этих пациентов явилось то, что у них обнаружено повышение уровня половых гормонов (эстрадиола и тестостерона) в крови лозовидного сплетения в десятки и сотни раз, что может свидетельствовать о гормональной регуляции данного патологического процесса [40].

Наличие нДСТ у пациенток сопряжено с высоким риском гестационных осложнений, таких как угрожающий и начавшийся выкидыш, истмико-цервикальная недостаточность, преждевременное излитие околоплодных вод и ретрохориальная гематома [41, 42]. При обследовании 80 беременных женщин с угрозой преждевременных родов и истмико-цервикальной недостаточностью распространенность фенотипических признаков нДСТ превышала 90% [43]. Описанные выше особенности гормонального дисбаланса и полового развития подростков могут отчасти объяснить полученные данные о негативном влиянии нДСТ на репродуктивную функцию и женщин, и мужчин.

Недостаточность питания – симптомокомплекс, имеющий важное медико-социальное значение в связи с высоким риском неблагоприятных прогнозов, ассоциированных с наличием данного синдрома. Полагают, что значительная часть нарушений обмена генетически обусловлена и определяющую роль в этом играют мутации генов адипокинов и рецепторов к ним. Адипокины – гормоноподобные вещества, секретируемые жировой тканью, дисбаланс которых может приводить к метаболическим нарушениям. Наиболее хорошо изучены биологические эффекты адипокинов при абдоминальном ожирении, метаболическом синдроме и ассоциированной с ним патологии [44, 45]. Ввиду имеющегося дефицита знаний патогенеза недостаточности питания на фоне высокой частоты и выраженности нарушений нутритивного статуса у пациентов с ДСТ была предпринята попытка оценить уровень ряда адипокинов и рецепторов к ним у пациентов с ДСТ и недостаточностью питания. Установлено, что у данной категории пациентов адипокиновый статус характеризует-

ся снижением уровня лептина и резистина в крови и повышением концентрации растворимых рецепторов к лептину и уровня адипонектина [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ДСТ вносит свой вклад в формирование патологии различных систем и органов, характеризуется широчайшим разнообразием проявлений. Нарушения обмена и гормональный дисбаланс являются не только проявлением этого патологического процесса, но и лежат в основе прогрессирования ассоциированных клинических состояний.

Понимание роли гормонально-метаболических нарушений в развитии и течении ассоциированных с ДСТ заболеваний имеет большое значение для разработки патогенетически обоснованных алгоритмов диагностики, направленного лечения, включая метаболическую терапию, эффективных персонализированных алгоритмов профилактики прогрессирования и осложнений патологического процесса, способствующих повышению качества жизни.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кадурина Т.И., Аббакумова Л.Н. Оценка степени тяжести недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2008;(2):15–20.
2. Котляров В.Л., Калинина М.А., Козловская Г.В., Шимонова Г.Н. Врожденная дисплазия соединительной ткани и малые аномалии развития сердца у детей как фактор риска развития психической патологии. *РМЖ. Мать и дитя*. 2022;5(4):346–350. DOI: 10.32364/2618-8430-2022-5-4-346-350.
3. Нохсорова М.А., Борисова Н.В., Аммосова А.М. Возможность диагностики недифференцированной дисплазии соединительной ткани с помощью биологических маркеров. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2019;(4):138–143. DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16435.
4. Богомолова И.К., Плотникова М.И. Роль макро- и микроэлементов при недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей. *Забайкальский медицинский вестник*. 2021;(3):59–69. DOI: 10.52485/19986173-2021-3-59.
5. Тетенева А.В., Беспалова И.Д., Сердюков Н.А., Бодрова Т.Н., Веснина Ж.В., Тонких О.С. и др. Структурные и функциональные нарушения бронхолегочной системы у пациентов с дисплазией соединительной ткани и недостаточностью питания. *Сибирское медицинское обозрение*. 2023;(6):33–40. DOI: 10.20333/25000136-2023-6-33-4.
6. Веснина Ж.В., Анашбаев Ж.Ж., Тетенева А.В., Кривоногов Н.Г., Беспалова И.Д., Сазонова С.И. и др. Радионуклидные методы в оценке легочной перфузии и вентиляции у пациентов с дисплазией соединительной ткани. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(3):22–27.
7. Абдукадилова Н.Б., Раббимова Д.Т., Хаятова З.Б. Роль дисплазий соединительной ткани в развитии патологии

- различных систем организма. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;(3):126–135. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-3-126-135.
8. Акатова Е.В., Аникин В.В., Арсентьев В.Г. и др. Недифференцированные дисплазии соединительной ткани (проект клинических рекомендаций). *Терапия*. 2019;7(33):9–42. DOI: 10.18565/therapy.2019.7.9-42.
9. Первых С.Л., Карпова Е.И. Этиологическое разнообразие в развитии дисплазии соединительной ткани. *РМЖ*. 2023;6:13–15.
10. Nikolenko V.N., Oganessian M.V., Vovkogon A.D., Cao Y., Churganova A.A., Zolotareva M.A. et al. Morphological signs of connective tissue dysplasia as predictors of frequent post-exercise musculoskeletal disorders. *BMC Musculoskeletal Disord*. 2020;21(1):660. DOI: 10.1186/s12891-020-03698-0.
11. Дворниченко М.В., Геренг Е.А., Карпова М.Р., Саприна Т.В., Черняховская Д.В., Насибов Т.Ф. Особенности антропометрических показателей как фенотипическая характеристика синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2023;38(4):159–166. DOI: 10.29001/2073-8552-2023-38-4-159-166.
12. Нечаева Г.И., Друк И.В., Лялюкова Е.А. Белково-энергетическая недостаточность в клинической практике. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2013;(7):23–26.
13. Рыжевол Е.В., Пархомчук Д.С., Ларькова И.В., Булгакова О.С. Психофизиологические механизмы состояния напряжения и стресса (обзор российских источников, 2005–2021). *Вестник психофизиологии*. 2021;4:19–36. DOI: 10.34985/r4281-7630-0414-w.
14. Скударнов Е.В., Выходцева Г.И., Колесникова О.И., Строзенко Л.А., Малюга О.М., Мироненко И.И. и др. Тромбоцитопатия у детей с недифференцированной дисплазией соединительной ткани. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2021;66(4):348.
15. Шодикулова Г.З., Мирзаев О.В., Фозилова М.Ш. Состояние периферической системы крови больных с дисплазией соединительной ткани. *Достижения науки и образования*. 2022;1(81):61–66.
16. Иванова И.И., Макарова И.И., Ибрагимова Ш.М., Саидалиева К.Д., Султонова Ф.С. Структурно-функциональные особенности эритроидного роста у пациентов с дисплазией соединительной ткани. *Уральский медицинский журнал*. 2022;21(6):136–143. DOI: 10.52420/2071-5943-2022-21-6-136-143.
17. Прошин А.Н., Машин В.В., Белова Л.А., Белов Д.В. Структура интракраниальных вен и упруго-вязкостные свойства мембран эритроцитов подростков с соединительно-тканной дисплазией. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2021;(3):47–60. DOI: 10.34014/2227-1848-2021-3-47-60.
18. Pochynok T.V., Vasiukova M.M., Kudlatska-Tyshko I.S. Peroxidative degradation of proteins and lipids in undifferentiated connective tissue dysplasia in children, Ukraine. *Narra J*. 2021;1(2):e41. DOI: 10.52225/narraj.v1i2.41.
19. Нечаева Г.И., Надей Е.В., Лялюкова Е.А., Цикунова Ю.С. Недостаточность питания у пациентов с дисплазией соединительной ткани: роль провоспалительных цитокинов и адипокинов, генетические основы. *Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний*. 2017;5(16):39–45. DOI: 10.24412/2311-1623-2017-16-39-45.
20. Пошехонова Ю.В. Влияние дисплазии соединительной ткани на гормональный фон детей с функциональной диспепсией. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2018;(3):32–37. DOI: 10.21626/vestnik/2018-3/05.
21. Вершинина М.В., Нечаева Г.И., Гудилин В.А. Относительный сердечно-сосудистый риск у пациентов молодого возраста с дисплазией соединительной ткани. *Терапия*. 2020;6(40):40–45. DOI: 10.18565/therapy.2020.6.40-44.
22. Логинова Е.Н., Нечаева Г.И., Дакуко А.Н., Богатырев И.В. Фенотипические особенности пациентов с аритмическим синдромом при недифференцированной дисплазией соединительной ткани. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2022;17(4):426–427.
23. Кудряшова М.В. Соединительно-тканые дисплазии сердца: клинические, иммунологические, гемодинамические аспекты. *Вестник совета молодых ученых и специалистов Челябинской области*. 2021;1(36):21–33.
24. Нечаева Г.И., Дрокина О.В., Друк И.В., Вершинина М.В., Лялюкова Е.А., Колменкова И.В. Основные направления в лечении пациентов с дисплазией соединительной ткани. *Лечащий врач*. 2014;(8):70.
25. Келейникова А.В., Титова О.Н., Матинян И.А., Таран Н.Н., Зубович А.И., Строкова Т.В. Нутритивный статус детей с дефицитом массы тела. *Медицинский алфавит*. 2021;(21):51–57. DOI: 10.33667/2078-5631-2021-21-51-57.
26. Кыткы О.В., Дыдыкина И.С., Санькова М.В., Крючко П.В., Чиликов В.В. Патогенетические аспекты недостаточности магния при синдроме дисплазии соединительной ткани. *Вопросы питания*. 2020;89(5):35–43. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10064.
27. Рожкова Н.С., Коваленко А.Д. Фенотипические маркеры дисплазии соединительной ткани в деятельности врача общей практики. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2021;11(7):155–157.
28. Акимова А.В., Попов А.А., Палабугина П.А. Оценка связи недифференцированной дисплазии соединительной ткани, числа переломов и риска дефицита магния у молодых мужчин. *Остеопороз и остеопатии*. 2020;23(1):25.
29. Сметанин М.Ю., Андреев С.Ю., Пименов Л.Т., Чистякова Т.В., Васильева О.А. Оценка показателей углеводного обмена, гормонального и тиреоидного статуса у пациентов с синдромом дисплазии соединительной ткани. *Пермский медицинский журнал*. 2011;28(6):70–74.
30. Мазепа С.И., Котовщикова Е.Ф., Вейцман И.А., Ломакина Н.А., Нечаева М.Н. Особенности течения сахарного диабета 1-го типа и его осложнений на фоне недифференцированной дисплазии соединительной ткани. *Казанский медицинский журнал*. 2023;104(6):877–884. DOI: 10.17816/KMJ340788.
31. Маслова И.С., Курникова И.А. Особенности течения сахарного диабета типа 2 в сочетании с патологией соединительной ткани. *Фундаментальные исследования*. 2010;(8):41–45.

32. Чернышова Т.Е., Курникова И.А., Маслова И.С. Дисплазия соединительной ткани: прогностическое значение в диабетологии. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2009;46(111):76–79.
33. Кеннер В.Е. Частота встречаемости мезенхимальной дисплазии у пациентов с сахарным диабетом 1 типа. Влияние мезенхимальной дисплазии на течение сахарного диабета 1 типа. *Scientist (Russia)*. 2019;4(10):13.
34. Иванова Л.А., Король И.В., Выткалова Н.В. Синдром недифференцированной дисплазии соединительной ткани и эндокринная патология. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2008;5(104):63–68.
35. Санеева Г.А. Структура и клиническое значение тиреоидной патологии в аспекте дисплазии соединительной ткани при гипермобильном синдроме. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017;1-1(55):160–163. DOI: 10.23670/IRJ.2017.55.042.
36. Сметанин М.Ю., Пименов Л.Т., Чернышова Т.Е., Кононова Н.Ю. Функциональное состояние щитовидной железы у женщин с дисплазией соединительной ткани. *Терапия*. 2019;2(28):71–74. DOI: 10.18565/therapy.2019.2.71-74.
37. Золото Е.В. Особенности гормонального статуса девочек-подростков с нарушением менструального цикла на фоне недифференцированной дисплазии соединительной ткани. *Медико-социальные проблемы семьи*. 2019;24(1):23–27.
38. Захарова И.Н., Творогова Т.М., Соловьева Е.А., Степурина Л.Л., Воробьева А.С. Дисплазия соединительной ткани: фактор риска остеопении у детей и подростков. *Медицинский совет*. 2020;(1):30–40. DOI: 10.21518/2079-701X-2020-1-30-40.
39. Галеева В.Р. Психологическое состояние людей молодого возраста с недифференцированной дисплазией соединительной ткани. *Scientist*. 2022;22(4):179–180.
40. Котов С.В., Корочкин Н.Д., Клименко А.А. Рецидивное варикоцеле. *Вестник урологии*. 2021;9(2):132–141. DOI: 10.21886/2308-6424-2021-9-2-132-141.
41. Кононенко И.С., Жукова Н.П. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани как значимый фактор риска невынашивания беременности. *Медицинские новости*. 2020;5(308):55–57.
42. Новицкая Т.В. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани как фактор риска гестационных осложнений. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2022;20(6):637–641. DOI: 10.25298/2221-8785-2022-20-6-637-641.
43. Ibadova T.V., Maliar V.V., Maliar V.V., Maliar V.V. Epidemiology of the prevalence of phenotypic signs undifferentiated connective tissue dysplasia syndrome in woman with miscarriages. *Wiad Lek*. 2021;74(4):880–883.
44. Беспалова И.Д. Лептин как индуктор воспаления и окислительного стресса при метаболическом синдроме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014;13(1):20–26.
45. Беспалова И.Д., Рязанцева Н.В., Калюжин В.В., Осихов И.А., Мурашев Б.Ю., Медянцева Ю.А. и др. Гендерные особенности взаимосвязи гормональной активности жировой ткани и провоспалительного статуса при гипертонической болезни с метаболическим синдромом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014;13(5):12–19.

Информация об авторах

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

Чомаева Зауата Сентумаровна – ординатор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, chomaeva.zs@ssmu.ru

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>

Кощавцева Юлия Игоревна – ассистент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, kossy09@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5260-4832>

Митриченко Ульяна Михайловна – аспирант, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, strashkova.um@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6091-4849>

Романов Дмитрий Сергеевич – аспирант, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, romanovds92@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0002-2028-4963>

Нестерович Софья Владимировна – канд. мед. наук, гл. врач клиник, СибГМУ, Томск, nesterovich.sv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2098-2964>

Полякова Дарья Викторовна – зам. гл. врача по медицинской части клиник, СибГМУ, Томск, polyakova.dv@ssmu.ru

Букреева Екатерина Борисовна – д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, kbukreeva@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7699-5492>

Сорокина Татьяна Васильевна – ассистент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, sorokina.tv@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6264-4632>

Калюжина Елена Викторовна – д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhina.ev@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7978-5327>

Тетенев Константин Фёдорович – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, tetenev.kf@ssmu.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@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3919-7205>

Месько Павел Евгеньевич – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, mpe106@mail.ru

Боярко Валентина Владимировна – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, vvboyarko@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5700-1640>

Черногорюк Георгий Эдинович – д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, e-mail: chernogoryuk.ge@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5780-6660>

Чернявская Галина Михайловна – д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, chernyavskaya.gm@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0105-2307>

(✉) **Беспалова Инна Давидовна**, innadave@mail2000.ru

Поступила в редакцию 06.02.2024;
одобрена после рецензирования 13.05.2024;
принята к публикации 25.05.2024

УДК 616.98:578.834.1]-092
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-145-154>

К вопросу о патогенезе COVID-19: роль трансформирующего фактора роста бета

Будневский А.В.¹, Овсянников Е.С.¹, Шишкина В.В.¹, Алексеева Н.Г.¹, Первеева И.М.^{1,2}, Китоян А.Г.¹, Антакова Л.Н.¹

¹ Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко (ВГМУ им. Н.Н. Бурденко) Россия, 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10

² Воронежская областная клиническая больница № 1 (ВОКБ № 1) Россия, 394066, г. Воронеж, Московский проспект, 151

РЕЗЮМЕ

Белки семейства трансформирующего фактора роста бета (TGF) β регулируют многочисленные клеточные процессы, которые играют важную роль в патогенезе острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), способствуют повышению проницаемости альвеолярного эпителия, активации фибробластов и ремоделированию внеклеточного матрикса. Трансформирующий фактор роста бета участвует в патогенезе воспалительных заболеваний дыхательной системы при развитии COVID-19. SARS-CoV-2 приводит к сложным иммунным реакциям, которые включают высвобождение воспалительных цитокинов, повышение активности тучных клеток и высвобождение продуктов их секретома, в частности профибротических ферментов и цитокинов, в том числе TGF- β .

Триптаза- и химаза-положительные тучные клетки играют большую роль в легочном фиброзе и эмболии при COVID-19. Химаза тучных клеток является независимым от ангиотензинпревращающего фермента 2-го типа путем образования ангиотензина II внеклеточно в интерстиции, а также активирует TGF- β и другие молекулы, тем самым играя роль в ремоделировании тканей. Бета-триптаза тучных клеток увеличивает секрецию TGF- β 1 гладкой мышечной тканью дыхательных путей и экспрессию α -гладкомышечного актина – α -SMA. TGF- β также индуцирует генерацию митохондриальных активных форм кислорода (АФК), что усиливает выработку АФК в фибробластах легких. TGF- β играет ключевую роль в индукции синтеза компонентов внеклеточного матрикса фибробластами.

Настоящий обзор посвящен рассмотрению структуры TGF- β , особенностям его секреции и функции. Представлен механизм его участия TGF- β в патогенезе COVID-19, а также возможности его использования в качестве прогностического маркера степени тяжести течения COVID-19.

Ключевые слова: трансформирующий фактор роста бета, COVID-19, тучные клетки, острый респираторный дистресс-синдром, воспаление

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

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

Для цитирования: Будневский А.В., Овсянников Е.С., Шишкина В.В., Алексеева Н.Г., Первеева И.М., Китоян А.Г., Антакова Л.Н. К вопросу о патогенезе COVID-19: роль трансформирующего фактора роста бета. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):145–154. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-145-154>.

✉ Алексеева Надежда Геннадиевна, nadya.alekseva@mail.ru

On the pathogenesis of COVID-19: the role of transforming growth factor beta

Budnevsky A.V.¹, Ovsyannikov E.S.¹, Shishkina V.V.¹, Alekseeva N.G.¹, Perveeva I.M.^{1,2}, Kitoyan A.G.¹, Antakova L.N.¹

¹ *N.N. Burdenko Voronezh State Medical University
10, Studencheskaya Str., Voronezh, 394036, Russian Federation*

² *Voronezh Regional Clinical Hospital No. 1
151, Moskovsky Av., Voronezh, 394066, Russian Federation*

ABSTRACT

Proteins of the transforming growth factor beta (TGF- β) family regulate numerous cellular processes that are essential in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome (ARDS), contributing to increased alveolar epithelial permeability, activation of fibroblasts, and extracellular matrix remodeling. TGF- β is involved in the pathogenesis of inflammatory respiratory diseases during the development of COVID-19. SARS-CoV-2 leads to complex immune responses that include the release of inflammatory cytokines, increased activity of mast cells, and the release of mast cell secretome, in particular profibrotic enzymes and cytokines, including TGF- β .

Tryptase- and chymase-positive mast cells play a major role in pulmonary fibrosis and embolism in COVID-19. Mast cell chymase is angiotensin-converting enzyme 2-independent due to extracellular formation of angiotensin II in the interstitium; it also activates TGF- β and other molecules, thereby playing a role in tissue remodeling. Mast cell β -tryptase increases the secretion of TGF- β 1 by airway smooth muscle tissue and the expression of α -smooth muscle actin (α -SMA). TGF- β also induces the generation of mitochondrial reactive oxygen species (ROS), which enhances the production of ROS in lung fibroblasts. TGF- β is crucial for inducing the synthesis of extracellular matrix components by fibroblasts.

The review is devoted to the structure of TGF- β , the sources of its secretion and functions, the mechanism of its involvement in the pathogenesis of COVID-19, and the possibility of its use as a prognostic marker of COVID-19 severity.

Keywords: transforming growth factor beta, mast cells, COVID-19, acute respiratory distress syndrome, inflammation

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: Budnevsky A.V., Ovsyannikov E.S., Shishkina V.V., Alekseeva N.G., Perveeva I.M., Kitoyan A.G., Antakova L.N. On the pathogenesis of COVID-19: the role of transforming growth factor beta. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):145–154. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-145-154>.

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия COVID-19, завершившаяся в мае 2023 г., продлилась более 3 лет. За это время исследования и открытия в области иммунологии совершили большой прорыв. COVID-19 заразилось более 700 млн человек по всему миру, при этом было зарегистрировано 6,9 млн смертей [1]. Одним из проявлений COVID-19, ассоциированным с длительными мультисистемными проявлениями, которые следуют за острым периодом инфекции, является состояние после COVID-19 – постковидный синдром.

Коронавирус 2 (SARS-CoV-2), вызывающий тяжелый острый респираторный синдром COVID-19,

приводит к сложным иммунным реакциям, таким как активация воспалительных цитокинов, повышение дегрануляционной активности тучных клеток (ТК) и высвобождение продуктов их секретомы [2, 3]. Рецептором для SARS-CoV-2 является ангиотензинпревращающий фермент 2-го типа (angiotensin convertin genzyme 2, ACE2), с которым связывается шиповидный белок на поверхности вируса. Тучные клетки синтезируют ACE2 и триптазу, способствующие развитию цитокинового шторма с повышенными уровнями воспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли-альфа (TNF α), интерлейкин (ИЛ) 6, ИЛ-1 β , тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP- Thymic Stromal Lymphopoietin) и др. [1, 4].

Тучные клетки активируются рибонуклеиновой кислотой (РНК) SARS-CoV-2 через белок 1, индуцируемый ретиноевой кислотой (RAI 1- Retinoic Acid Induced 1), toll-подобные рецепторы 3, 7, 8 (Toll-like receptor 3, 7, 8, TLR). Высокие концентрации TNF- α были зарегистрированы как в плазме, так и в тканях пациентов с COVID-19 [1, 4].

Исходный уровень экспрессии мРНК ACE2 в легких очень низкий по сравнению с другими органами, но он повышается в альвеолярных эпителиальных клетках после инфекции [5]. ACE2 расщепляется трансмембранной сериновой протеазой II типа (Transmembrane Serine Protease 2, TMPRSS2) и доменом дезинтеграрина и металлопептидазы (A Disintegrin And Metalloproteinase, ADAM) 17, способствуя проникновению вируса в клетки организма-хозяина [5]. SARS-CoV-2 увеличивает количество матричной РНК (мРНК) ACE2, трансформирующего фактора роста (Transforming growth factor-beta, TGF- β), фактора роста соединительной ткани (Connective Tissue Growth Factor, CTGF) и фибронектина (fibronectin, FN), которые являются факторами развития фиброза легких [5]. Следовательно, связывание SARS-CoV-2 с ACE2 приводит к увеличению транскрипции генов, ассоциированных с развитием фиброза легких [5].

Увеличение количества ТК влияет на относительно высокую частоту легочной эмболии при COVID-19, поскольку было обнаружено, что данные клетки индуцируют тромбоз посредством активации факторов свертывания крови и тромбоцитов. Триптаза- и химаза-положительные ТК играют значимую роль в легочном фиброзе и эмболии при COVID-19 [3]. Химаза является основным независимым от ACE2 путем образования ангиотензина II (Ang II), а также активирует TGF- β и другие молекулы, тем самым играя роль в ремоделировании тканей. Химаза-зависимое образование Ang II происходит внеклеточно в интерстиции [6].

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И СИНТЕЗА TGF- β

Семейство TGF- β присутствует у всех многоклеточных и играет ключевую роль в развитии, заживлении ран, иммунном ответе и онкогенезе [7–11]. Каждый из TGF- β 1, -2 и -3 (далее совместно именуемых TGF- β , если не указано иное) секретируются либо в виде малого латентного комплекса (Small Latent Complex, SLC), который состоит из биологически активного гомодимера, нековалентно связанного с его пропептидом (латентно-ассоциированный белок, Latency-Associated Protein, LAP), либо в

виде большого латентного комплекса (Large Latent Complex, LLC), в котором SLC ковалентно связан с латентным TGF- β связывающего белка-1, -3 или -4 (Latent Transforming Growth Factor- β Binding Protein, LTBP). В то время как LTBP-1 и -3 могут ассоциироваться со всеми изоформами TGF- β , LTBP-4 связывается только с TGF- β 1 с более низким сродством, чем другие LTBP [10, 12–14].

LTBP образуют латентные комплексы с TGF- β путем ковалентного связывания пропептида TGF- β (LAP) через дисульфидные связи в эндоплазматическом ретикулуме [9]. LAP, в свою очередь, отщепляется от зрелого предшественника TGF- β в транс-сети Гольджи, но LAP и TGF- β остаются прочно связанными посредством нековалентных взаимодействий LAP [9, 15]. Важно отметить, что каждый мономер LAP состоит из ряда относительно жестких α -спиралей и β -пластинок, но активный цитокин удерживается на месте множеством контактов с одной гибкой петлей, которая была названа латентным лассо, и эффективно удерживает активный TGF- β [8]. До тех пор, пока латентное лассо поддерживает тесные контакты с активным цитокином, TGF- β может накапливаться во внеклеточном пространстве практически без признаков активной передачи сигналов TGF- β или клеточных ответов [8].

LTBP, в первую очередь, играет роль в поддержании латентности TGF- β и направлении латентного фактора роста во внеклеточный матрикс, а также LTBP-1 участвует в активации TGF- β интегринами и может регулировать активацию TGF- β протеазами и другими факторами [9]. LTBP-3 играет роль в формировании скелета, включая развитие зубов. LTBP-2 и LTBP-4 идентифицированы как TGF- β -независимые активаторы, которые выполняют важные функции в регуляции TGF- β и стабилизируют пучки микрофибрилл и регулируют сборку эластических волокон [9]. Генетическая абляция обеих изоформ LTBP-4 (S: короткой, L: длинной) приводит к повышению активности TGF- β в легких. Это согласуется с предыдущим наблюдением, что LTBP-4L более эффективно взаимодействует с TGF- β [12]. Однако значительные количества LTBP1 и LTBP4 секретируются без SLC, так же, как LTBP2, который не может взаимодействовать с SLC [12]. Трансформирующий фактор роста бета в сочетании с его LAP может образовывать комплексы с LTBP-1, генерируемые фибробластами [16].

Активация расщепления TGF- β 1 и LAP индуцируется кислыми условиями окружающей среды или осуществляется внеклеточными протеазами, включая тромбоспондин-1, плазмин, катепсин D, матриксные металлопротеиназы (ММП) -2 и -9

и фуринконвертазу, интегрин [10]. Домен LAP TGF- β имеет последовательность RGD (аргинин-глицин-аспарагиновая кислота), которая опосредует связывание с интегринами [13].

Интегрин альфа ν бета 6 ($\alpha\nu\beta6$) активирует TGF- $\beta1$, а $\alpha\nu\beta8$, как было показано – TGF- $\beta1$ через мембраносвязанные ММП [10]. Члены семейства интегринов, которые взаимодействуют с RGD, могут активировать латентный TGF- $\beta1$ и TGF- $\beta3$ [17]. Гетеродимер $\alpha\nu\beta1$ был недавно признан регулятором латентного TGF- β при фиброзе, интегрин $\alpha\nu\beta5$ и $\alpha51$ участвуют в активации миофибробластов [18]. Интегрин $\alpha\nu\beta8$ является рецептором клеточной поверхности для LAP многофункционального цитокина TGF- β [19]. Измененная экспрессия субъединицы интегрин $\beta8$ (ITGB8) обнаруживается при хронической обструктивной болезни легких человека, раковых заболеваниях и пороках развития сосудов головного мозга [19]. Воспаление может изменять уровни TGF- β специфическими медиаторами, влияющими на транскрипцию генов [19]. Так, ИЛ-1 β увеличивает доступность факторов транскрипции к промотору ITGB8 (интегрин бета 8) в фибробластах легких посредством изменения архитектуры хроматина [19].

Передача сигналов суперсемейства TGF- β может быть опосредована Smad и сигнальными путями, не связанными с Smad, в частности, посредством активации митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), включая киназу, регулируемую внеклеточным сигналом (extracellular signal-regulated kinase, ERK), p38 и JNK (Jun Nконцевую киназу); а также через сигнальные пути фосфоинозитид-3-киназы (PI(3)K)/Akt (phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B) и NF-Kb (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) [10].

В дополнение к непротеолитическому механизму активации латентного TGF- β , протеолитические механизмы также участвуют в этом процессе. Протеолитические механизмы включают в себя протеазы, подразделяющиеся на содержащие гликозидазы (N-гликаназа и нейраминидаза) и сериновые протеазы (плазмин, катепсин D и ММП) [20, 21].

LTBPs структурно связаны с семейством белков – фибриллинами, в которое входят фибриллин-1 и фибриллин-2. Фибриллин-1 функционирует как ингибитор передачи сигналов TGF- β и является неотъемлемым компонентом микрофибрилл [22]. Микрофибриллы покрывают сердцевину эластин-содержащих волокон и способствуют временной и пространственной регуляции активации TGF- β [16]. Микрофибриллы состоят из фибриллинов, ассоциированных с микрофибриллами гликопротеинов и белков, связывающих TGF- β , среди которых фи-

бриллины являются основными компонентами, обеспечивающими каркас для агрегации эластинового полимера [23].

Экспрессия фибриллина-1 сохраняется на протяжении всей жизни, а экспрессия фибриллина-2 ограничивается развитием тканей плода [13]. Более того, фибриллин-1 вместе со связанными молекулами маскирует эпитопы фибриллина-2, блокируя его биоактивность. Следовательно, фибриллин 1 проявляет более сильную анти-TGF активность [16]. Фибриллины служат каркасами для сборки эластических волокон, которые способствуют поддержанию тканевого гомеостаза и регулируют передачу сигналов фактора роста во внеклеточном пространстве [14]. Фибриллин-1 представляет собой модульный гликопротеин, который включает семь латентных белковых доменов, связывающих его с TGF- β , и опосредует клеточную адгезию посредством связывания интегрин с мотивом RGD в его 4-м домене [14]. Активация TGF- β , опосредованная интегрин, важна для иммунной системы (интегрин $\alpha\nu\beta6$ и $\alpha\nu\beta8$), онкогенеза и функционирования фибробластов [11]. Оба интегрин $\alpha\nu\beta6$ и $\alpha\nu\beta8$ регулируют передачу сигналов TGF- β путем связывания с линейным трипептидом в зависимости от силы растяжения, создаваемой актиновым цитоскелетом [11].

В исследовании L. Zilberberg и соавт. 2012 г. была проанализирована как *in vitro*, так и *in vivo* роль микрофибрилл фибриллина в синтезе LTBP-1, -3 и -4 [22]. Авторами показано, что фибриллин-1 важен для встраивания LTBP-3 и LTBP-4 во внеклеточный матрикс (ВКМ), но не для LTBP-1, в то время как наличие фибронектина важно для ассоциации LTBP-1 с ВКМ [22].

TGF- β – РЕГУЛЯТОР МНОГОЧИСЛЕННЫХ ФУНКЦИЙ КЛЕТОК

TGF- β продуцируется в дыхательных путях фибробластами, эпителиальными, эндотелиальными и клетками гладкой мускулатуры [24]. Кроме того, TGF- β индуцирует синтез фибробластами различных белков внеклеточного матрикса, таких как коллагены, эластин, протеогликаны и фибронектин [24]. TGF- β экспрессируется инфильтрированными эозинофилами, лимфоцитами и тучными клетками [24]. Лейкоциты и тромбоциты также содержат TGF- $\beta1$ [25].

Латентный TGF- $\beta1$ высоко экспрессируется в эпителии дыхательных путей и альвеол, альвеолярных макрофагах и в межклеточном матриксе легких, где вдыхаемые микроорганизмы сталкиваются с защитными средствами организма-хозяина во время легочной фазы [26]. Максимальная его concentra-

ция в дыхательной системе сосредоточена в эпителии бронхов [24]. Усиленная передача сигналов TGF- β 1 при воспалении первоначально приводит к локальному подавлению иммунной системы организма-хозяина посредством прямого ингибирования эффекторных иммунных клеток, таких как Т-клетки и дендритные клетки [26].

TGF- β играет ключевую роль в индукции синтеза компонентов ВКМ фибробластами [23]. TGF- β 1 сам по себе играет значительную и сложную роль в иммунном ответе дыхательных путей, опосредуя различные провоспалительные или иммуносупрессивные эффекты [27]. TGF- β 1 стимулирует привлечение воспалительных клеток в дыхательные пути и способствует секреции дополнительных факторов роста и воспалительных цитокинов [27]. И наоборот, TGF- β 1 может подавлять как пролиферацию лимфоцитов, так и продукцию определенных цитокинов [27]. Так, ИЛ-13 взаимодействует с ИЛ-4, индуцируя альтернативную активацию макрофагов M2, способствуя высвобождению TGF- β и тромбоцитарного фактора [28]. Эта фаза характеризуется кратковременной экспансией резидентных фибробластов и образованием временного матрикса, а также пролиферацией клеток-предшественников дыхательных путей и пневмоцитов 2-го типа [28].

TGF- β играет ключевую роль в регуляции компонентов ВКМ дыхательных путей: увеличивает синтез белков, таких как фибронектин, усиливает антипротеазную активность, стимулирует экспрессию десмосомных белков эпителиальными клетками бронхов, что способствует активации белков, участвующих в межклеточных соединениях, а также образованию базальной мембраны альвеолярных эпителиальных клеток [29]. Наконец, TGF- β вносит свой вклад в механизмы, которые участвуют в контроле роста и дифференцировки эпителиальных клеток. Например, TGF- β индуцирует дифференцировку нормальных эпителиальных клеток бронхов, регулирует рост клеток путем ингибирования клеточной пролиферации и может также индуцировать апоптоз эпителиальных клеток легкого [29].

TGF- β регулируют экспрессию белков, участвующих в выполнении фиброзного каскада, включая регуляцию экспрессии и активности протеаз внеклеточного ремоделирования, в том числе ММП, тканевых ингибиторов металлопротеиназ, экспрессии эндотелина-1 [10]. Эндотелин-1 способствует персистирующему фиброзу путем индуцирования фибробластами продукции и секреции TGF- β внеклеточным матриксом, а также регуляции активности семейства RhoGTPases, вовлеченных в развитие TGF- β -индуцированного фиброза [10]. В целом TGF- β является

ключевым регулятором продукции внеклеточного матрикса, и, следовательно, повышенная передача сигналов TGF- β является критическим фактором прогрессирования фиброзных заболеваний [10].

TGF- β ограничивает пролиферацию CD4⁺ Т-клеток путем подавления аутокринной продукции ИЛ-2 [15]. В CD8⁺ цитотоксических Т-клетках (ТС клетках) TGF- β -активированные белки SMAD взаимодействуют с ATF1 (Activating Transcription Factor 1), подавляя экспрессию интерферона- γ и цитолитических факторов перфорина, гранзима и Fas-лиганда, таким образом подавляя противоопухолевую активность этих клеток [15]. TGF- β также модулирует пролиферацию и другие функции В-клеток, естественных киллеров, моноцитов, макрофагов и гранулоцитов. TGF- β играет плеiotропную роль в регуляции лимфоцитов, и это особенно очевидно в Т-клетках [15].

TGF- β 1 индуцирует α -гладкомышечный актин (α -SMA) и синтез коллагена в фибробластах как *in vivo*, так и *in vitro* и играет значительную роль в восстановлении тканей и развитии фиброза [30]. В ходе этих процессов фибробласты дифференцируются в миофибробласты, характеризующиеся повышенной экспрессией α -SMA [30].

TGF- β 1 подавляет плазмин и плазминзависимую активность ММП в клетках сухожилия сгибателя, культивируемых *in vitro*, посредством усиления регуляции активатора плазминогена 1 (PAI-1) [21]. Возможно, что TGF- β 1 также подавляет активность ММП и плазмينا другими способами, такими как подавление экспрессии урокиназы (uPA), тканевого активатора плазминогена (tPA) и (или) мембрано-связанной ММП в теноцитах [21]. В ходе деградации ВКМ из-за повышенной активности ММП aberrантно активируется TGF- β [12].

TGF- β 1 и ИЛ-6 оказывают противоположные эффекты на регуляцию экспрессии катепсинов В и L в эпителиальных клетках карциномы легких человека A-549 [29]. Провоспалительный цитокин ИЛ-6 индуцировал повышающую регуляцию катепсина L, тогда как TGF- β 1 подавлял экспрессию катепсина В и L, представляющие собой экспрессируемые цистеиновые протеиназы, которые играют важную роль в объемном протеолизе лизосом, процессинге белка, деградации матрикса и ремоделировании тканей [29].

M. Jain и соавт. в 2013 г. показали, что TGF- β индуцирует генерацию митохондриальных активных форм кислорода (АФК) и, в свою очередь, активацию транскрипции NOX4 (никотинамидадениндинуклеотидфосфооксидаза 4), что усиливает выработку АФК в фибробластах легких пациентов с идиопатическим и индуцированным склеродермией фиброзом легких [31].

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ TGF- β И ИММУНО- КОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК ПРИ COVID-19

Легкие структурно подвержены воздействию внешних раздражителей и патогенов и в связи с этим развитию воспаления, аллергическим реакциям и канцерогенезу. Усиление регуляции лигандов TGF- β наблюдается при основных заболеваниях легких, включая легочный фиброз, эмфизему, бронхиальную астму и рак легких [32]. Основываясь на опубликованных данных, у пациентов с COVID-19, а также с постковидным синдромом может развиваться легочный фиброз, и прогноз этого серьезного осложнения также заслуживает внимания научного сообщества. Морфологическими особенностями легочного фиброза являются утолщение межальвеолярных перегородок, отложение коллагена и пролиферация фибробластов, а также диффузное воспаление.

После инфицирования COVID-19 TGF- β ингибирует апоптоз клеток и индуцирует пролиферацию фибробластов и дифференцировку миофибробластов, развивая фиброз легких [33]. На ранней стадии инфекции SARS-CoV-2 многочисленные воспалительные реакции и нарушение регуляции фибринолитических и коагуляционных путей могут способствовать активации латентной формы TGF- β в крови и легких [33]. TGF- β вызывает фиброз, сопутствующее заболевание у пациентов с тяжелой формой COVID-19. Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) при COVID-19 может привести к терминальному фиброзу легких [34]. Активация TGF- β способствует дифференцировке фибробластов в миофибробласты и регулирует ремоделирование волокнистого компонента ВКМ [34].

При развитии COVID-19 SARS-CoV-2 проникает в верхние дыхательные пути через рецепторы ACE2, которые находятся на поверхности легочного эпителия [35]. Вирус инфицирует легочные альвеолярные клетки II типа во время их миграции в нижние отделы дыхательных путей [35]. У пациентов с COVID-19 в острой фазе ОРДС развивается интерстициальный отек легких и происходит образование гиалиновых мембран в результате распространенного повреждения альвеол, в то время как фиброз межальвеолярных перегородок и пролиферация фибробластов развиваются в фазе хронического ремоделирования [28]. Предполагается, что SARS-CoV-2 увеличивает концентрацию TGF- β путем снижения регуляции рецептора ACE2 посредством взаимодействия спайкового белка с ACE2. Следовательно, снижается регуляция ACE2, повышается уровень ангиотензина II, что приводит к повышению актив-

ности внутриклеточного сигнального пути TGF- β [36–39].

У пациентов с COVID-19 отмечают TGF- β -опосредованное подавление циркулирующих NK-клеток [26]. Активация TGF- β увеличивает проницаемость эндотелия и эпителия, что приводит к притоку жидкостей и белков в альвеолы. Этот процесс ухудшает газообмен в легких и в конечном итоге приводит к артериальной гипоксемии и дыхательной недостаточности [40]. Белки клеточной поверхности эпителия и эндотелия окружены плотной сеткой гликанов, называемой слоем эпителиального/эндотелиального гликокаликса, нарушение которого опосредуется SARS-CoV-2 [41].

Нашей командой исследователей было показано увеличение активности тучных клеток, а также изменение их фенотипа в тканях легких пациентов, умерших от COVID-19 [42]. Тучные клетки, располагаясь в непосредственной близости от фибробластов, чувствительны к механическому стрессу в фиброзированных легких и, следовательно, могут стимулироваться при дыхании в жестких фиброзных легких [43, 44]. Гранулы тучных клеток могут содержать большое количество профибротических ферментов и цитокинов (например, TGF- β , ИЛ-4, -10 и -13, химаза, триптаза) и факторов роста [43], которые способствуют активации фибробластов [45].

Бета-триптаза тучных клеток увеличивает секрецию TGF- β 1 гладкой мышечной тканью дыхательных путей и увеличивает экспрессию α -SMA, приводя к функциональным изменениям мышечной ткани [46]. TGF- β 1 опосредует экспрессию генов, вовлеченных в фиброз, включая коллаген, протеазы и фибронектин, через Smad-зависимый механизм [27]. Гладкомышечные клетки дыхательных путей (airway smooth muscle cell, ASMC) содержат большое количество TGF- β 1–3 [28]. Плазмин, сериновая протеаза регулируют секрецию биологически активной формы TGF- β ASMC, а также высвобождение внеклеточного TGF- β [24]. Выход TGF- β , активированного плазмином, индуцирует ASMC синтез коллагена I аутокринным способом [24]. Макрофаги также являются ключевыми агентами, влияющими на фиброз легких. Активация сигнальных путей TGF- β /Smad и ИЛ-6/STAT3 может быть связана с поляризационным переходом макрофагов M1 типа в M2, наблюдающимся в случаях заболевания COVID-19 [47].

УРОВНИ TGF- β В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ COVID-19

Наиболее тяжелым последствием SARS, вызванным патогенной коронавирусной инфекцией, является фиброз легких, развивающийся через 3–6 мес

у 45% пациентов [48]. Повышенная экспрессия TGF- β у пациентов с COVID-19 может быть причиной легочного фиброза [49]. Показано, что у пациентов с ОРДС с более низким уровнем TGF- β в жидкости из бронхоальвеолярного лаважа замечено меньшее количество койко-дней, проведенных в отделениях интенсивной терапии и на искусственной вентиляции легких [50].

Уровень TGF- β 1 увеличен в сыворотке и плазме крови пациентов с COVID-19, что коррелирует с увеличением тяжести заболевания [26]. Уровень иммуносупрессивных цитокинов, таких как TGF- β и ИЛ-10, увеличивается после заражения SARS-CoV-2 вне зависимости от пола [33]. Высокие уровни TGF- β в сыворотке крови в первые дни COVID-19 могут указывать на развитие тяжелого течения, включая необходимость проведения интенсивной терапии и риск смерти.

S. Frischbutter и соавт. в 2023 г. отметили значительное повышение сывороточных концентраций TGF- β в первые 2 нед после появления симптомов у пациентов с COVID-19 [51]. Такое раннее повы-

шение сывороточного TGF- β ухудшает способность NK-клеток элиминировать инфицированные вирусом клетки [51]. Так, у пациентов с легкой формой COVID-19 ($n = 27$) концентрация составила $165,4 \pm 105,4$ пг/мл (SD), а у пациентов с умеренной COVID-19 ($n = 11$) – $240,6 \pm 150,2$ пг/мл; с тяжелым течением COVID-19 ($n = 25$) – $416,3 \pm 161,7$ пг/мл; $p < 0,0001$) по сравнению с пациентами с легкой или умеренной формой COVID-19 [51]. Авторы предполагают, что у пациентов с уровнем TGF- β в сыворотке крови выше 254,75 пг/мл с вероятностью 92% тяжелое течение COVID-19 будет прогрессировать [50]. TGF- β может быть рассмотрен и рекомендован в качестве прогностического маркера оценки степени тяжести развития COVID-19 [51, 52].

МОДЕЛЬ УЧАСТИЯ TGF- β В ПАТОГЕНЕЗЕ COVID-19

Модель активации TGF- β при развитии COVID-19 представлена в авторской схеме (рис.).

Химаза тучных клеток является независимым

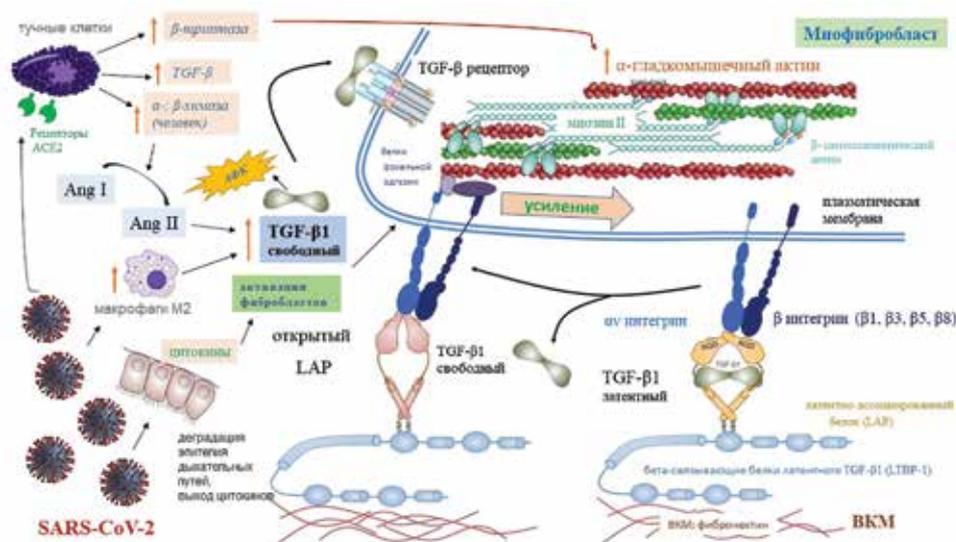


Рисунок. Модель активации TGF- β при развитии COVID-19 (авторская схема с модификацией по [8]) Рецептором для SARS-CoV-2 является ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2), с которым связывается шиповидный белок на поверхности вируса, что вызывает высвобождение цитокинов различными клеточными агентами. При развитии COVID-19 увеличивается активность тучных клеток и синтез их продуктов секрета, в том числе профибротических медиаторов: триптазы, химазы и TGF- β . TGF- β инициирует трансформацию фибробластов в миофибробласты, а также генерацию митохондриальных активных форм кислорода, что усиливает их выработку в фибробластах легких.

от ACE2 путем образования ангиотензина II (Ang II) внеклеточно в интерстиции, а также активирует TGF- β и другие молекулы, тем самым играя роль в ремоделировании тканей. Бета-триптаза тучных клеток увеличивает секрецию TGF- β 1 клетками фибробластического дифферона и повышает экспрессию

α -SMA (α -гладкомышечный актин).

TGF- β продуцируется в дыхательных путях фибробластами, эндотелиальными и клетками гладкой мускулатуры и накапливается во внеклеточном матриксе (BKM) в виде латентного TGF- β (LTBP). LTBP образуют латентные комплексы с TGF- β пу-

тем ковалентного связывания пропептида TGF- β LAP через дисульфидные связи в эндоплазматическом ретикулуме. Активация латентного TGF- β 1 из ВКМ инициируется интегринами через связывание с последовательностью RGD домена LAP-TGF- β . Активация расщепления TGF- β 1 и LAP индуцируется также кислыми рН среды или осуществляется внеклеточными протеазами, включая тромбоспондин-1, плазмин, катепсин D, матриксные металлопротеиназы-2 и -9 и фуриноконвертазу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не вызывает сомнения факт участия TGF- β в патогенезе воспалительных заболеваний дыхательной системы при COVID-19. TGF- β регулирует многочисленные клеточные процессы, которые играют важную роль в развитии ОРДС, способствует повышению проницаемости альвеолярного эпителия, активации фибробластов и ремоделированию внеклеточного матрикса. SARS-CoV-2 приводит к длительной активации иммунокомпетентных клеток, формированию сложных иммунных реакций, высвобождению большого количества воспалительных цитокинов, в частности профибротических ферментов и цитокинов, в том числе TGF- β .

Триптаза- и химаза-положительные тучные клетки играют значимую роль в развитии легочного фиброза и эмболии при COVID-19, протекающими в том числе через активацию TGF- β . Химаза тучных клеток является независимым от ACE2 путем образования ангиотензина II внеклеточно в интерстиции, а также активирует TGF- β и другие молекулы, тем самым играя роль в ремоделировании тканей. Бета-триптаза тучных клеток увеличивает секрецию TGF- β 1 гладкой мышечной тканью дыхательных путей и увеличивает экспрессию α -SMA. TGF- β также индуцирует генерацию митохондриальных АФК, что усиливает их выработку в фибробластах легких.

TGF- β играет ключевую роль в регуляции компонентов внеклеточного матрикса в дыхательных путях: он увеличивает синтез белков, таких как фибронектин, усиливает антипротеазную активность, стимулирует экспрессию десмосомных белков эпителиальными клетками бронхов, что способствует активации белков, участвующих в межклеточных соединениях, а также образованию базальной мембраны альвеолярных эпителиальных клеток. Таким образом, уровень TGF- β в крови, рассматриваемый многими учеными как прогностический маркер степени тяжести течения COVID-19, имеет потенциальное значение маркера фибротических процессов при других заболеваниях дыхательных путей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sumantri S., Rengganis I. Immunological dysfunction and mast cell activation syndrome in long COVID. *Asia Pac. Allergy*. 2023;13(1):50–53. DOI: 10.5415/apallergy.0000000000000022.
2. Theoharides T.C., Kempuraj D. Role of SARS-CoV-2 spike-protein-induced activation of microglia and mast cells in the pathogenesis of neuro-COVID. *Cells*. 2023;12(5):688. DOI: 10.3390/cells12050688.
3. Wisman L.V., Lopuhaä B., de Koning W., Moeniralam H., van Oosterhout M., Ambarus C. et al. Increase of mast cells in COVID-19 pneumonia may contribute to pulmonary fibrosis and thrombosis. *Histopathology*. 2023;82(3):407–419. DOI: 10.1111/his.14838.
4. Kim H.Y., Kang H.G., Kim H.M., Jeong H.J. Expression of SARS-CoV-2 receptor angiotensin-converting enzyme 2 by activating protein-1 in human mast cells. *Cell Immunol*. 2023;386:104705. DOI: 10.1016/j.cellimm.2023.104705.
5. Xu J., Xu X., Jiang L., Dua K., Hansbro P.M., Liu G. SARS-CoV-2 induces transcriptional signatures in human lung epithelial cells that promote lung fibrosis. *Respir. Res*. 2020;21(1):182. DOI: 10.1186/s12931-020-01445-6.
6. Wasse H., Naqvi N., Husain A. Impact of mast cell chymase on renal disease progression. *Curr. Hypertens Rev*. 2012;8(1):15–23. DOI: 10.2174/157340212800505007.
7. Rifkin D., Sachan N., Singh K., Sauber E., Tellides G., Ramirez F. The role of LTBP5 in TGF beta signaling. *Dev. Dyn*. 2022;251(1):95–104. DOI: 10.1002/dvdy.331.
8. Travis M.A., Sheppard D. TGF-beta activation and function in immunity. *Annu. Rev. Immunol*. 2014;32:51–82. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120257.
9. Robertson I.B., Horiguchi M., Zilberberg L., Dabovic B., Hadjiolova K., Rifkin D.B. Latent TGF- β -binding proteins. *Matrix Biol*. 2015;47:44–53. DOI: 10.1016/j.matbio.2015.05.005.
10. Gordon K.J., Blobel G.C. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim. Biophys. Acta*. 2008;1782(4):197–228. DOI: 10.1016/j.bbdis.2008.01.006.
11. Dong X., Zhao B., Iacob R.E., Zhu J., Koksal A.C., Lu C. et al. Force interacts with macromolecular structure in activation of TGF-beta. *Nature*. 2017;542(7639):55–59. DOI: 10.1038/nature21035.
12. Zigrino P., Sengle G. Fibrillin microfibrils and proteases, key integrators of fibrotic pathways. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2019;146:3–16. DOI: 10.1016/j.addr.2018.04.019.
13. Ramirez F., Sakai L.Y. Biogenesis and function of fibrillin assemblies. *Cell Tissue Res*. 2010;339(1):71–82. DOI: 10.1007/s00441-009-0822-x.
14. Del Cid J.S., Reed N.I., Molnar K., Liu S., Dang B., Jensen S.A. et al. A disease-associated mutation in fibrillin-1 differentially regulates integrin-mediated cell adhesion. *J. Biol. Chem*. 2019;294(48):18232–18243. DOI: 10.1074/jbc.RA119.011109.
15. David C.J., Massague J. Contextual determinants of TGF beta action in development, immunity and cancer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2018;19(7):419–435. DOI: 10.1038/s41580-018-0007-0.

16. Todorovic V., Rifkin D.B. LTBP, more than just an escort service. *J. Cell Biochem.* 2012;113(2):410–418. DOI: 10.1002/jcb.23385.
17. Fan W., Liu T., Chen W., Hammad S., Longrich T., Haussler I. et al. ECM1 prevents activation of transforming growth factor β , hepatic stellate cells, and fibrogenesis in mice. *Gastroenterology.* 2019;157(5):1352–1367.e13. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.07.036.
18. Franco-Barraza J., Francescone R., Luong T., Shah N., Madhani R., Cukierman G. et al. Matrix-regulated integrin $\alpha\beta 5$ maintains $\alpha 5\beta 1$ -dependent desmoplastic traits prognostic of neoplastic recurrence. *Elife.* 2017;6:e20600. DOI: 10.7554/eLife.20600.
19. Markovics J.A., Araya J., Cambier S., Somanath S., Gline S., Jablons D. et al. Interleukin-1beta induces increased transcriptional activation of the transforming growth factor-beta-activating integrin subunit beta8 through altering chromatin architecture. *J. Biol. Chem.* 2011;286(42):36864–36874. DOI: 10.1074/jbc.M111.276790.
20. Hinz B. The extracellular matrix and transforming growth factor- $\beta 1$: Tale of a strained relationship. *Matrix Biol.* 2015;47:54–65. DOI: 10.1016/j.matbio.2015.05.006.
21. Farhat Y.M., Al-Maliki A.A., Easa A., O'Keefe R.J., Schwarz E.M., Awad H.A. TGF-beta1 suppresses plasmin and MMP activity in flexor tendon cells via PAI-1: implications for scarless flexor tendon repair. *J. Cell Physiol.* 2015;230(2):318–326. DOI: 10.1002/jcp.24707.
22. Zilberberg L., Todorovic V., Dabovic B., Horiguchi M., Courroussé T., Sakai L.Y. et al. Specificity of latent TGF- β binding protein (LTBP) incorporation into matrix: role of fibrillins and fibronectin. *J. Cell Physiol.* 2012;227(12):3828–3836. DOI: 10.1002/jcp.24094.
23. Ito J.T., Lourenço J.D., Righetti R.F., Tibério I.F.L.C., Prado C.M., Lopes F.D.T.Q. S. Extracellular matrix component remodeling in respiratory diseases: what has been found in clinical and experimental studies? *Cells.* 2019;8 (4):342. DOI: 10.3390/cells8040342.
24. Coutts A., Chen G., Stephens N., Hirst S., Douglas D., Eichholtz T. et al. Release of biologically active TGF-beta from airway smooth muscle cells induces autocrine synthesis of collagen. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2001;280(5):L999–L1008. DOI: 10.1152/ajplung.2001.280.5.L999.
25. Ong C.H., Tham C.L., Harith H.H., Firdaus N., Israf D.A. TGF- β -induced fibrosis: A review on the underlying mechanism and potential therapeutic strategies. *Eur. J. Pharmacol.* 2021;911:174510. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.174510
26. Arguinchona L.M., Zagona-Prizio C., Joyce M.E., Chan E.D., Maloney J.P. Microvascular significance of TGF- β axis activation in COVID-19. *Front. Cardiovasc. Med.* 2023;9:1054690. DOI: 10.3389/fcvm.2022.1054690.
27. Ojiaku C.A., Yoo E.J., Panettieri R.A. Jr. Transforming growth factor $\beta 1$ function in airway remodeling and hyperresponsiveness. The missing link? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2017;56(4):432–442. DOI: 10.1165/rcmb.2016-0307TR.
28. Vaz de Paula C.B., de Azevedo M.L.V., Nagashima S., Martins A.P.C., Malaquias M.A.S., Miggiolaro A.F.R.D.S. et al. IL-4/IL-13 remodeling pathway of COVID-19 lung injury. *Sci. Rep.* 2020;10(1):18689. DOI: 10.1038/s41598-020-75659-5.
29. Gerber A., Wille A., Welte T., Ansorge S., Bühling F. Interleukin-6 and transforming growth factor-beta 1 control expression of cathepsins B and L in human lung epithelial cells. *J. Interferon Cytokine Res.* 2001;21(1):11–19. DOI: 10.1089/107999001459114.
30. Malmström J., Lindberg H., Lindberg C., Bratt C., Wieslander E., Delander E.L. et al. Transforming growth factor-beta 1 specifically induce proteins involved in the myofibroblast contractile apparatus. *Mol. Cell Proteomics.* 2004;3(5):466–477. DOI: 10.1074/mcp.M300108-MCP200.
31. Jain M., Rivera S., Monclus E.A., Synenki L., Zirk A., Eisenbart J. et al. Mitochondrial reactive oxygen species regulate transforming growth factor- β signaling. *J. Biol. Chem.* 2013;288(2):770–777. DOI: 10.1074/jbc.M112.431973.
32. Saito A., Horie M., Nagase T. TGF- β Signaling in Lung Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(8):2460. DOI: 10.3390/ijms19082460.
33. Abbasifard M., Fakhrabadi A. H., Bahremand F., Khorramdelazad H. Evaluation of the interaction between tumor growth factor- β and interferon type I pathways in patients with COVID-19: focusing on ages 1 to 90 years. *BMC Infect Dis.* 2023;23(1):248. DOI: 10.1186/s12879-023-08225-9.
34. Vaz de Paula C.B., Nagashima S., Liberalesso V., Collete M., da Silva F.P.G., Orçil A.G.G. et al. COVID-19. Immunohistochemical analysis of TGF- β signaling pathways in pulmonary fibrosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;23(1):168. DOI: 10.3390/ijms23010168.
35. Weinheimer V.K., Becher A., Tönnies M., Holland G., Knepfer J., Bauer T.T. et al. Influenza A viruses target type II pneumocytes in the human lung. *J. Infect Dis.* 2012;206(11):1685–1694. DOI: 10.1093/infdis/jis455.
36. Hanff T.C., Harhay M.O., Brown T.S., Cohen J.B., Mohareb A.M. Is There an association between COVID-19 mortality and the renin-angiotensin system? A call for epidemiologic investigations. *Clin. Infect. Dis.* 2020;71(15):870–874. DOI: 10.1093/cid/ciaa329.
37. Li G., He X., Zhang L., Ran Q., Wang J., Xiong A. et al. Assessing ACE2 expression patterns in lung tissues in the pathogenesis of COVID-19. *J. Autoimmun.* 2020;112:102463. DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102463.
38. Kai H., Kai M. Interactions of coronaviruses with ACE2, angiotensin II, and RAS inhibitors-lessons from available evidence and insights into COVID-19. *Hypertens. Res.* 2020;43(7):648–654. DOI: 10.1038/s41440-020-0455-8.
39. Sriram K., Insel P.A. A hypothesis for pathobiology and treatment of COVID-19: The centrality of ACE1/ACE2 imbalance. *Br. J. Pharmacol.* 2020;177(21):4825–4844. DOI: 10.1111/bph.15082.
40. Gheblawi M., Wang K., Viveiros A., Nguyen Q., Zhong J.C., Turner A.J. et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: celebrating the 20th Anniversary of the discovery of ACE2. *Circ. Res.* 2020;126(10):1456–1474. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.
41. Biering S.B., Gomes de Sousa F.T., Tjang L.V., Pahmeier F., Zhu C., Ruan R. et al. SARS-CoV-2 Spike triggers barrier dysfunction and vascular leak via integrins and TGF- β signal-

- ing. *Nat. Commun.* 2022;13(1):7630. DOI: 10.1038/s41467-022-34910-5.
42. Budnevsky A.V., Avdeev S.N., Kosanovic D., Shishkina V.V., Filin A.A., Esaulenko D.I. et al. Role of mast cells in the pathogenesis of severe lung damage in COVID-19 patients. *Respir. Res.* 2022;23(1):371. DOI: 10.1186/s12931-022-02284-3.
43. Savage A., Risquez C., Gomi K., Schreiner R., Borczuk A.C., Worgall S. et al. The mast cell exosome-fibroblast connection: A novel pro-fibrotic pathway. *Front. Med. (Lausanne)*. 2023;10:1139397. DOI: 10.3389/fmed.2023.1139397.
44. Shimbori C., Upagupta C., Bellaye P.S., Ayaub E.A., Sato S., Yanagihara T. et al. Mechanical stress-induced mast cell degranulation activates TGF- β 1 signalling pathway in pulmonary fibrosis. *Thorax*. 2019;74(5):455–465. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2018-211516.
45. Sayer C., Rapley L., Mustelin T., Clarke D.L. Are mast cells instrumental for fibrotic diseases? *Front. Pharmacol.* 2014;4:174. DOI: 10.3389/fphar.2013.00174.
46. Woodman L., Siddiqui S., Cruse G., Sutcliffe A., Saunders R., Kaur D. et al. Mast cells promote airway smooth muscle cell differentiation via autocrine up-regulation of TGF-beta 1. *J. Immunol.* 2008; 81(7):5001–5007. DOI: 10.4049/jimmunol.181.7.5001.
47. Wang Y., Zhang L., Wu G.R. et al. MBD2 serves as a viable target against pulmonary fibrosis by inhibiting macrophage M2 program. *Sci. Adv.* 2021;7(1):eabb6075. DOI: 10.1126/sciadv.abb6075.
48. Sun P., Qie S., Liu Z., Ren J., Li K., Xi J. Clinical characteristics of hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection: A single arm meta-analysis. *J. Med. Virol.* 2020;92(6):612–617. DOI: 10.1002/jmv.25735.
49. Xiong Y., Liu Y., Cao L., Wang D., Guo M., Jiang A. et al. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. *Emerg. Microbes Infect.* 2020;9(1):761–770. DOI: 10.1080/22221751.2020.1747363.
50. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.* 2020;8(5):475–481. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
51. Frischbutter S., Durek P., Witkowski M., Angermair S., Treskatsch S., Maurer M. et al. Serum TGF- β as a predictive biomarker for severe disease and fatality of COVID-19. *Eur. J. Immunol.* 2023;53(10):e2350433. DOI: 10.1002/eji.202350433.
52. Susak F., Vrsaljko N., Vince A., Papic N. TGF Beta as a Prognostic Biomarker of COVID-19 Severity in Patients with NAFLD-A Prospective Case-Control Study. *Microorganisms*. 2023;11(6):1571. DOI: 10.3390/microorganisms11061571.

Вклад авторов

Будневский А.В. – научное консультирование, окончательное утверждение для публикации рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Овсянников Е.С. – проверка критически важного интеллектуального содержания, анализ данных, редактирование текста статьи. Шишкина В.В. – написание текста, проверка критически важного интеллектуального содержания, анализ данных. Алексеева Н.Г. – сбор и обработка материала, написание текста, подготовка к публикации. Первеева И.М., Китоян А.Г., Антакова Л.Н. – сбор и обработка материала, написание текста.

Информация об авторах

Будневский Андрей Валериевич – д-р мед. наук, профессор, заслуженный изобретатель Российской Федерации, зав. кафедрой факультетской терапии, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, budnev@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1171-2746>

Овсянников Евгений Сергеевич – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры факультетской терапии, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, ovses@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8545-6255>

Шишкина Виктория Викторовна – канд. мед. наук, директор Научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины, доцент кафедры гистологии, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, 4128069@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9185-4578>

Алексеева Надежда Геннадиевна – аспирант, кафедра факультетской терапии, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, nadya.alekseva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3357-9384>

Первеева Инна Михайловна – канд. мед. наук, врач-пульмонолог, ВОКБ № 1; ст. науч. сотрудник, Научно-исследовательский институт экспериментальной биологии и медицины, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, perveeva.inna@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5712-9302>

Китоян Аваг Гнуниович – ординатор, кафедра факультетской терапии, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, kitoyan9812@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0003-7869-5519>

Антакова Любовь Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, Научно-исследовательский институт экспериментальной биологии и медицины, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, tsvn@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5212-1005>

(✉) Алексеева Надежда Геннадиевна, nadya.alekseva@mail.ru

Поступила в редакцию 26.12.2023;
одобрена после рецензирования 22.03.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 577.112.042.2:615.277.3:615.015.23:616-006-092.19
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-155-162>

Галектины: потенциальная фармакологическая мишень

Серебрякова В.А., Ваизова О.Е., Головина Е.Л., Кочубей В.В.

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

РЕЗЮМЕ

Целью работы является рассмотрение использования ингибиторов галектина-1 и галектина-3 как потенциальных лекарственных средств противоопухолевой и антифибротической терапии.

Лекция разработана на основе анализа экспериментальных и обзорных статей, представленных в базе данных PubMed. Дана краткая характеристика строения галектинов, представлены их общепринятая классификация и особенности структурной организации углевод-распознающего домена галектина-1 и галектина-3. В основной части лекции описаны результаты исследований по разработке молекул-ингибиторов углеводной (производные или аналоги β -галактозида) и неуглеводной (на основе пептидов, производные карбоксиамида) структуры, способных взаимодействовать с галектином-1 и галектином-3.

Результаты экспериментов, выполненных на лабораторных животных и культурах опухолевых клеток, демонстрируют, что противоопухолевое действие антагонистов галектинов реализуется через подавление пролиферации, метастазирования, активацию апоптоза опухолевых клеток и модуляцию противоопухолевого иммунного ответа. Антагонисты галектина-1 и галектина-3 потенцируют действие противоопухолевых лекарственных средств и оказывают антифибротический эффект. Ряд рассмотренных соединений проходит фазу клинических исследований. Представленные в лекции данные открывают возможности для разработки и синтеза новых молекул – потенциальных ингибиторов галектина-1 и галектина-3.

Ключевые слова: галектин-1, галектин-3, ингибиторы галектина, противоопухолевый иммунитет, опухоль, фиброз

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: Серебрякова В.А., Ваизова О.Е., Головина Е.Л., Кочубей В.В. Галектины: потенциальная фармакологическая мишень. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):155–162. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-155-162>.

Galectins: a potential pharmacological target

Serebryakova V.A., Vaizova O.E., Golovina E.L., Kochubey V.V.

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

ABSTRACT

Aim. To consider the use of galectin-1 and galectin-3 inhibitors as potential pharmacological targets in antitumor and antifibrotic therapy.

The lecture includes the analysis of experimental research and review articles presented in the PubMed database. A brief description of the structure of galectins is given. Their generally accepted classification and features of the

✉ Серебрякова Валентина Александровна, serebryakova-val@mail.ru

structure of the carbohydrate recognition domain in galectin-1 and galectin-3 are presented. The main part of the lecture describes the results of research on the development of carbohydrate-based (β -galactoside derivatives or analogues) and non-carbohydrate-based (peptide-based, carboxamide derivatives) inhibitors capable of interacting with galectin-1 and galectin-3.

The results of experiments performed on animal models and tumor cell cultures demonstrate that the antitumor effect of galectin antagonists is realized through the suppression of proliferation and metastasis, activation of tumor cell apoptosis, and modulation of the antitumor immune response. Antagonists of galectin-1 and galectin-3 potentiate the effect of antitumor drugs and have an antifibrotic effect. Some of the compounds discussed in the lecture are undergoing clinical trials. The data presented in the lecture open up opportunities for the development and synthesis of new molecules of potential galectin-1 and 3 inhibitors.

Keywords: galectin-1, galectin-3, galectin inhibitors, antitumor immunity, tumor, fibrosis

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: Serebryakova V.A., Vaizova O.E., Golovina E.L., Kochubey V.V. Galectins: a potential pharmacological target. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):155–162. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-155-162>.

ВВЕДЕНИЕ

Результаты исследований молекулярных механизмов противоопухолевого иммунитета обосновывают рациональность разработки таргетных подходов терапии рака. Одной из перспективных мишеней, поддерживающих иммуносупрессивное микроокружение опухолевых клеток, являются галектины [1–7]. Галектин-опосредованные механизмы дисрегуляции иммунных реакций, способствующие опухолевому росту и метастазированию, включают угнетение активации и индукцию апоптоза *T*-лимфоцитов, экспансию популяции Foxp3⁺ *T*-регуляторных клеток и их иммуносупрессивной активности, стимуляцию дифференцировки толерогенных дендритных клеток, подавление пула естественных киллеров и поляризацию макрофагов в сторону M2-фенотипа [3, 8–11].

Участие галектинов в пролиферации фибробластов и их высокая экспрессия в тканях при фиброзе легких, печени, миокарда также позволяют рассматривать галектины в качестве мишеней антифибротической терапии [12–15]. Роль галектина-3 в активации фибробластов включает синтез коллагена I типа и снижение активности матриксных металлопротеиназ с подавлением деградации компонентов внеклеточного матрикса [12]. Избыточная экспрессия галектина-1 усиливает ангиогенез и продукцию компонентов внеклеточного матрикса через активацию пути PI3K/Akt, что приводит к образованию келоидной ткани [16].

Целью настоящей лекции является рассмотрение современного состояния проблемы разработки инги-

биторов галектина-1 и галектина-3 как потенциальных лекарственных средств противоопухолевой и антифибротической терапии.

ГАЛЕКТИНЫ

Углеводсвязывающие белки – галектины – экспрессируются широким спектром клеток, имеют ядерную, цитоплазматическую или внеклеточную локализацию и играют центральную роль в воспалении, онкогенезе, ангиогенезе и дифференцировке фибробластов. Общим структурным элементом молекул галектинов выступает домен распознавания углеводов (CRD) с высококонсервативной аминокислотной последовательностью (около 135 аминокислотных остатков), связывающий β -галактозиды в составе гликопротеиновых и гликолипидных рецепторов. В зависимости от количества и структурной организации CRD галектины классифицируют на галектины-прототипы – содержат один CRD и могут присутствовать в виде мономеров или гомодимеров (галектин-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 и -15); галектин химерного типа – состоит из N-концевого коллагеноподобного домена и C-концевого домена, содержащего единственный CRD (галектин-3); галектины с tandemным повтором – содержат два CRD, соединенных линкерным пептидом (галектин-4, -6, -8, -9, -12) [1, 3, 10, 17–20].

Среди семейства галектинов особого внимания заслуживают галектины 1 и 3, высокая экспрессия которых ассоциирована с фиброзом и неблагоприятным прогнозом при разных видах рака – раке толстой кишки, щитовидной железы, поджелудочной железы, мочевого пузыря, желудка, почек, плоско-

клеточном раке, меланоме, лимфомах, нейробластоме [2, 10, 21–24].

Галектины специфически распознают ветви Gal-GlcNAc (LacNAc) N-гликанов, прикрепленных к гликопротеинам клеточной поверхности [19, 24]. CRD галектина-1 преимущественно распознает последовательности галактоза- β 1-4-N-ацетил-глюкозамина на N- или O-связанных гликанах [25]. CRD галектина-1 состоит из пяти субсайтов (A–E). Субсайт C высококонсервативен и является основным сайтом распознавания остатков β -галактопиранозида. В распознавании галактозной части молекул ключевое значение имеет остаток триптофана (Trp68), устанавливающий гидрофобные взаимодействия между ароматическим кольцом и СН-группами галактозы. Специфические водородные связи устанавливаются между гидроксильными группами углеводного лиганда и аминокислотными остатками (His44, Arg48, Asn46, Asn61 и Glu71) субсайтов C и D [26, 27]. CRD галектина-3 состоит из восьми аминокислот – Arg144, His158, Asn160, Arg162, Asn174, Trp181, Glu184 и Arg186, обуславливающих его взаимодействие с углеводами. Взаимодействие галектина-3 с природными дисахаридными лигандами (Lac/LacNAc) осуществляется посредством водородных связей и взаимодействий Ван-дер-Ваальса. Водородные связи устанавливаются между OH-группами галектина (C-4 и C-6) и Glc/GlcNAc (C-3) через His158, Asn160, Arg162, Glu184 и Asn174, силы Ван-дер-Ваальса связывают остатки галектина и Glc/GlcNAc через Trp181 и Arg186 [28, 29].

Иммунорегуляторная активность вне- и внутриклеточных галектинов указывает на возможность разработки терапевтических подходов, основанных на устранении эффектов этих молекул путем изменения их экспрессии или прямой блокады с помощью специфических молекул-ингибиторов.

ИНГИБИТОРЫ ГАЛЕКТИНОВ

Исследования по разработке потенциальных ингибиторов – разных подтипов галектинов – направлены на получение селективных соединений с высокой биодоступностью [17]. Основными условиями перспективности синтезируемых молекул являются: высокое сродство к галектину-мишени (значения константы диссоциации (K_d) в низком наномолярном диапазоне, способность к конкуренции с эндогенными лигандами в биологически значимых концентрациях), селективность в отношении различных доменов распознавания углеводов галектина-мишени, возможность поглощения клетками и стабильность в биологических средах [30].

Большинство известных антагонистов галектина являются гликомиметиками и представляют собой

производные или аналоги β -галактозида, нацеленные на канонический сайт связывания углеводов галектинов. К ним относятся арил-O- и S-галактозиды и лактозиды, триазолы и изоксазолы на основе углеводов, O-галактозилалдоксимы, фенилтио- β -d-галактопиранозидные аналоги, производные тиоуреидо-N-ацетиллактозамина, талозиды и различные соединения на основе многовалентных сахаров [31–33]. Моноклональные антитела, полимеры на основе галактозы, синтетические многовалентные и малые лиганды, как правило, обладают низким аффинитетом и ограниченной биодоступностью при введении внутрь [17].

В.А. Salameh и соавт. удалось синтезировать коллекцию стабильных 3-(1H-[1,2,3]-триазол-1-ил)-1-тио-галактозидов, содержащую ингибиторы галектина-3 ($K_d = 107$ мкМ), сопоставимые по силе эффекта с естественными дисахаридными ингибиторами – лактозой и N-ацетиллактозамином [34]. Известно, что полярность молекулам тиодигалактозидов придает гидроксильные группы. Замена или удаление любой гидроксильной группы, не участвующей во взаимодействии с галектином-3, может повысить сродство к лиганду и биодоступность при пероральном приеме [35].

В перевиваемой модели меланомы (культура клеток меланомы B16/F10) и ортотопической модели опухоли молочной железы (линия клеток опухоли молочной железы 4T1) внутриопухолевое введение тиодигалактозида сопровождалось увеличением числа CD8⁺-Т-лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, уменьшением количества CD31⁺-эндотелиальных и пролиферации опухолевых клеток [21, 36]. Установлено, что тиодигалактозид ингибирует антиоксидантный защитный эффект галектина-1 на индуцированный пероксидом водорода апоптоз эндотелиальных клеток [36].

К. Peterson и соавт. синтезировали фторированные производные фенилтриазолилтиодигалактозида и изучили их ингибирующее действие на галектины 1 и 3. Симметрично замещенные фенилтриазолилтиодигалактозиды показали значительную аффинность к галектину-3 (K_d до 1–2 нМ), асимметричные тиодигалактозиды, содержащие один трифторфенилтриазольный и один кумарильный фрагменты, продемонстрировали сильное сродство ($K_d = 7,5$ нМ) и в 46 раз более высокую селективность в отношении галектина-3 по сравнению с галектином-1 [37].

В эксперименте на ксенотрансплантатах сингенной модели аденокарциномы легкого мышей линии C57/Bl/6 было показано, что пероральное введение низкомолекулярного ингибитора галектина-3 GB1107 (3,4-дихлорфенил-3-дезоксигалакто-3-4 (3,

4, 5-трифторфенил)-1H-1, 2, 3-триазол-1-ил]-1-тио- α -D-галактопиранозид) подавляет рост аденокарциномы и блокирует метастазирование. Соединение GB1107 способствовало поляризации макрофагов опухолевой стромы в сторону фенотипа M1 и инфильтрации опухолевой ткани CD8⁺T-клетками. Дополнительная блокада PD-L1 (лиганда программируемой смерти опухолевых клеток) моноклональными антителами способствовала повышению экспрессии IFN γ , гранзима B, перфорина 1, Fas-лиганда цитотоксическими CD8⁺T-лимфоцитами и апоптозу опухолевых клеток, оцениваемому по увеличению экспрессии каспазы-3 [22].

F. Nogue и соавт. с использованием метода спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) оценили K_d трех симметричных производных тиодигалактозида – бис-(β -D-галактопиранозил)-сульфана, модифицированного различными ароматическими заместителями. Согласно полученным результатам, бис-{3-O-[(нафталин-2-ил)метил]- β -D-галактопиранозил}-сульфан, бис-{3-O-[(хинолин-2-ил)метил]- β -D-галактопиранозил}-сульфан и бис-(3-O-бензил- β -D-галактопиранозил)-сульфан связываются с галектином-3 в 94, 30 и 24 раза сильнее, чем эталонное соединение – бис-(β -D-галактопиранозил)-сульфан. Авторы указывают на ключевое значение катион- π -взаимодействий в связывании производных аралкилтиодигалактозидов с лигандом [38].

D. Vrbata и соавт. синтезировали многовалентные аналоги ингибиторов C-3 арилзамещенных тиодигалактозидов на основе N-(2-гидроксипропил) метакриламида. Методами иммуноферментного анализа и бислойной интерферометрии было отобрано четыре соединения – с замещением 4-ацетофенила, 4-цианофенила, 4-фторфенила и тиофен-3-ила, обладающие высоким аффинитетом к галектину-3. Эксперименты на культурах опухолевых клеток показали, что наибольшую антипролиферативную, антимиграционную, антиангиогенную и иммунопротекторную активность продемонстрировал цианофенилзамещенный гликополимер [6].

Установлено, что 1,4-дизамещенные триазолы являются высокоаффинными ингибиторами галектина-3. Конформационный анализ 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных галактозных C3-триазолов показал, что триазольный C5-заместитель интерферирует с белками галектина и тем самым обуславливает их меньший аффинитет по сравнению с соответствующими 1,4-дизамещенными триазолами. Введение двух 1,4-дизамещенных триазольных фрагментов в тиодигалактозид сопровождается уменьшением его сродства к галектину-3 [39].

В работе M.F. Marchiori и соавт. с применением технологии поверхностного плазмонного резонанса (surface plasmon resonance, SPR) установлено, что синтетические гликоконъюгаты – метил 3-O-метил-[(3-фенил)-2-пропан-1-оил]-1H-1,2,3-триазол-4-ил]- α -d-галактопиранозид и метил 3-O-метил-[(6-аминогексан-2-оил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил]- α -d-галактопиранозид с высокой аффинностью ($K_d = 7,96$ мкМ и $K_d = 4,56$ мкМ соответственно) связываются с галектином-3 через специфические катион- π (Arg144) и ионные (Asp148) взаимодействия. Гликоконъюгат метил-{1-(1H-1,2,3-триазол-4-ил)-2-[2-(2-этокси)этокси]этил-4-O-(β -d-галактопиранозил)- β -d-глюкопиранозид}-4-O-(β -d-галактопиранозил)- β -d-глюкопиранозид, соединяя два независимых CRD галектина-3 и создавая нековалентную поперечную связь между двумя мономерами, достигает субмикромольного сродства к галектину-3 ($K_{d1} = 0,15$ мкМ и $K_{d2} = 19$ мкМ) [28].

J. Stegmaуг и соавт. провели оценку абсорбции синтезированных ранее ингибиторов галектина-3 – производного 1H-1,2,3-триазол-1-илтиодигалактозида и производного α -D-галактопиранозид *in vitro* на культуре клеток аденокарциномы толстого кишечника (Caco-2). Авторы показали, что производное 1H-1,2,3-триазол-1-илтиодигалактозида поглощается клетками незначительно и, вероятно, оказывает действие во внеклеточном компартменте. Производное α -D-галактопиранозид характеризуется высокой проницаемостью через клеточные мембраны [30]. Модификация молекул гликомиметиков путем введения бензильных заместителей в 3-гидроксильные группы β -d-галактопиранозил-(1 \rightarrow 1)-тио- β -d-галактопиранозид (TDG) позволила получить соединения, подавляющие связывание галектинов-1 и 3 на поверхности клеток [40].

Относительно новый класс перспективных лекарственных структур потенциальных ингибиторов галектина-3 – 1,3-замещенных α -d-моногалактопиранозидов удалось разработать F. Zetterberg и соавт. Увеличение аффинитета молекул моносахарида к лиганду достигалось за счет комбинации взаимодействий ортогональных многополярных фторамидных, фениларгининовых, серо- π - и галогенкарбонильных связей [35]. Соединение GB1490 (галектин-1: $K_d = 0,4$ мкМ; галектин-3: $K_d = 2,7$ мкМ) – ингибитор галектина-1, полученное путем замены шестичленных арилтриазолильных заместителей в молекуле α -d-тиогалактозида, препятствует индуцированному галектином-1 апоптозу клеток линии Jurkat и в эксперименте на мышах обладает высокой биодоступностью ($F\% > 99\%$) при приеме внутрь [41].

Высокий аффинитет к галектину-3 продемонстрировали дважды 3-О-кумарилметилзамещенные тиодигалактозиды на модели блеомицин-индуцированного фиброза легких у мышей [42]. Тиодигалактозиды GB0139 и GB1211, полученные на основе дизамещенных моногалактозидов и обладающие высоким сродством к галектину-3, снижают экспрессию профибротических генов в миофибробластах печени и проявляют антифибротическую активность в модели тетраклорметан-индуцированного фиброза печени и блеомицин-индуцированного фиброза легких у мышей линии C57BL/6. В настоящее время тиодигалактозид GB0139 (NCT03832946) проходит клинические испытания фазы IIb как средство лечения идиопатического легочного фиброза для ингаляционного применения. Соединение GB1211 (5-бромпиридин-3-ил-3-дезоксигалактопиранозид) проходит клинические испытания фазы IIa как потенциальное лекарственное средство терапии цирроза печени (NCT03809052) и рака (NCT05240131) [17].

M. Filipová и соавт. синтезировали мультивалентные гликополимерные ингибиторы вне- и внутриклеточного галектина-3 путем комбинации олигосахаридов, полученных из поли-LacNAc (Gal β 4GlcNAc), с сополимерами *N*-(2-гидроксипропил) метакриламида. Исследователи показали, что синтезированные гликополимеры значительно подавляют галектин-3-индуцированный апоптоз Т-лимфоцитов и миграцию опухолевых клеток при меланоме, раке толстой кишки, молочной и предстательной желез [43].

Мультивалентные гликановые лиганды, синтезированные на основе β -циклодекстрина, продемонстрировали в 153 раза более выраженный аффинитет к галектину-3 в сравнении с мономерным гликановым лигандом. Максимальное сродство к галектину-3 было установлено для семивалентного лиганда, содержащего GalNAc (Tn-антиген). Показано, что синтетические мультивалентные лиганды на основе β -циклодекстрина подавляют связывание галектина-3 с эпителиальными клетками дыхательных путей человека [44].

Типичным дисахаридным лигандом галектинов является *N*-ацетиллактозамин (LacNAc, Gal β 4GlcNAc). Исследование взаимосвязи «структура – аффинность», основанное на иммуноферментном анализе серии из 15 гликополимеров на основе *N*-(2-гидроксипропил) метакриламида с разным числом LacNAc, показало, что архитектура и тип презентации LacNAc (индивидуальный или кластеризованный на двух- или трехвалентных линкерах)

обеспечивают 300-кратное увеличение avidности к галектину-1 в сравнении с галектином-3 [45].

M. Raics и соавт. провели исследование связывания двух селенсодержащих ингибиторов галектина-3 – ди(β -D-галактопиранозил) селенида, в котором два галактозных кольца связаны одним атомом селена и ди(β -D-галактопиранозил) диселенида с диселеновой связью между двумя сахарными единицами. Методом ЯМР-спектроскопии и титрования анизотропии флуоресценции было установлено, что изучаемые соединения связываются с каноническим S-образным сайтом галектина-3. Ди(β -D-галактопиранозил) селенид обладает более выраженным аффинитетом к галектину-3, чем ди(β -D-галактопиранозил) диселенид, но более низким, чем известный ингибитор галектина-3 – тиодигалактозид [46].

Установлено, что ингибиторы галектинов способны потенцировать действие противоопухолевых лекарственных средств. Так, ингибитор галектина-3 – GCS-100 (NCT01843790) – индуцирует p53-опосредованный апоптоз клеток острого миелоидного лейкоза (линии клеток миеломы U266 и RPMI8226) и усиливает действие ВНЗ-миметиков (препаратов, ингибирующих антиапоптотические белки семейства Bcl-2 и Mcl-1, способствующие выживанию и химиорезистентности опухолевых клеток) [47]. Ингибирование галектина-3 антагонистом GCS-100 увеличивает апоптоз клеток линии аденокарциномы простаты (PC3), индуцированный цисплатином [48]. В смешанной культуре клеток острого лимфобластного лейкоза (BCP-ALL) и стромальных клеток костного мозга (OP9) ингибиторы галектина-1 и -3 – GM-CT-01 и GR-MD-02 – повышают чувствительность опухолевых клеток к винкрестину и нилотинибу, оцениваемую по подавлению пролиферации и снижению количества жизнеспособных клеток [24].

Одним из перспективных ингибиторов галектина-3 является соединение, полученное из природных углеводных полимеров, сложный полисахарид беллапектин (GR-MD-02). В перевиваемой модели саркомы (клетки MCA-205), аденокарциномы предстательной железы (клетки TRAMP-C1) и карциномы молочной железы (клетки 4T1) на мышцах линий C57BL/6 и BALB/c установлено, что беллапектин в сочетании с aOX40 (моноклональное антитело против OX40 (CD134)) более эффективно, чем при монотерапии aOX40, снижает содержание в опухолевой ткани миелоидных супрессорных клеток (myeloid derived suppressor cells, M-MDSC), пролиферацию регуляторных Foxp3⁺ CD4⁺ Т-лимфоцитов и увеличивает плотность эффекторных CD8⁺ Т-клеток, что сопровождается подавлением роста опухоли и увеличением выживаемости экспериментальных

животных [49]. В клиническом исследовании I фазы установлено, что внутривенное введение белапектина в комплексе с приемом пембролизумаба (МАТ анти-PD-1) у пациентов с метастатической меланомой и плоскоклеточным раком головы и шеи приводит к увеличению пролиферирующих активированных эффекторных CCR7⁺CD45RA⁺CD4⁺T-клеток памяти и снижению количества моноцитарных миелоидных клеток-супрессоров в крови [50].

Альтернативой антагонистам галектинов на основе углеводов являются молекулы-ингибиторы неуглеводной структуры – гетероциклические соединения, ингибиторы на основе пептидов и пептидомиметики (ОТХ008/РТХ008 и Anginex (β -pep25)) [33]. Аллостерический ингибитор галектина-1 РТХ008 подавляет агрегацию, адгезию, миграцию клеток острого лимфобластного лейкоза (early B-cell precursor ALL, BP-ALL) и повышает их чувствительность к винкристину [51]. Ингибитор галектина-1 ОТХ008 (РТХ008) снижает рост и увеличивает оксигенацию опухолевых клеток плоскоклеточного рака гортани человека (SQ20B) в экспериментальной модели у мышей (athymic nude, *Nu/Nu*) [31], усиливает угнетающее действие сорафениба на пролиферацию клеток гепатоцеллюлярной карциномы (МНСС97L) [52]. В сочетании с химиотерапевтическим средством ирофульвеном РТХ008 вызывает регресс роста опухоли яичников, вызванный в эксперименте у мышей (athymic nude, *Nu/Nu*) путем введения линии клеток эпителиальной карциномы яичников человека (МА148) [32].

Недавно предложены новые неуглеводные соединения, связывающие С-концевые домены галектина-3 и галектина-8С – производные N-арилсульфонил-5-арилокси-индол-2-карбоксамиды – соединения Spd53 (галектин-3: $K_d = 4,12$ мкМ, галектин-8С: $K_d = 6,04$ мкМ) и Spd57 (галектин-3: $K_d = 12,8$ мкМ, галектин-8С: $K_d = 2,06$ мкМ). Методом молекулярного докинга установлено, что аминокислоты Arg144 галектина-3 и Ser213 галектина-8С способствуют повышению селективности [5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Участие галектинов в процессе опухолевой трансформации клеток, метастазировании, стимуляции ангиогенеза и подавлении реакций противоопухолевого иммунитета позволяет рассматривать эти углеводсвязывающие белки как многофункциональные мишени для терапии онкологических заболеваний. Результаты многочисленных исследований по оценке влияния молекул разной структуры на галектин-опосредованные эффекты указывают на перспективность работ в направлении разработки селективных

антагонистов отдельных представителей семейства галектинов и рациональность их совместного применения с противоопухолевыми препаратами с целью усиления химиотерапевтического эффекта. Высокий риск фиброза тканей разной локализации, ассоциированный с повышением экспрессии галектина-1 и -3, свидетельствует о возможности модулирующего влияния на пролиферацию фибробластов путем устранения эффектов галектинов с помощью антагонистов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Kandel S., Adhikary P., Li G., Cheng K. The TIM3/Gal9 signaling pathway: An emerging target for cancer immunotherapy. *Cancer Lett.* 2021;510:67–78. DOI: 10.1016/j.canlet.2021.04.011.
- Laderach D.J., Compagno D. Unraveling how tumor-derived galectins contribute to anti-cancer immunity failure. *Cancers (Basel)*. 2021;13(18):4529. DOI: 10.3390/cancers13184529.
- Hattori T. Galectins: their network and roles in infection/immunity/tumor growth control 2021. *Biomolecules*. 2022;12(9):1255. DOI: 10.3390/biom12091255.
- Mariño K.V., Cagnoni A.J., Croci D.O., Rabinovich G.A. Targeting galectin-driven regulatory circuits in cancer and fibrosis. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2023;22(4):295–316. DOI: 10.1038/s41573-023-00636-2.
- Zhang H., Wang X., Wan Y., Liu L., Zhou J., Li P. et al. Discovery of N-arylsulfonyl-indole-2-carboxamide derivatives as galectin-3 and galectin-8 C-terminal domain inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* 2023;14(9):1257–1265. DOI: 10.1021/acsmchemlett.3c00261.
- Vrbata D., Filipová M., Tavares M.R., Červený J., Vlachová M., Šírová M. et al. Glycopolymers decorated with 3-O-Substituted thiodigalactosides as potent multivalent inhibitors of galectin-3. *J. Med. Chem.* 2022;65(5):3866–3878. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c01625.
- Elliott W.Jr., Tsung A.J., Guda M.R., Velpula K.K. Galectin inhibitors and nanoparticles as a novel therapeutic strategy for glioblastoma multiforme. *Am. J. Cancer. Res.* 2024;14(2):774–795. DOI: 10.62347/MKIV1986.
- Hijssen V.L., Rabinovich G.A., Griffioen A.W. Vascular galectins: regulators of tumor progression and targets for cancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(6):547–558. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2013.07.003.
- Cerliani J.P., Dalotto-Moreno T., Compagno D., Dergan-Dylon L.S., Laderach D.J., Gentilini L. et al. Study of galectins in tumor immunity: strategies and methods. *Methods Mol. Biol.* 2015; 1207: 249–268. DOI: 10.1007/978-1-4939-1396-1_16.
- Elola M.T., Ferragut F., Méndez-Huergo S.P., Croci D.O., Bracalente C., Rabinovich G.A. Galectins: Multitask signaling molecules linking fibroblast, endothelial and immune cell programs in the tumor microenvironment. *Cell. Immunol.* 2018;333:34–45. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.03.008.
- Li J., Pan Y., Yang J., Wang J., Jiang Q., Dou H. et al. Tumor necrosis factor- α -primed mesenchymal stem cell-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Galectin-1 and modify intrauterine adhesion on a novel murine

- model. *Front. Immunol.* 2022;13:945234. DOI: 10.3389/fimmu.2022.945234.
12. Blanda V., Bracale U.M., Di Taranto M.D., Fortunato G. Galectin-3 in cardiovascular diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(23):9232. DOI: 10.3390/ijms21239232.
 13. Hirani N., MacKinnon A.C., Nicol L., Ford P., Schambye H., Pedersen A. et al. Target inhibition of galectin-3 by inhaled TD139 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2021;57(5):2002559. DOI: 10.1183/13993003.02559-2020.
 14. Mathur T., Singh I. Novel approaches for the treatment of pulmonary fibrosis with emphasis on the role of galectin-3 inhibitors as a potential therapeutic approach. *Curr. Drug. Res. Rev.* 2023. DOI: 10.2174/0125899775269970231218100959.
 15. Sherpa M.D., Sonkawade S.D., Jonnala V., Pokharel S., Khazaeli M., Yatsynovich Y. et al. Galectin-3 is associated with cardiac fibrosis and an increased risk of sudden death. *Cells.* 2023;12(9):1218. DOI: 10.3390/cells12091218.
 16. Hermenean A., Oatis D., Herman H., Ciceu A., D'Amico G., Trotta M.C. Galectin 1-A key player between tissue repair and fibrosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(10):5548. DOI: 10.3390/ijms23105548.
 17. Zetterberg F.R., MacKinnon A., Brimert T., Gravelle L., Johnsson R.E., Kahl-Knutson B. et al. Discovery and optimization of the first highly effective and orally available galectin-3 inhibitors for treatment of fibrotic disease. *J. Med. Chem.* 2022;65(19):12626–12638. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.2c00660.
 18. Dimitrijevic Stojanovic M., Stojanovic B., Radosavljevic I., Kovacevic V., Jovanovic I., Stojanovic B.S. et al. Galectin-3's complex interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma: from cellular signaling to therapeutic potential. *Biomolecules.* 2023;13(10):1500. DOI: 10.3390/biom13101500.
 19. Liu F.T., Stowell S.R. The role of galectins in immunity and infection. *Nat. Rev. Immunol.* 2023;23(8):479–494. DOI: 10.1038/s41577-022-00829-7.
 20. Pinho S.S., Alves I., Gaifem J., Rabinovich G.A. Immune regulatory networks coordinated by glycans and glycan-binding proteins in autoimmunity and infection. *Cell. Mol. Immunol.* 2023;20(10):1101–1113. DOI: 10.1038/s41423-023-01074-1.
 21. Cedeno-Laurent F., Dimitroff C.J. Galectins and their ligands: negative regulators of anti-tumor immunity. *Glycoconj. J.* 2012;29(8–9):619–25. DOI: 10.1007/s10719-012-9379-0.
 22. Vuong L., Kouverianou E., Rooney C.M., McHugh B.J., Howie S.E.M., Gregory C.D. et al. An orally active galectin-3 antagonist inhibits lung adenocarcinoma growth and augments response to PD-L1 blockade. *Cancer Res.* 2019;79(7):1480–1492. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2244.
 23. Goud N.S., Bhattacharya A. Human galectin-1 in multiple cancers: a privileged molecular target in oncology. *Mini Rev. Med. Chem.* 2021;21(15):2169–2186. DOI: 10.2174/1389557521666210217093815.
 24. Fei F., Zhang M., Tarighat S.S., Joo E.J., Yang L., Heisterkamp N. Galectin-1 and galectin-3 in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(22):14359. DOI: 10.3390/ijms232214359.
 25. Pasmatzis E., Papadionysiou C., Monastirli A., Badavanis G., Tsambaos D. Galectin 1 in dermatology: current knowledge and perspectives. *Acta. Dermatovenerol. Alp. Pannonica. Adriat.* 2019;28(1):27–31. DOI: 10.15570/actaapa.2019.6
 26. Porciúncula-González C., Cagnoni A.J., Fontana C., Mariño K.V., Saenz-Méndez P., Giacomini C. et al. Structural insights in galectin-1-glycan recognition: Relevance of the glycosidic linkage and the N-acetylation pattern of sugar moieties. *Bioorg. Med. Chem.* 2021;44:116309. DOI: 10.1016/j.bmc.2021.116309.
 27. Massaro M., Cagnoni A.J., Medrano F.J., Pérez-Sáez J.M., Abdullayev S., Belkhadem K. et al. Selective modifications of lactose and N-acetylglucosamine with sulfate and aromatic bulky groups unveil unique structural insights in galectin-1-ligand recognition. *Bioorg. Med. Chem.* 2023;94:117480. DOI: 10.1016/j.bmc.2023.117480.
 28. Marchiori M.F., Souto D.E., Bortot L.O., Pereira J.F., Kubota L.T., Cummings R.D. et al. Synthetic 1,2,3-triazole-linked glycoconjugates bind with high affinity to human galectin-3. *Bioorg. Med. Chem.* 2015;23(13):3414–3425. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.04.044.
 29. Campo V.L., Marchiori M.F., Rodriguez L.C., Dias-Baruffi M. Synthetic glycoconjugate inhibitors of tumor galectin-3: updated information. *Glycoconj. J.* 2016;33(6):853–876. DOI: 10.1007/s10719-016-9721-z
 30. Stegmayr J., Zetterberg F., Carlsson M.C., Huang X., Sharma G., Kahl-Knutson B. et al. Extracellular and intracellular small-molecule galectin-3 inhibitors. *Sci. Rep.* 2019;9(1):2186. DOI: 10.1038/s41598-019-38497-8.
 31. Koonce N.A., Griffin R.J., Dings R.P.M. Galectin-1 inhibitor OTX008 induces tumor vessel normalization and tumor growth inhibition in human head and neck squamous cell carcinoma models. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(12):2671. DOI: 10.3390/ijms18122671.
 32. Dings R.P.M., Miller M.C., Griffin R.J., Mayo K.H. Galectins as molecular targets for therapeutic intervention. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(3):905. DOI: 10.3390/ijms19030905.
 33. Martin-Saldaña S., Chevalier M.T., Pandit A. Therapeutic potential of targeting galectins – A biomaterials-focused perspective. *Biomaterials.* 2022;286:121585. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121585.
 34. Salameh B.A., Leffler H., Nilsson U.J. 3-(1,2,3-Triazol-1-yl)-1-thio-galactosides as small, efficient, and hydrolytically stable inhibitors of galectin-3. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005;15(14):3344–3346. DOI: 10.1016/j.bmcl.2005.05.084.
 35. Zetterberg F.R., Peterson K., Johnsson R.E., Brimert T., Håkansson M., Logan D.T. et al. Monosaccharide derivatives with low-nanomolar lectin affinity and high selectivity based on combined fluorine-amide, phenyl-arginine, sulfur- π , and halogen bond interactions. *Chem. Med. Chem.* 2018;13(2):133–137. DOI: 10.1002/cmde.201700744.
 36. Ito K., Scott S.A., Cutler S., Dong L.F., Neuzil J., Blanchard H. et al. Thiodigalactoside inhibits murine cancers by concurrently blocking effects of galectin-1 on immune dysregulation, angiogenesis and protection against oxidative stress. *Angiogenesis.* 2011;14(3):293–307. DOI: 10.1007/s10456-011-9213-5.
 37. Peterson K., Kumar R., Stenström O., Verma P., Verma P.R., Håkansson M. et al. Systematic tuning of fluoro-galectin-3 interactions provides thiodigalactoside derivatives with single-digit nM affinity and high selectivity. *J. Med.*

- Chem.* 2018;61(3):1164–1175. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b01626.
38. Hőgye F., Farkas L.B., Balogh Á.K., Szilágyi L., Alnukari S., Bajza I. et al. Saturation transfer difference NMR and molecular docking interaction study of aralkyl-thiodigalactosides as potential inhibitors of the human-galectin-3 protein. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;25(3):1742. DOI: 10.3390/ijms25031742.
39. Salameh B.A., Cumpstey I., Sundin A., Leffler H., Nilsson U.J. 1H-1,2,3-triazol-1-yl thiodigalactoside derivatives as high affinity galectin-3 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2010;18(14):5367–5378. DOI: 10.1016/j.bmc.2010.05.040.
40. Vašíček T., Spiwok V., Červený J., Petrásková L., Bumba L., Vrbata D. et al. Regioselective 3-O-substitution of unprotected thiodigalactosides: direct route to galectin inhibitors. *Chemistry.* 2020;26(43):9620–9631. DOI: 10.1002/chem.202002084.
41. Zetterberg F.R., Diehl C., Håkansson M., Kahl-Knutson B., Leffler H., Nilsson U.J. et al. Discovery of selective and orally available galectin-1 inhibitors. *J. Med. Chem.* 2023;66(24):16980–16990. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.3c01787.
42. Rajput V.K., MacKinnon A., Mandal S., Collins P., Blanchard H., Leffler H. et al. A selective galactose-coumarin-derived galectin-3 inhibitor demonstrates involvement of galectin-3-glycan interactions in a pulmonary fibrosis model. *J. Med. Chem.* 2016;59(17):8141–8147. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00957.
43. Filipová M., Bojarová P., Rodrigues Tavares M., Bumba L., Elling L., Chytil P. et al. Glycopolymers for efficient inhibition of galectin-3: in vitro proof of efficacy using suppression of TILymphocyte apoptosis and tumor cell migration. *Biomacromolecules.* 2020;21(8):3122–3133. DOI: 10.1021/acs.biomac.0c00515.
44. Ou C., Li C., Feng C., Tong X., Vasta G.R., Wang L.X. Synthesis, binding affinity, and inhibitory capacity of cyclodextrin-based multivalent glycan ligands for human galectin-3. *Bioorg. Med. Chem.* 2022 72:116974. DOI: 10.1016/j.bmc.2022.116974.
45. Tavares M.R., Bláhová M., Sedláková L., Elling L., Pelantová H., Konefał R. et al. High-affinity N-(2-Hydroxypropyl)methacrylamide copolymers with tailored N-acetylglucosamine presentation discriminate between galectins. *Biomacromolecules.* 2020;21(2):641–652. DOI: 10.1021/acs.biomac.9b01370.
46. Raics M., Balogh Á.K., Kishor C., Timári I., Medrano F.J., Romero A. et al. Investigation of the molecular details of the interactions of selenoglycosides and human galectin-3. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(5):2494. DOI: 10.3390/ijms23052494.
47. Ruvolo P.P., Ruvolo V.R., Benton C.B., AlRawi A., Burks J.K., Schober W. et al. Combination of galectin inhibitor GCS-100 and BH3 mimetics eliminates both p53 wild type and p53 null AML cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016;1863(4):562–571. DOI: 10.1016/j.bbamer.2015.12.008.
48. Wang Y., Nangia-Makker P., Balan V., Hogan V., Raz A. Calpain activation through galectin-3 inhibition sensitizes prostate cancer cells to cisplatin treatment. *Cell. Death. Dis.* 2010;1(11):e101. DOI: 10.1038/cddis.2010.79.
49. Sturgill E.R., Rolig A.S., Linch S.N., Mick C., Kasiewicz M.J., Sun Z. et al. Galectin-3 inhibition with belapectin combined with anti-OX40 therapy reprograms the tumor microenvironment to favor anti-tumor immunity. *Oncoimmunology.* 2021;10(1):1892265. DOI: 10.1080/2162402X.2021.1892265.
50. Curti B.D., Koguchi Y., Leidner R.S., Rolig A.S., Sturgill E.R., Sun Z. et al. Enhancing clinical and immunological effects of anti-PD-1 with belapectin, a galectin-3 inhibitor. *J. Immunother. Cancer.* 2021;9(4):e002371. DOI: 10.1136/jitc-2021-002371.
51. Paz H., Joo E.J., Chou C.H., Fei F., Mayo K.H., Abdel-Azim H. et al. Treatment of B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with the Galectin-1 inhibitor PTX008. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2018;37(1):67. DOI: 10.1186/s13046-018-0721-7.
52. Leung Z., Ko F.C.F., Tey S.K., Kwong E.M.L., Mao X., Liu B.H.M. et al. Galectin-1 promotes hepatocellular carcinoma and the combined therapeutic effect of OTX008 galectin-1 inhibitor and sorafenib in tumor cells. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019;38(1):423. DOI: 10.1186/s13046-019-1402-x.

Информация об авторах

Серебрякова Валентина Александровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры фармакологии СибГМУ, г. Томск, serebryakova-val@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7078-4988>.

Ваизова Ольга Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры фармакологии СибГМУ, г. Томск, vaizova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4083-976X>

Головина Евгения Леонидовна – канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии СибГМУ, г. Томск, golovina.el@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6132-9617>

Кочубей Вероника Владимировна – студентка, педиатрический факультет, СибГМУ, г. Томск, veronica.kochubey@gmail.com, <http://orcid.org/0009-0003-8743-5022>

(✉) **Серебрякова Валентина Александровна**, serebryakova-val@mail.ru

Поступила в редакцию 15.03.2024;
одобрена после рецензирования 20.04.2024;
принята к публикации 25.04.2024



УДК 616.831-006.03-036.88

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-163-171>

Арахноидальная внутримозговая киста у мужчины 28 лет. Клинический случай с летальным исходом

Крахмаль Н.В.^{1,2}, Наумов С.С.¹, Вторушин К.С.¹, Минеханов Т.Р.¹, Завьялова М.В.^{1,2},
Вторушин С.В.^{1,2}

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

² Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Арахноидальные внутримозговые кисты представляют собой чаще врожденные, ограниченные листками паутинной оболочки пространства (образования кистозного строения), заполненные спинномозговой жидкостью, распространенность их составляет до 1% от всех объемных образований данной локализации, процесс в большинстве случаев имеет доброкачественный характер течения. У детей частота выявления патологии составляет 2,6%, этот показатель у взрослых пациентов соответствует значению 1,4%, несколько чаще заболевание регистрируется среди мужчин. Наиболее часто подобные кисты имеют супратенториальное расположение, преимущественно они диагностируются в средней черепной ямке, в ретроцереbellлярной области, реже их можно обнаружить в конвекситальных отделах больших полушарий, также описаны случаи более редких особых локализаций, в том числе у новорожденных. Патология часто характеризуется бессимптомным течением, при этом возникновение определенной симптоматики может иметь острое начало, обусловлено крупными размерами кист со сдавлением структур головного мозга.

В статье представлено описание случая внутримозговой арахноидальной кисты больших размеров у мужчины 28 лет, не верифицированной прижизненно и выявленной лишь посмертно на основании данных патологоанатомического исследования (макроскопические особенности образования, гистологическая картина с характерными морфологическими изменениями и данные компьютерной томографии больших полушарий головного мозга).

Ключевые слова: арахноидальная внутримозговая киста, морфология

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: Крахмаль Н.В., Наумов С.С., Вторушин К.С., Минеханов Т.Р., Завьялова М.В., Вторушин С.В. Арахноидальная внутримозговая киста у мужчины 28 лет. Клинический случай с летальным исходом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):163–171. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-163-171>.

✉ Наумов Сергей Сергеевич, serg.nau2011@gmail.com

Intracranial arachnoid cyst in a 28-year-old man. A clinical case with a fatal outcome

Krakhmal N.V.^{1,2}, Naumov S.S.¹, Vtorushin K.S.¹, Minekhanov T.R.¹, Zavyalova M.V.^{1,2}, Vtorushin S.V.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Most intracranial arachnoid cysts are thought to be non-tumorous, congenital, intra-arachnoid cerebrospinal fluid collections that account for about 1% of all intracranial space-occupying lesions. In children, the prevalence of this pathology is 2.6%; in adults, it reaches 1.4%. The disease is more often registered in men. Most often arachnoid cysts are supratentorial. Their most common locations are in the middle cranial fossa and the retrocerebellar cistern. Less often they can be detected on the convexity of the brain hemispheres; however, cases of arachnoid cysts at more unusual sites have also been described, including in newborns. The pathology is often characterized by an asymptomatic course, while certain symptoms may have an acute onset, which is due to compression of brain structures caused by the large cyst size.

This article describes a clinical case of a large intracranial arachnoid cyst in a 28-year-old man. It was not verified in the antemortem diagnosis, but was revealed according to the autopsy findings (macroscopic features of the cyst, histologic presentation with specific morphological changes, and findings of computed tomography of the cerebral hemispheres).

Keywords: intracranial arachnoid cyst, morphology

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: Krakhmal N.V., Naumov S.S., Vtorushin K.S., Minekhanov T.R., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V. Intracranial arachnoid cyst in a 28-year-old man. A clinical case with a fatal outcome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):163–171. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-163-171>.

ВВЕДЕНИЕ

Арахноидальные внутримозговые кисты представляют собой чаще врожденные, отграниченные листками паутинной оболочки пространства, заполненные спинномозговой жидкостью, распространенность их составляет до 1% от всех объемных новообразований данной локализации, процесс в большинстве случаев имеет доброкачественный характер течения. Существует классификация, согласно которой выделяют первичные (кисты развития) и вторичные кисты. Возникновение первых объясняют либо происходящим во внутриутробном периоде процессом расщепления арахноидальной оболочки с последующим формированием «мешочков» и аномальным скоплением в них цереброспинальной жидкости, либо нарушением слипания лобной и височной эмбриональных моз-

говых оболочек с удвоением сильвиевой щели [1], вторичные кисты скорее считаются следствием перенесенных инфекций, травматических повреждений структур мозга, не исключают их развитие после проведения хирургических вмешательств и в исходе внутричерепных кровоизлияний, при этом взаимосвязь с желудочковой системой мозга может быть сохранена, но нередко отсутствует [1–4].

В литературе представлены данные о случаях выявления множественных арахноидальных кист (АК) у одного пациента [5], также имеются сведения о том, что врожденные АК могут быть ассоциированы с мутацией гена *FOXC2* в 16-й хромосоме [6], а также сочетаться с синдромом Арнольда – Киари [7]. Первые медицинские случаи внутримозговых АК были описаны R. Bright в 1831 г. [8]. Результаты исследований W.N. Al-Holou и соавт. указывают, что у детей

частота выявления патологии составляет около 2,6%, среди взрослых пациентов этот показатель соответствует значению 1,4% [5, 9], известно, что несколько чаще заболевание определяется у мужчин [5, 8].

Данные кистозные новообразования мозга наиболее часто имеют супратенториальное расположение, преобладает их локализация в средней черепной ямке (34%) и в ретроцеребеллярной области (33%), реже их можно обнаружить в конвекситальных отделах больших полушарий (14%) [5]. В литературе представлены случаи выявления и успешного хирургического лечения кист более редких, особых локализаций, в частности в препонтийной зоне, в области четверохолмия и между большими полушариями головного мозга [10–12].

Данная патология регистрируется в различных возрастных группах, нередко случайно при проведении структурных и функциональных методов нейровизуализации по поводу не связанных с ней симптомов и жалоб [1]. Нередко подобные кисты клинически никак себя не проявляют длительный период времени, симптоматические внутримозговые АК являются редким событием, чаще регистрируются у детей [13], однако описаны случаи обнаружения гигантских арахноидальных кист у молодых мужчин, у которых резкое появление острых неврологических симптомов было обусловлено выраженным сдавлением структур мозга, размеры кист в этих случаях составили $12,3 \times 16,5 \times 7,9$ см и $6,5 \times 11,5 \times 12,5$ см [14, 15].

Исследования, посвященные изучению морфологии арахноидальных кист, являются малочисленными, основные работы датируются временным периодом 1972–2000 гг. Так, K. Rabiei и соавт. (2014) представили детальное описание морфологических особенностей данных образований и показали возможные отличия в строении эпителиальной выстилки и внеклеточных компонентов в стенках исследуемых кистозных полостных структур мозга, среди которых наличие в типичной ткани паутинной оболочки плоского и мерцательного эпителия, глиального и нейронального компонентов. Обнаруженные особенности структуры арахноидальных кист позволили авторам предположить у них различные барьерные свойства и характеристики циркуляции жидкости, что может быть определяющим фактором в оценке темпов роста и склонности к рецидиву [16].

В данной статье представлено описание случая внутримозговой арахноидальной кисты крупных размеров у мужчины 28 лет, не верифицированной прижизненно и выявленной лишь посмертно на основании данных аутопсии (макроскопические особенности, гистологические изменения и данные

компьютерной томографии больших полушарий головного мозга).

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент Ф., 28 лет, поступил в клинику Сибирского государственного медицинского университета (Томск) экстренно в порядке скорой медицинской помощи 26.05.2021. При поступлении в приемном покое предъявлял жалобы на выраженную головную боль, слабость, повышение температуры до $37,2$ °С. Из истории болезни известно, что данные симптомы появились остро в день настоящей госпитализации на фоне полного физического здоровья, в виду ухудшения состояния пациент пришел в аптеку, где ему стало значительно хуже, сотрудники аптеки вызвали бригаду скорой помощи.

Из анамнеза было известно, что на протяжении предшествующего весеннего месяца (май) были зафиксированы неоднократно эпизоды присасывания клещей, однако пациент по данному поводу обследование не проходил, профилактика клещевого энцефалита и болезни Лайма (клещевой боррелиоз) не проводилась, с учетом симптомов и данных анамнеза пациент был доставлен бригадой скорой помощи в клинику инфекционных болезней СибГМУ. Объективно при поступлении: состояние тяжелое, температура $37,3$ °С, давление 100/60 мм рт. ст., пульс 88 в минуту, показатель сатурации (SpO_2) 98%, пациент в сознании, продуктивный контакт затруднен, при осмотре отмечены гиперемия лица, потливость. В неврологическом статусе при обследовании в приемном покое выявлены гиперестезия, ригидность затылочных мышц на четыре пальца, резко выраженная болезненность в точках выхода черепно-мозговых нервов, глазная щель $S > D$, девиация языка вправо, снижение силы мышц.

Принимая во внимание такие симптомы, как острое начало заболевания, наличие выраженной головной боли, слабости, повышение температуры, а также учитывая эпидемический сезон и наличие эпизодов присасывания клещей, при поступлении в клинику пациенту был выставлен диагноз: А84.0 – Дальневосточный клещевой энцефалит (русский весенне-летний), менингоэнцефалитическая форма, острое начало, тяжелой степени. В соответствии с обозначенным диагнозом был определен план обследования и лечения. Учитывая тяжелое состояние, пациент был доставлен в отделение анестезиологии и реанимации (ОАР).

При осмотре врача-невролога состояние оценивается как тяжелое с отрицательной динамикой, нарастает неврологический дефицит, отмечается тенденция к гипотензии, пациент не доступен про-

дуктивному контакту, без сознания, на вопросы не отвечает, команды не выполняет, в связи с чем провести и оценить координаторные и другие пробы невозможно. Объективно глазные щели и носогубные складки D = S, зрачки D = S, сужены, взор фиксирован по центру, отмечается ригидность затылочных мышц на 4+ пальца, симптомы Кернига и Брудзинского положительные. Рефлексы с верхних и нижних конечностей живые, тонус сохранен, брюшные рефлексы живые, патологические стопные и кистевые знаки не определяются, достоверно признаки тазовых нарушений отсутствуют. Пациент 27.05.2021 переведен на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ), начата инотропная терапия с постепенным увеличением дозы вводимых препаратов.

При поступлении в экстренном порядке были назначены проведение диагностической люмбальной пункции, магниторезонансной томографии (МРТ) головного мозга, а также иммуноферментный анализ (ИФА) крови на выявление антител (Ат) и антигенов (Аг) к вирусу клещевого энцефалита и боррелиоза с целью уточнения диагноза и выбора тактики лечения. Результат исследования спинномозговой жидкости (люмбальная пункция): жидкость (объем 2,5 мл) бесцветная, слегка мутная, белок 0,72 г/л (норма 0,22–0,33 г/л), цитоз 26 в 1 мкл (норма 4–5 в 1 мкл), глюкоза 3,4 ммоль/л; ликворограмма – нейтрофилы 89%, лимфоциты 8%, моноциты 3%, плазмоциты 0, эозинофилы 0, базофилы 0. Результат ИФА крови: Ат к вирусу клещевого энцефалита IgM (–), иммуноглобулины (Ig) класса G 160 Ед/мл; Ат Лайм IgM (–) и IgG (–).

По данным протокола МРТ головного мозга (рис. 1) в левой лобной доле было обнаружено внутримозговое образование овальной формы кистозного строения (размеры 66 × 48 × 55 мм) с экспансивным типом роста с неровными нечеткими контурами с наличием капсулы толщиной 2–5 мм неоднородной структуры с признаками высокого содержания белка (врачом высказано предположение о дисэмбриональном генезе выявленного новообразования). В обла-

сти нижнего полюса – очаги обызвествления (кальцинаты), передний рог левого бокового желудочка деформирован, компримирован, в передних отделах межжелудочковая перегородка смещена вправо до 6,8 мм. Турецкое седло обычной формы и размеров, супраселлярная цистерна пролабировала в полость седла, гипофиз оттеснен ко дну, уплощен до 22 мм (изменения по типу «пустого турецкого седла»), на протяжении интракраниальной части отмечалось сужение калибра правой позвоночной артерии до 1 мм, калибр левой позвоночной и основной артерий соответствовал значению 2,5 мм.

В протоколе МРТ также было описано наличие очагов острого ишемического повреждения вещества мозга в субкортикальных и кортикальных отделах парасагитальной зоны левой теменной доли (до 4 × 6 мм). Конвекситальное субарахноидальное ликворное пространство в теменно-затылочной области слева было сужено, отчетливо не определялось при исследовании. Результаты показателей крови, в том числе со значимым отклонением от референсных значений, представлены в динамике в таблице. Значения показателей коагулограммы, других показателей биохимического анализа крови и общего анализа мочи у пациента были в пределах нормы. Заключение электрокардиограммы (ЭКГ) от 28.05.2021: вертикальное положение электрической оси сердца, ритм синусовый 96 уд/мин, неполная блокада правой ножки пучка Гиса; повышенная нагрузка на правое предсердие; нарушение процесса реполяризации желудочков в III и aVF отведениях; изменения сегмента ST и зубца T со слабым подъемом в грудных отведениях (по данным ЭКГ высказано предположение о возможном наличии перикардита, миокардита и (или) мозговых сосудистых нарушений); интервал QT в норме.

После проведения МРТ головного мозга и получения заключения о наличии объемного новообразования в левой лобной доле был оформлен запрос на получение телемедицинской консультации врача-нейрохирурга, который с учетом клиники, представленных данных МРТ, а также результатов

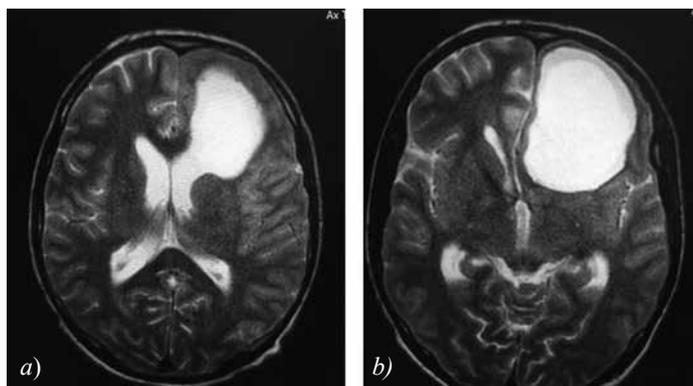


Рис. 1. Данные МРТ головного мозга. Наличие объемного кистозного образования в лобной доле левого полушария головного мозга, компримирующего прилежащее вещество мозга и рядом расположенные структуры (a, b)

дополнительных лабораторных и инструментальных методов исследования выставил в диагноз в качестве основного заболевания абсцесс лобной доли левого полушария головного мозга, был рекомендован перевод пациента для дальнейшего лечения в нейрохирургическое отделение. Однако тяжесть состояния пациента определяла невозможность транспортировки и проведения оперативного вмешательства, в связи с чем было принято решение о повторной консультации при стабилизации гемодинамики.

Таблица

Значения показателей крови пациента в динамике			
Показатель крови	Дата		
	26.05.2021	28.05.2021	29.05.2021
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,24	4,86	4,9
Гемоглобин, г/л	133	155	162
Лейкоциты, $10^9/л$	9	19,2	18,5
Гематокрит, %	40	45	45
Тромбоциты, $10^9/л$	245	339	$268 \times 10^9/л$

На протяжении последующих трех дней состояние пациента оценивалось как тяжелое с отрицательной динамикой (кома 3), пульс до 126 в минуту, зрачки $D = S$, без реакции на свет, 28.05.2021 отмечены повышение температуры до $37,6^{\circ}C$, резкий лейкоцитоз ($19,2 \times 10^9/л$), выраженная склонность к гипотонии, артериальное давление 80–60/50–40 мм рт. ст., выявлены гипернатриемия 160,2 ммоль/л, гипокалиемия 2,32 ммоль/л. Состояние, по данным дневниковых записей, оценивали как крайне тяжелое, терминальное с выраженной тенденцией к гипотонии.

30.05.2021 зафиксирована асистолия, были начаты реанимационные мероприятия, которые оказались эффективными, через 5 мин ритм сердца восстановился, однако артериальное давление оставалось крайне низким, нестабильным, через 15 мин на фоне вновь возникшего эпизода асистолии и признаков выраженной гипотонии начатые в полном объеме и проводимые в течение 30 мин пациенту в условиях ОАР реанимационные мероприятия не имели эффекта, была зафиксирована биологическая

смерть. Заключительный клинический диагноз был сформулирован следующим образом:

Основное заболевание: абсцесс лобной доли левого полушария мозга.

Осложнения: отек мозга. Полиорганная недостаточность. Асистолия. Сердечно-легочная реанимация: ИВЛ, непрямой массаж сердца, введение норадреналина.

Сопутствующие заболевания: неполная блокада правой ножки пучка Гиса.

Тело умершего было направлено на вскрытие в патологоанатомическое отделение клиник СибГМУ.

ДАННЫЕ ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

При макроскопическом исследовании в ходе аутопсии значимые морфологические изменения были обнаружены в головном мозге и в легких. При исследовании мозговые оболочки имели типичное анатомическое строение. Головной мозг был увеличен (масса 1 600 г), отечный, мягкой консистенции, рельеф борозд и извилин неравномерно сглажен, на поверхности полушарий мозжечка определялась отчетливая окклюзионная борозда от вклинения в большое затылочное отверстие. Мозжечок дряблой консистенции, отечный, на разрезах структура сохранена. Мост и стволовая часть мозга характеризовались также мягкой дряблой консистенцией, анатомическое строение было не изменено. На горизонтальном разрезе в белом веществе лобной доли левого полушария головного мозга было обнаружено располагающееся субкортикально овальной формы крупное (размеры $6,8 \times 5 \times 5$ см), четко отграниченное кистозного строения образование с прозрачной гладкой капсулой, на разрезе представленное желеобразными массами мягкой эластичной консистенции желтовато-коричневого цвета с наличием тонких, плотных по консистенции прослоек ткани белесоватого цвета (рис. 2). В прилежащих к описанной кисте участках вещество головного мозга



Рис. 2. Арахноидальная киста головного мозга (макроскопические изменения). Киста неправильной овальной формы с тонкой прозрачной гладкой капсулой, представленная желеобразными массами мягкой эластичной консистенции желтовато-коричневого цвета (a, b)

имело резко дряблую консистенцию, граница между белым и серым веществом коры лобной доли левого полушария отчетливо не дифференцировалась. Образование сдавливало прилежащую ткань головного мозга, за счет этого передний рог левого бокового желудочка имел щелевидную форму, полость его визуально не определялась.

При вскрытии и исследовании органов грудной клетки отмечалось, что листки плевры не изменены, легкие обычных размеров, правильной анатомической формы. Легочная ткань на всем протяжении была слегка уплотнена, однородная, насыщенного темного красно-вишневого цвета, с поверхности срезов обильно стекала пенная розоватого цвета слегка мутная жидкость. Макроскопически на аутопсии в других органах и тканях каких-либо патологических изменений, имеющих значение в танатогенезе, обнаружено не было. Для микроскопии были взяты фрагменты тканей внутренних органов, с маркировкой – фрагменты ткани головного мозга, кистозного образования левой лобной доли и легких.

При микроскопическом исследовании в препаратах ткани головного мозга были обнаружены резко выраженный отек с формированием участков выраженного разрежения нейропиля, полнокровие интраорганных сосудов, в единичных полях зрения выявлялись мелкие фокусы периваскулярных кровоизлияний по типу диапедезных, в просветах некоторых капилляров – лейкостазы. Во фрагментах ткани, взятых из мозжечка и ствола мозга, также на всем протяжении определялся резко выраженный отек. Гистологически описанное кистозное образование лобной доли левого полушария головного мозга было представлено обилием хаотично располагающихся малоклеточных фиброзных волокнистых эозинофильных структур, формирующих подобие множественных кистозных полостей с тонкими стенками и деформированными просветами, часть из которых заполнена гомогенным эозинофильным содержимым.

В периферических участках данной кисты был обнаружен неравномерно выраженный воспалительный инфильтрат с наличием лимфоидных клеток, крупных клеток по типу моноцитов и макрофагов с обильной цитоплазмой, преобладали в клеточном составе сегментоядерные лейкоциты. Образование было покрыто одним слоем тесно прилежащих друг к другу столбчатых клеток, на апикальной части которых отчетливо определялись множественные мельчайшие реснички. В тканевых структурах кисты в большом количестве имелись кровеносные сосуды по типу артериальных, венозных, а также сосуды с тонкими стенками по типу капилляров в состоянии

выраженного полнокровия. В одиночных полях зрения выявлялись единичные крупные клетки, в цитоплазме которых присутствовали многочисленные мелкие округлые ядра (клетки по типу многоядерных) и мелкие базофильные кальцинаты (рис. 3). В препаратах ткани головного мозга, прилежащей к кисте левой лобной доле, были обнаружены очаги острых ишемических повреждений вещества с нарушением его структуры, признаки отека были значительно более выражены, в очагах минимально определялись неизмененные эритроциты.

Во фрагментах легочной ткани на всем протяжении отмечались полнокровие и выраженный альвеолярный отек. В препаратах нижней доли левого легкого структура ткани была нарушена за счет наличия множественных очагов гнойного воспаления с большим количеством сегментоядерных лейкоцитов и гнойных телец, в экссудате определялись также эритроциты. В части полей зрения межальвеолярные перегородки не дифференцировались за счет данного экссудата, который был наиболее выражен и имел преимущественную локализацию вокруг бронхов, стенки бронхов были неравномерно утолщены за счет отека и выраженной воспалительной инфильтрации, границы бронхов в части полей зрения отчетливо не дифференцировались, стенки были разрушены, бронхиальный эпителий отсутствовал, определялись участки распространенного некроза эпителия, массы детрита и обилие нейтрофилов с гнойными тельцами обнаруживались в просветах бронхов. В капиллярах легких выявлялись лейкостазы.

Описанные таким образом лишь при микроскопии морфологические изменения в легочной ткани соответствовали очаговой гнойно-геморрагической бронхопневмонии указанной локализации на фоне альвеолярного отека и выраженного острого полнокровия с наличием лейкостазов. Необходимо отметить, что также лишь при микроскопии были выявлены значимые гистологические изменения в миокарде: неравномерно выраженный отек стромы, частичная фрагментация мышечных волокон с наличием в строме между миоцитами воспалительной инфильтрации, представленной лимфоцитами, единичными плазматическими клетками, более крупными клетками по типу макрофагов и сегментоядерными лейкоцитами. Данный инфильтрат определялся в интерстиции и во многих полях зрения распространялся на кардиомиоциты. В пределах зон с наличием более выраженного воспалительного инфильтрата контуры миоцитов были нечеткие, обнаруживались фокусы с частичным разрушением мышечных волокон и лейкостазы в капиллярах. В миокарде также были выявлены неравномерное кровенаполнение со-

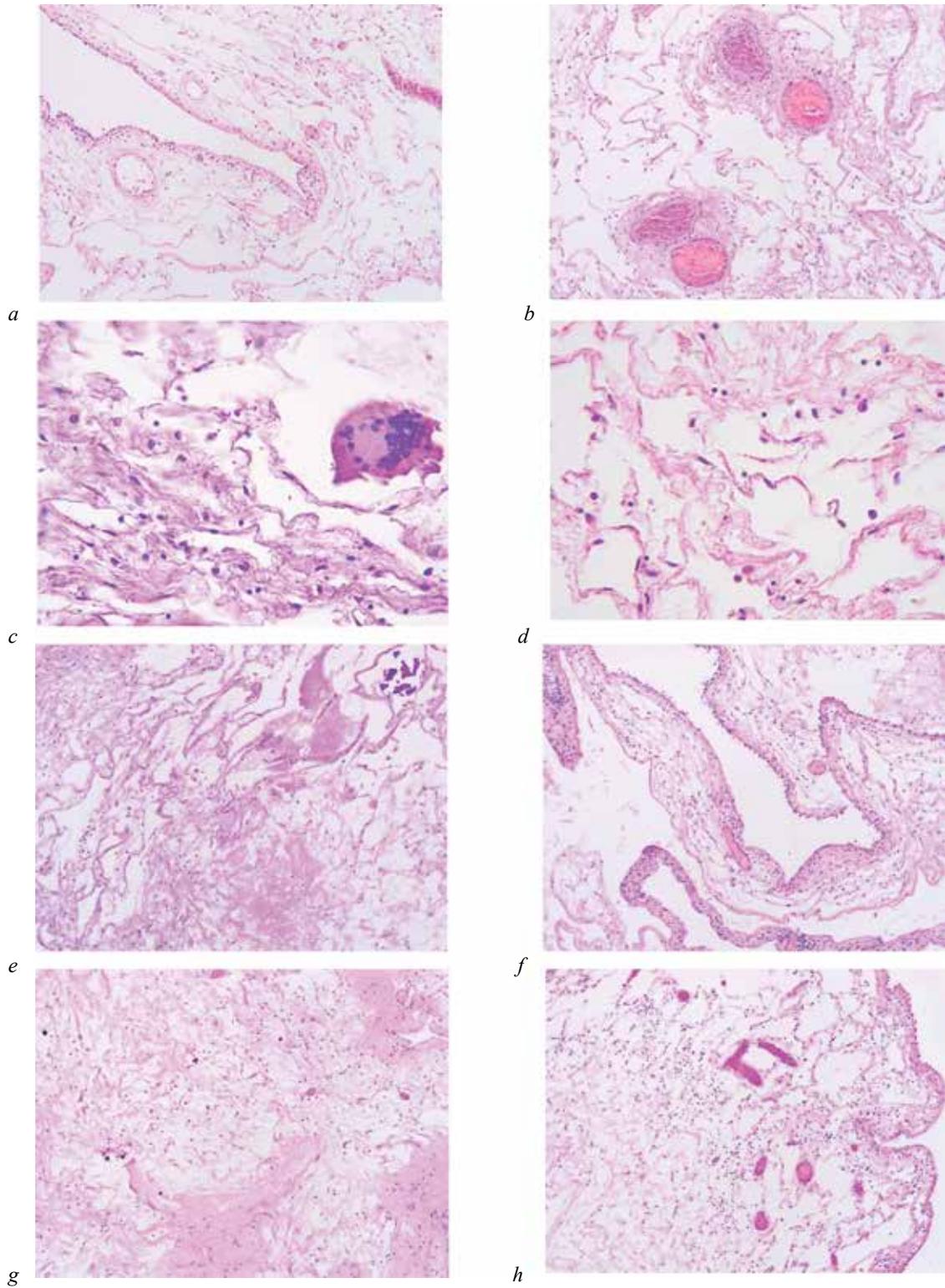


Рис. 3. Арахноидальная киста головного мозга (микрофотографии). Окраска гематоксилином и эозином; *a–b, e–h* $\times 10/0.22$; *c–d* $\times 40/0.65$

судов, слабо выраженный артериолосклероз, мелкие фокусы разрастания жировой ткани в строме.

Описанные патоморфологические изменения соответствовали острому диффузно-очаговому серозному миокардиту с наличием морфологических признаков острой сердечной недостаточности. На основании анализа истории болезни, с учетом описанной клиники, макроскопических изменений и результатов микроскопии фрагментов тканей органов был сформулирован патологоанатомический диагноз.

ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ

Основное заболевание: арахноидальная внутримозговая киста головного мозга (размеры кисты $6,8 \times 5 \times 5$ см), III тип по E. Galassi, с преимущественной локализацией в лобно-теменной области левого полушария с очагами острой ишемии вещества головного мозга.

Осложнения: отек мозга с дислокацией и вклинением ствола и миндалин мозжечка в большое затылочное отверстие. Кома. Внутрибольничная левосторонняя нижнедолевая очаговая гнойно-геморрагическая бронхопневмония. Сепсис (лейкоцитоз $19,2 \times 10^9/\text{л}$, сдвиг формулы влево – нейтрофилы 87,6%; лимфопения – $1,1 \times 10^9/\text{л}$, лимфоциты 5,9%; лейкостазы в капиллярах миокарда, легких, головного мозга). Острый диффузно-очаговый серозный миокардит. Острая сердечная недостаточность. Отек легких.

Сопутствующие заболевания: неполная блокада правой ножки пучка Гиса (по клиническим данным). Атеросклероз аорты с наличием бляшек II–IV типов, распространенность 10%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлено описание клинического случая внутримозговой арахноидальной кисты с локализацией в переднем роге левого бокового желудочка, обнаруженной у молодого мужчины лишь посмертно, диагноз заболевания был поставлен на основании результатов патологоанатомического исследования. Особенность данного случая заключается в том, что показано наличие определенных трудностей в диагностике нозологии, в том числе в плане дифференциального диагноза при наличии различных факторов у конкретного пациента.

В этом случае особое значение имели отсутствие у молодого мужчины в анамнезе предшествующих неврологических симптомов, острое начало болезни в пик сезонной заболеваемости клещевым энцефалитом и болезни Лайма в эндемичном районе, а также крайне быстрое развитие в условиях стационара другой патологии, в частности пневмонии, с возникновением характерных для острого воспаления изме-

нений лабораторных показателей (резко возникший лейкоцитоз). Описанные выше факторы в клинике стали причиной неверной диагностики патологического процесса, однако исход заболевания, скорее всего, изменить было бы нельзя.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Jafrani R., Raskin J.S., Kaufman A., Lam S. Intracranial arachnoid cysts: pediatric neurosurgery update. *Surg. Neurol. Int.* 2019;10:15. DOI: 10.4103/sni.sni_320_18.
2. Yildiz H., Erdogan C., Yalcin R., Yazici Z., Hakyemez B., Parlak M., Tuncel E. Evaluation of communication between intracranial arachnoid cysts and cisterns with phase-contrast cine MR imaging. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2005;26(1):145–151.
3. Mustansir F., Bashir S., Darbar A. Management of Arachnoid Cysts: A Comprehensive Review. *Cureus.* 2018;10(4):e2458. DOI: 10.7759/cureus.2458.
4. Canty K.W., Shiroishi M.S., Zada G., Sharma S., Jimenez M.A. Bilateral arachnoid cyst-associated subdural fluid collections in an infant following TBI. *J. Forensic Leg. Med.* 2021;81:102189. DOI: 10.1016/j.jflm.2021.102189.
5. Al-Holou W.N., Terman S., Kilburg C., Garton H.J., Muraszko K.M., Maher C.O. Prevalence and natural history of arachnoid cysts in adults. *J. Neurosurg.* 2013;118(2):222–231. DOI: 10.3171/2012.10.JNS12548.
6. Qin X., Wang Y., Xu S., Hong X. Familial arachnoid cysts: a review of 35 families. *Childs Nerv. Syst.* 2019;35(4):607–612. DOI: 10.1007/s00381-019-04060-z.
7. Di Perna G., Piatelli G., Rossi A., Consales A., Fiaschi P., Castaldo M. et al. Retrocerebellar Arachnoid Cyst and Chiari Type 1 Malformation: 3 Pediatric Cases of Surgical Management Tailored to the Pathogenic Mechanism and Systematic Review of the Literature. *World Neurosurg.* 2021;148:44–53. DOI: 10.1016/j.wneu.2020.12.094.
8. Fewel M.E., Levy M.L., McComb J.G. Surgical treatment of 95 children with 102 intracranial arachnoid cysts. *Pediatr. Neurosurg.* 1996;25(4):165–173. DOI: 10.1159/000121119.
9. Al-Holou W.N., Yew A.Y., Boomsaad Z.E., Garton H.J., Muraszko K.M., Maher C.O. Prevalence and natural history of arachnoid cysts in children. *J. Neurosurg. Pediatr.* 2010;5(6):578–585. DOI: 10.3171/2010.2.PEDS09464.
10. Akutagawa K., Tamura G., Tsurubuchi T., Ishikawa E., Matsuura A., Inagaki T. Quadrigeminal arachnoid cyst with perinatal encephalocele. *Childs Nerv. Syst.* 2020;36(7):1393–1397. DOI: 10.1007/s00381-020-04626-2.
11. Albakr A., Sader N., Lama S., Sutherland G.R. Interhemispheric arachnoid cyst. *Surg. Neurol. Int.* 2021;12:125. DOI: 10.25259/SNI_660_2020.
12. Endo M., Usami K., Masaaki N., Ogiwara H. A neonatal purely prepontine arachnoid cyst: a case report and review of the literature. *Childs Nerv. Syst.* 2022;38(9):1813–1816. DOI: 10.1007/s00381-022-05457-z.
13. Ichinose T., Miyashita K., Tanaka S., Oikawa N., Oishi M., Nambu I. et al. Recurrent Spinal Intramedullary Arachnoid Cyst: Case Report and Literature Review. *World Neurosurg.* 2020;138:68–72. DOI: 10.1016/j.wneu.2020.02.106.
14. De Longpre J. Large Arachnoid Cyst. *N. Engl. J. Med.*

- 2017;376(23):2265. DOI: 10.1056/NEJMicm1610483.
15. Fadul K.Y., Ali M., Abdelrahman A., I Ahmed S.M., Fadul A., Ali H., Elgassim M. Arachnoid cyst: a sudden deterioration. *Cureus*. 2023;15(3):e36552. DOI: 10.7759/cureus.36552.
16. Rabiei K., Tisell M., Wikkelsø C., Johansson B.R. Diverse arachnoid cyst morphology indicates different pathophysiological origins. *Fluids Barriers CNS*. 2014;11(1):5. DOI: 10.1186/2045-8118-11-5.

Информация об авторах

Крахмаль Надежда Валерьевна – канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; доцент кафедры патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, krakhmal@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1909-1681>

Наумов Сергей Сергеевич – врач-патологоанатом, клиники СибГМУ; аспирант, ассистент кафедры патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, serg.nau2011@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3868-2310>

Вторушин Константин Сергеевич – студент, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, konstantinvtorushin.doctor@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0000-4085-3612>

Минеханов Тимур Ришатович – студент, кафедра патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, minexanov2013@gmail.com, <http://orcid.org/0009-0007-0375-3314>

Завьялова Марина Викторовна – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; зав. кафедрой патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, zavyalovamv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9429-9813>

Вторушин Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; профессор кафедры патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск, wtorushin@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1195-4008>

(✉) **Наумов Сергей Сергеевич**, serg.nau2011@gmail.com

Поступила в редакцию 05.03.2024;
одобрена после рецензирования 20.03.2024;
принята к публикации 25.04.2024

УДК 616.74-009.5-02:616-008.9-003.83
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-172-177>

Миопатический синдром при болезни накопления гликогена IV типа на примере семейного случая

Федосеева И.Ф.¹, Попонникова Т.В.¹, Пиневиц О.С.²

¹ Кемеровский государственный медицинский университет (КемГМУ)
Россия, 650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

² Кузбасская областная клиническая больница им. С.В. Беляева
Россия, 650061, г. Кемерово, пр. Октябрьский, 22

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследование клинической картины и дифференциальная диагностика редкого наследственного заболевания – болезни накопления гликогена IV типа с поражением скелетной мускулатуры на примере семейного случая.

Материалы и методы. Наблюдение двух пациентов в условиях специализированного неврологического отделения областной клинической больницы и амбулаторно.

Результаты. Длительное наблюдение и обследование в двух клинически схожих случаях миопатии у сибсов позволило установить диагноз наследственной болезни обмена веществ. Врожденная мышечная форма болезни накопления гликогена IV типа проявлялась синдромом миопатии, периферическим тетрапарезом с развитием костных деформаций. Сложность диагностики обусловлена прогрессирующим изолированно-миопатическим синдромом при отсутствии симптомов поражения печени. Диагноз установлен с учетом клинических проявлений, прогрессирующего течения заболевания, данных электромиографии, результатов молекулярно-генетического исследования патогенных мутаций, ассоциированных с нервно-мышечными болезнями.

Заключение. Болезнь накопления гликогена IV типа может клинически манифестировать в виде прогрессирующей миопатии без патологии печени и изменений биохимических показателей крови. Представленные клинические случаи у сибсов идентичны. Миопатический синдром не имеет клинических особенностей, значимых для дифференциальной диагностики с другими наследственными нервно-мышечными болезнями. Генетическое исследование выявило мутацию в гене *GBE1* и рассматривается как основной диагностический критерий заболевания.

Ключевые слова: болезнь накопления гликогена IV типа, миопатия, нервно-мышечные болезни

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

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

Для цитирования: Федосеева И.Ф., Попонникова Т.В., Пиневиц О.С. Миопатический синдром при болезни накопления гликогена IV типа на примере семейного случая. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):172–177. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-172-177>.

Myopathy in glycogen storage disease type IV: case report of a family

Fedoseeva I.F.¹, Poponnikova T.V.¹, Pinevich O.S.²

¹ Kemerovo State Medical University (KemSMU)
22a, Voroshilova Str., Kemerovo, 650056, Russian Federation

² Kuzbass Regional Clinical Hospital named after S.V. Belyaev
22, Oktyabrsky Av., Kemerovo, 650061, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the clinical presentation and differential diagnosis of a rare hereditary disease glycogen storage disease type IV with progressive skeletal myopathy in a case report of a family.

Materials and methods. Two patients were followed up in the specialized neurology unit of the regional clinical hospital and in the outpatient setting.

Results. Long-term follow-up and examination in two clinically similar cases of myopathy in siblings allowed us to diagnose a hereditary metabolic disease. The congenital muscular form of glycogen storage disease type IV was manifested by myopathy and peripheral tetraparesis with the development of bone deformities. Difficulty in the diagnosis was due to isolated myopathy progression with no signs of liver involvement. The diagnosis was established with account of clinical manifestations, the progressive course of the disease, electromyography findings, and the results of molecular genetic testing for pathogenic mutations associated with hereditary neuromuscular diseases.

Conclusion. Glycogen storage disease type IV can clinically manifest itself by progressive myopathy without liver involvement and changes in blood biochemistry. The presented clinical cases in siblings are identical. Myopathy does not have clinical features that are significant for the differential diagnosis with other hereditary neuromuscular diseases. Genetic testing identified a mutation in the *GBE1* gene and is considered as the main diagnostic criterion of the disease.

Keywords: glycogen storage disease type IV, myopathy, neuromuscular diseases

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: Fedoseeva I.F., Poponnikova T.V., Pinevich O.S. Myopathy in glycogen storage disease type IV: case report of a family. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):172–177. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-3-172-177>.

ВВЕДЕНИЕ

Достижения последних лет в области генетики расширили представления о разнообразии болезней накопления и перспективах их ранней диагностики, что определяет актуальность исследования и систематизации клинических аспектов данной патологии. Болезни накопления гликогена – это группа наследственных энзимопатий, возникающих в связи с генетически детерминированными дефектами ферментов, участвующих в метаболизме гликогена. Нарушение метаболизма приводит к изменению структуры гликогена и накоплению его в органах и тканях, что является основой формирования клини-

ческих проявлений. Болезни накопления гликогена характеризуются широким спектром клинических фенотипов [1, 2].

В настоящее время известны более 20 типов болезней накопления гликогена, включая подтипы, из них наиболее полно изучены девять типов, различающихся особенностями ферментной недостаточности, клинической манифестации и вариабельностью прогноза – от благоприятного течения до тяжелых прогрессирующих форм с летальным исходом в детском возрасте. По мере изучения различных аспектов данной патологии совершенствуется их классификация [1–3].

Болезни накопления гликогена отнесены к группе орфанных заболеваний, их распространенность

в популяции составляет 1 : 20000–1 : 43000 [1, 3]. Низкий уровень распространенности наследственных болезней накопления в популяции, клинический полиморфизм и большое число фенокopies определяют сложность диагностики [4–7]. Болезнь накопления гликогена IV типа – аутосомно-рецессивное заболевание, проявляющееся дефицитом амило-1,4:1,6-глюкантрансферазы, обусловленное мутацией в кодирующем данный фермент гене *GBE1*, что приводит к накоплению гликогена с амилопектиноподобной структурой в различных органах и тканях, включая печень и мышцы [1, 2].

Генный локус болезни накопления гликогена IV типа соответствует 3p12.2. [1, 2, 6]. Распространенность этого типа болезни накопления гликогена составляет от 1 : 600000 до 1 : 800000 [7]. Известно несколько клинических форм болезни накопления гликогена IV типа: классическая печеночная, прогрессирующая печеночная, фатальная перинатальная нервно-мышечная, врожденная нервно-мышечная, детская нервно-мышечная, взрослая нервно-мышечная с изолированной миопатией. Возможны разнообразные и топически неоднородные синдромы диффузного поражения нервной системы [2, 6, 7]. На современном этапе важно накопление данных о корреляциях генотипа и фенотипа при этом редком заболевании.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ 1

Пациент М. 7 лет находился на обследовании в неврологическом отделении областного стационара с жалобами на периодические боли в спине и нижних конечностях. Родители отмечали у ребенка слабость в мышцах спины и конечностей, нарушение походки и осанки. Болен с рождения, имеет инвалидность. Из анамнеза известно, что ребенок от первой беременности, протекавшей на фоне анемии и угрозы прерывания в I триместре. Роды в 40 нед, самостоятельные. Вес при рождении 3 340 г, длина тела 56 см. Оценка по шкале Апгар 9/9 баллов.

После рождения отмечались диффузная мышечная гипотония, гипорефлексия. В раннем возрасте находился под наблюдением с диагнозом «миелоишемия на поясничном уровне, синдром двигательных нарушений». Отмечалась слабость в конечностях, гипотония, задержка моторного развития. Родители здоровы, матери 34 года, отцу – 43 года. Брат пациента в возрасте 5 лет имеет подобную симптоматику, сестра (возраст 3 года) – здорова. Ребенок неоднократно обследован и получал курсы лечения в условиях многопрофильных стационаров. Общее состояние не страдало, соматической патологии выявлено не было. Состояние ребенка трактовалось как

синдром двигательных нарушений с задержкой моторного развития вследствие перинатальной патологии нервной системы, впоследствии – как возможное наследственное нервно-мышечное заболевание.

С учетом медленно прогрессирующей отрицательной динамики двигательных нарушений и отсутствия значимого эффекта от проведенного лечения (метаболическая терапия в сочетании с лечебной физкультурой, массажем и физиолечением) в дифференциально-диагностическом аспекте рассматривалась миопатия. Уровень креатинфосфокиназы (КФК) в крови на протяжении всего периода наблюдения соответствовал нормальным значениям. По результатам электромиографического исследования (ЭМГ) отмечены неубедительные признаки первичного мышечного поражения. Повторная ЭМГ выявила симптомы передне-рогового поражения, в связи с чем в круг дифференциальной диагностики включена спинальная мышечная атрофия I-го типа. Магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга и поясничного отдела позвоночника и спинного мозга патологии не выявила.

Неврологический статус. Ребенок активен, психоречевое развитие соответствует возрасту. Функции черепных нервов не нарушены. Мышечный тонус в конечностях диффузно снижен, симметричен. Сухожильные рефлексы в руках средней живости, в ногах – низкие, симметричные. Сила в конечностях 3–4 балла, ниже в дистальных отделах. Отмечается гипотрофия мышц конечностей, спины; выраженный поясничный гиперлордоз, сколиоз грудно-поясничного отдела, плоско-вальгусные стопы. Подъем из положений сидя и лежа – со вспомогательными приемами. Походка переваливающаяся. Нарушений чувствительности, статики, координации не выявлено.

Для уточнения типа миопатического синдрома проведены полное секвенирование экзона, поиск патогенных мутаций, ассоциированных с мышечными дистрофиями, а также с другими наследственными заболеваниями со сходными фенотипическими проявлениями. Выявлена ранее описанная гетерозиготная мутация в интроне 5 гена *GBE1* (chr3:81698005A>G, rs192044702), приводящая к нарушению канонического сайта сплайсинга (с.691+2T>C, NM_000158.3).

Мутация описана в компаунд-гетерозиготной форме вместе с другими мутациями у пациентов с болезнью накопления гликогена, тип IV. По совокупности сведений ее следует расценивать как патогенную. В том же гене *GBE1* выявлена ранее не описанная гетерозиготная мутация в экзоне 7 (chr3:81692139C>T, rs369574719), приводящая к замене аминокислоты в 262-й позиции белка

(p.Arg262His, NM_000158.3). Гомозиготные и компаунд-гетерозиготные мутации в гене *GBE1* описаны, в частности, у пациентов с болезнью накопления гликогена, тип IV (OMIM: 232500). Алгоритмы предсказания патогенности расценивают данную мутацию как вероятно патогенную (SIFT: 0.000, Polyphen2_HDIV: 1.000, Polyphen2_HVAR: 1.000, MutationTaster: 1.000, PROVEAN: -4.760, LRT: D). Мутация, приводящая к замене аминокислоты в той же позиции белка (p.Arg262Cys), описана в компаунд-гетерозиготной форме вместе с другой мутацией у пациента с болезнью накопления гликогена, тип IV (OMIM: 232500.0016). По совокупности сведений выявленную мутацию следует расценивать как вероятно патогенную.

При дальнейшем наблюдении отмечены признаки прогрессирования миопатического синдрома и вторичных изменений скелета (рис. 1). Прогрессировали в динамике гипотрофия мышц конечностей, спины, искривление позвоночника влево в ниже-грудном и поясничном отделах, поясничный гиперлордоз, сглаженность грудного кифоза, плоско-вальгусные стопы, ретракция ахилловых сухожилий, укорочение правой нижней конечности на 2 см, вторичная контрактура правого коленного сустава, нарушение функции сустава 1-й степени, вторичная разгибательная контрактура голеностопных суставов, нарушение функции сустава 2-й степени, снижение силы в конечностях, более выраженное в проксимальных отделах – до 3 баллов, симметричная сухожильная гипорефлексия.



Рис. 1. Пациент М.: *a* – гипотрофия мышц конечностей и спины, поясничный гиперлордоз, сглаженность грудного кифоза, плоско-вальгусные стопы; *b* – искривление позвоночника влево в нижегрудном и поясничном отделах, укорочение правой нижней конечности

Походка переваливающаяся, с участием вспомогательной мускулатуры. Не может прыгать, бегать, ходить на пятках. Биохимический анализ крови – без отклонений от нормы. Клинически и по результатам дополнительных исследований патологии со стороны внутренних органов не выявлено. На основании клинических проявлений прогрессирующего течения заболевания, данных ЭМГ и результатов молекулярно-генетической диагностики ребенку установлен клинический диагноз «наследственная болезнь обмена веществ. Болезнь накопления гликогена IV типа, врожденная мышечная форма, синдром миопатии, периферический тетрапарез с формированием костных деформаций».

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ 2

Пациент Г. 5 лет, брат представленного выше пациента М. (рис. 2). Родители отмечают слабость в мышцах спины и конечностей, нарушение походки и осанки. Болен с рождения, имеет инвалидность. Ребенок от второй беременности, протекавшей на фоне анемии, угрозы прерывания в I триместре. Роды вторые, в 37–38 нед, путем кесарева сечения в связи с тазовым предлежанием. Вес при рождении 2 860 г, длина тела 55 см. Оценка по шкале Апгар 7/8 баллов. Отмечалась задержка моторного и психоречевого развития.

Наблюдался неврологом с раннего возраста по поводу перинатальной патологии нервной систе-

мы, миопатического синдрома, задержки темпов моторного развития. Курсы амбулаторного и стационарного лечения проводились 2–3 раза в год, без эффекта. Обследован в условиях областного стационара. Содержание КФК и аминотрансфераз в крови – в норме. МРТ головного мозга, ниж-

не-грудного и поясничного отделов позвоночника – без патологических изменений. ЭМГ выявила синдром миопатии без признаков передне-рогового поражения. При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости обнаружена гепатомегалия.



Рис. 2. Пациент Г: *a* – гипотрофия мышц конечностей и спины, поясничный лордоз, сглаженность грудного кифоза, плоско-вальгусные стопы; *b* – искривление позвоночника вправо в нижнегрудном и поясничном отделах, асимметрия положения таза

Неврологический статус. Психоречевое развитие соответствует возрасту. Функции черепных нервов не нарушены. Отмечены гипотрофия мышц конечностей и плечевого пояса, диффузная мышечная гипотония, «крыловидные» лопатки, снижение силы в руках и ногах до 3–4 баллов. Сухожильная гипорефлексия в конечностях, без асимметрии, патологических рефлексов нет. Походка переваливающаяся, с участием вспомогательной мускулатуры. При вставании использует характерные для миопатии приемы (симптом Говерса). Чувствительность не нарушена. Отмечаются искривление позвоночника вправо в нижнегрудном и поясничном отделах, выраженный поясничный гиперлордоз, сглаженность грудного кифоза, асимметрия положения таза. Плосковальгусная установка и деформация обеих стоп в виде уплощения продольного свода. Установлен клинический диагноз «наследственная болезнь обмена веществ. Болезнь накопления гликогена IV типа, мышечная форма (клинически), синдром миопатии, периферический тетрапарез с формированием костных деформаций».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные клинические случаи болезни накопления гликогена IV типа отражают разнообразие клинических форм данной патологии и демонстрируют сложность дифференциальной диагностики при поражении скелетной мускулатуры без проявлений печеночной патологии. Доминирующий в клинической картине синдром миопатии не имеет специфических особенностей, позволяющих отличить данное заболевание от других наследственных миопатий. Отсутствие характерного для первичного мышечного поражения повышения уровня КФК в крови в течение всего периода наблюдения увеличило диагностическое значение ЭМГ для постановки топического диагноза. Неоднозначность трактовки результатов данного исследования определяет актуальность дифференциальной диагностики мышечной дистрофии со спинальной мышечной атрофией. Схожесть клинической симптоматики у сибсов, прогрессирующее течение заболевания, симметричность и системность поражения мышеч-

ной ткани, формирование вторичных костных деформаций послужили поводом для генетического поиска. Уточнение диагноза стало возможным лишь при применении ДНК-диагностики и выявлении мутаций в гене *GBE1*. Таким образом, генетическое исследование при дифференциальной диагностике нервно-мышечных болезней является эффективным методом, результаты которого могут использоваться как надежный ориентир при медико-генетическом консультировании.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Сурков А.Н., Гундобина О.С., Вишнева Е.А., Маргиева Т.В. и др. Ведение детей с гликогеновой болезнью (нозологические формы с поражением печени). Современные клинические рекомендации. *Педиатрическая фармакология*. 2020;17(4):303–317. DOI: 10.15690/pf.v17i4.2159.
2. Gümüş E, Özen H. Glycogen storage diseases: an update. *World J. Gastroenterol*. 2023;29(25):3932–3963. DOI: 10.3748/wjg.v29.i25.3932.
3. Куцев С.И. Путь пациента с редким диагнозом: нормативные документы и организация лечебно-диагностического процесса при орфанном заболевании в Российской Федерации. *Нервно-мышечные болезни*. 2017;7(4):61–63. DOI: 10.17650/2222-8721-2017-7-4-61-63.
4. Попонникова Т.В., Федосеева И.Ф., Галиева Г.Ю., Мошнегуц С.В. Клинический случай редкого нейродегенеративного заболевания с накоплением железа в мозге, тип 4, у ребенка 15 лет. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2019;64(5):109–113. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-5-109-113.
5. Федосеева И.Ф., Попонникова Т.В., Галиева Г.Ю., Илясова О.В. Клинические наблюдения поздней младенческой и юношеской форм болезни Ниманна – Пика, тип С. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(3):210–217. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-210-217.
6. Moses S.W., Parvari R. The variable presentations of glycogen storage disease type IV: a review of clinical, enzymatic and molecular studies. *Curr. Mol. Med*. 2002;2(2):177–188. DOI: 10.2174/1566524024605815.
7. Ellingwood S.S., Cheng A. Biochemical and clinical aspects of glycogen storage diseases. *J. Endocrinol*. 2018;238(3):131–R141. DOI: 10.1530/JOE-18-0120.

Информация об авторах

Федосеева Ирина Фаисовна – канд. мед. наук, доцент, кафедра неврологии, нейрохирургии, медицинской генетики и медицинской реабилитации, КемГМУ, г. Кемерово, irenfl@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3692-5673>

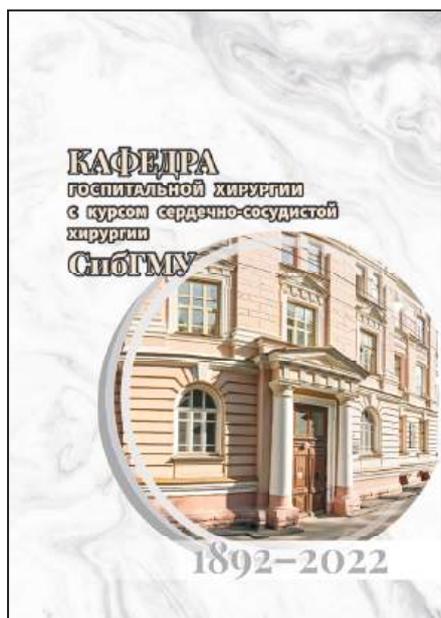
Попонникова Татьяна Владимировна – д-р мед. наук, профессор, кафедра неврологии, нейрохирургии, медицинской генетики и медицинской реабилитации, КемГМУ, г. Кемерово, ptv@kemsma.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2894-3062>

Пиневиц Ольга Сергеевна – канд. мед. наук, зав. отделением для детей с поражениями ЦНС, психики и опорно-двигательного аппарата, Кузбасская областная клиническая больница им. С.В. Беляева, г. Кемерово.

(✉) **Федосеева Ирина Фаисовна**, irenfl@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.04.2024;
одобрена после рецензирования 07.05.2024;
принята к публикации 23.05.2024

Издательский дом Сибирского государственного медицинского университета представляет серию книг «Наследие томской медицины»



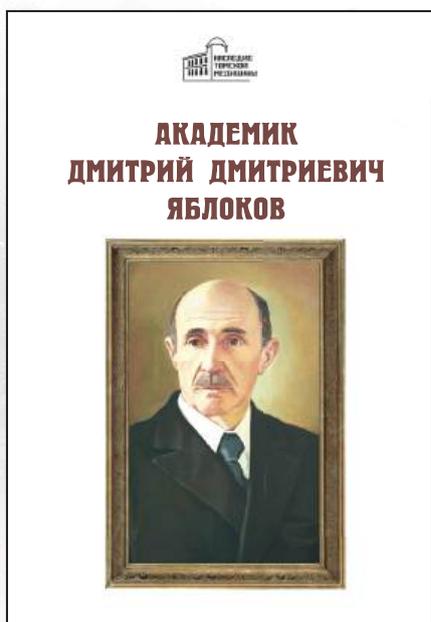
Книга посвящена 130-летию юбилею кафедры госпитальной хирургии СибГМУ. Приведены биографические данные 79 сотрудников клиники и кафедры госпитальной хирургии в период с 1892 по 2022 г. Им предшествует подробная статья, характеризующая основные научно-практические достижения коллектива на каждом историческом 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...



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.

The screenshot shows the website for the Bulletin of Siberian Medicine. At the top, there is a navigation bar with the journal's logo (БМ), ISSN information (ISSN PRINT: 1682-0363, ISSN ONLINE: 1819-3684), and language options (bulletin, ENG, РУС). Below this is a search bar and a main menu with links for 'ГЛАВНАЯ', 'О ЖУРНАЛЕ', 'МОЙ КАБИНЕТ', 'ПОИСК', 'СВЕЖИЙ НОМЕР', 'АРХИВ', 'НОВОСТИ', and 'АРХИВ 2002-2011'. The main content area is divided into two columns. The left column features a cover image of the journal, a description of it as a peer-reviewed journal, and a list of scientific fields it covers, including molecular medicine, regenerative medicine, and pharmacology. It also mentions the journal's history and its registration with the Russian Federation. The right column contains a 'Send article' section with links for 'Правила для авторов', 'Редакционная коллегия', 'Рецензирование', and 'Этика публикация'. Below this is a 'POPULAR ARTICLES' section with a featured article on endotelial nitric oxide synthesis. Further down is a 'CLOUD TAGS' section with tags like 'адаптация артериальная гипертензия' and 'бронхиальная астма воспаление дети'. At the bottom, there is a grid of logos for various databases and services such as Academic Keys, ANRI, CYBERLENINKA, DOA, LIBRARY.RU, Global ES, Google, NEICON, NLM Catalog, Open Archives, Research Bible, РГБ, rnmj.ru, ROAD, Russian Science Citation Index, Scopus, ULRICH'S PERIODICALS DIRECTORY, WorldCat, and znanium.com.

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 общемедицинского профиля «Бюллетень сибирской»

медицины/Bulletin of Siberian Medicine» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты научных исследований, ориентированных на разработку передовых медицинских технологий. С целью объединения научной медицинской общественности, распространения актуальной информации и содействия профессиональному росту специалистов журнал публикует оригинальные научные статьи, представляющие результаты экспериментальных и клинических исследований, лекции, научные обзоры, отражающие результаты исследований в различных областях медицины. Приоритет для публикации предоставляется материалам по перспективным направлениям современной медицинской науки:

- молекулярная медицина,
- регенеративная медицина и биоинженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина,
- трансляционная медицина.

Журнал выполняет широкий спектр функций, которые в целом дают представление об основных направлениях развития российской медицинской науки и ее достижениях, ее конкурентоспособности и степени интеграции в международное научное сообщество.

Научно-практический рецензируемый журнал «Бюллетень сибирской медицины / Bulletin of Siberian Medicine» издается Сибирским государственным медицинским университетом с 2001 г. при поддержке ТРОО «Академия доказательной доказательной медицины».

Главный редактор – член-корреспондент РАН О.И. Уразова. Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № 77-7366 от 26.03.2001 г.
ISSN 1682-0363

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция 01.12.2015).

Индексация:

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- Киберленинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на

Отправить статью

- Правила для авторов
- Редакционная коллегия
- Рецензирование
- Этика публикация

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок различного характера
Том 16, № 1 (2017)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети

OPEN ACCESS | WoS | ANTIMPLAGIAT

Academic Keys | ANRI | CYBERLENINKA

DOA | LIBRARY.RU | EMERGING SOURCES LIST ON INDEX

Global ES | Google | ЭБС

NEICON | NLM Catalog | Open Archives

Research Bible | РГБ | Science Index

rnmj.ru | ROAD | Russian Science Citation Index

Scopus | ULRICH'S PERIODICALS DIRECTORY | WoS

WorldCat | znanium.com