

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (on-line)

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

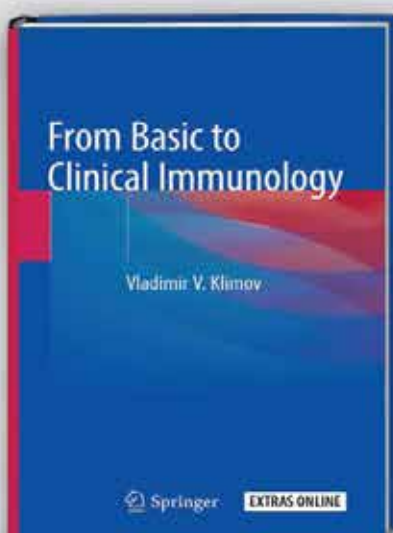
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 19

№ 3. 2020



КНИГА УЧЕНОГО ИЗ СИБГМУ ЗАНЯЛА ВТОРОЕ МЕСТО В МЕЖДУНАРОДНОМ РЕЙТИНГЕ

Издание заведующего кафедрой иммунологии и аллергологии Сибирского государственного медицинского университета, доктора медицинских наук, профессора Владимира Климова заняло второе место в мировом рейтинге иммунологических изданий по версии независимого аналитического агентства научной литературы «BookAuthority»: <https://bookauthority.org/award/From-Basic-to-Clinical-Immunology/3030033228/new-allergy-and-immunology-ebooks>

Книга «From Basic to Clinical Immunology» написана на английском языке, напечатана швейцарским издательством Springer (<https://www.springer.com/gp/book/9783030033224>) и распространяется многотысячным тиражом наряду с мировыми бестселлерами среди российских и зарубежных вузов, а также включена в каталог библиотеки конгресса США.

«Столь высокая оценка издания – это первый опыт для медицинского образования в России, что свидетельствует о высоком уровне и конкурентоспособности здравоохранения в нашей стране», – отметил Владимир Климов. В ближайшее время планируется перевод издания на китайский язык.

Уникальность книги заключается в том, что автору удалось объединить две смежные области знаний – фундаментальную иммунологию и клиническую. Специалисты обеих сфер до сих пор работали обособленно, так как теоретики не имели медицинской квалификации, а у врачей отсутствовал опыт фундаментальных исследований.

«Издание аккумулирует современные знания по базовой иммунологии и иммунопатологии с клиническими комментариями, которые дополняют общую картину», – добавил автор. По такому же сценарию профессор выстраивает образовательный процесс: обучающиеся осваивают ту теоретическую базу, которая в дальнейшем может быть применена ими в клинической практике.

«Лучший совет подрастающему поколению в медицинском университете – изучать английский язык и доводить это знание до совершенства, чтобы можно было читать научную литературу в оригинале», – считает заведующий кафедрой иммунологии и аллергологии СибГМУ Владимир Климов.



Ознакомиться с печатным вариантом издания можно в Научно-медицинской библиотеке СибГМУ. Книга входит в перечень учебных пособий по иммунологии для студентов, обучающихся на английском языке. Напомним, Владимир Климов является автором первого российского мультимедийного учебника «Основы общей иммунологии», который ранее также получил международное признание. Англоязычная версия мультимедийного курса была включена в каталоги более 30 университетов мира, в том числе таких престижных, как Кембридж, Гарвард, Йель и других. С момента публикации курса обучение по нему прошли иностранные студенты и врачи более чем из 130 стран. Учебник широко востребован благодаря краткости и доступности изложения сложных иммунологических процессов.

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 19, № 3, 2020

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (on-line)

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ:

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный
медицинский университет» Минздрава России

Журнал основан в 2001 году
Зарегистрирован в Министерстве РФ
по делам печати, телерадиовещания
и средств массовых коммуникаций
Свидетельство регистрации ПИ
№ 77-7366 от 26.03.2001 г.

Журнал входит в Перечень ведущих
рецензируемых научных журналов и изданий,
выпускаемых в РФ, в которых должны быть
опубликованы основные научные результаты
диссертаций на соискание ученой степени
доктора и кандидата наук

Индексация:

Scopus
Web of Science (WoS (ESCI))
РИНЦ (Science Index)
RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Редакция:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107.
Тел.: (382-2)-51-41-53.
<http://bulletin.tomsk.ru>
E-mail: bulletin@bulletin.tomsk.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 23.09.2020 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Мысль».
Печ. л. 26. Усл. печ. л. 25.
Тираж 500 экз. Заказ 521.

Цена – свободная.

Дата выхода в свет 26.09.2020.

Подписной индекс 10650 в Объединенном каталоге
«Пресса России» и интернет-каталоге
агентства «Книга-Сервис».

При перепечатке ссылка на
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна.

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Новицкий, академик РАН (Томск)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Л.М. Огородова, член-корреспондент РАН (Томск)
О.И. Уразова, 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. Каплевич, 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)
Н.А. Корнетов, профессор, д-р мед. наук (Томск)
С.В. Логвинов, профессор, д-р мед. наук (Томск)
А.Д. Макацария, член-корреспондент РАН (Москва)
Л.С. Намазова-Баранова, академик РАН (Москва)
С.А. Некрылов, профессор, д-р ист. наук (Томск)
В.П. Пузырев, академик РАН (Томск)
В.И. Стародубов, академик РАН (Москва)
Е.А. Степовая, профессор, д-р мед. наук (Томск)
А.Т. Тепляков, профессор, д-р мед. наук (Томск)
В.А. Ткачук, академик РАН (Москва)
В.А. Труфакин, академик РАН (Новосибирск)
О.С. Федорова, профессор, д-р мед. наук (Томск)
И.А. Хлусов, профессор, д-р мед. наук (Томск)
Е.Л. Чойнзонов, академик РАН (Томск)
А.Г. Чучалин, академик РАН (Москва)
А.В. Шабров, академик РАН (Санкт-Петербург)
В.А. Шкурупий, академик РАН (Новосибирск)
М.С. Юсубов, профессор, д-р хим. наук (Томск)
A. Antsaklis, профессор (Греция)
F. Chervenak, профессор (США)
C. Dadak, профессор (Австрия)
Y. Dekhtyar, профессор (Латвия)
M. Erppel, 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 19, No. 3, 2020

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (on-line)

FOUNDER AND PUBLISHER:

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

Registered by the Ministry of the Russian Federation for
Affairs of the Press, Television and Radio Broadcasting and
Mass Communication Media
Certificate of registration PI No. 77-7366
dated to 26.03.2001

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 doctor's and candidate's theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed:

Scopus
Web of Science (WoS (ESCI))
Science Index
RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Editorial Board Office:

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

Publisher: the Siberian State Medical University.
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050,
Russian Federation.

Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid
Translate: M.E. Orlova, D. Palazza
Electronic makeup, cover design
L.D. Krivtsova

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

Signed to print 23.09.2020
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Mysl' font.
P.l. 26. C.p.l. 25.
500 copies. Odder no 521.

The price – free.
Date of publication 26.09.2020.

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

EDITOR-IN-CHIEF

V.V. Novitskiy, *Academician of RAS (Tomsk)*

DEPUTY-EDITORS-IN-CHIEF:

L.M. Ogorodova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*
O.I. Urazova, *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)*
A.N. Kornetov, *Professor (Tomsk)*
S.V. Logvinov, *Professor (Tomsk)*
A.D. Makatsaria, *Corresponding Member of RAS (Moscow)*
L.S. Namazova-Baranova, *Academician of RAS (Moscow)*
S.A. Nekrylov, *Professor (Tomsk)*
V.P. Puzyryov, *Academician of RAS (Tomsk)*
V.I. Starodubov, *Academician of RAS (Moscow)*
Ye.A. Stepovaya, *Professor (Tomsk)*
A.T. Teplyakov, *Professor (Tomsk)*
V.A. Tkachuk, *Academician of RAS (Moscow)*
V.A. Trufakin, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
O.S. Fedorova, *Professor (Tomsk)*
I.A. Khilusov, *Professor (Tomsk)*
Ye.L. Choinzonov, *Academician of RAS (Tomsk)*
A.G. Chuchalin, *Academician of RAS (Moscow)*
A.V. Shabrov, *Academician of RAS (St.-Petersburg)*
V.A. Shkurupiy, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
M.S. Yusubov, *Professor (Tomsk)*
A. Antsaklis, *Professor (Greece)*
F. Chervenak, *Professor (USA)*
C. Dadak, *Professor (Austria)*
Y. Dekhtyar, *Professor (Latvia)*
M. Epple, *Professor (Germany)*
D. Gailani, *Professor (USA)*
P. Odermatt, *(Switzerland)*
J. Odland, *(Norway)*
M. Poyurovsky, *Professor (Israel)*
V. Zhdankin, *Professor (USA)*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	ORIGINAL ARTICLES
<p>Гильмиярова Ф.Н., Кузьмичева В.И., Колотьева Н.А., Комарова М.В., Рыскина Е.А., Гусякова О.А., Виноградова Д.С., Салмин В.В. Конформационные особенности лактатдегидрогеназы: влияние температурного фактора в присутствии малых молекул, математическая модель</p>	<p>Gilmiyarova F.N., Kuzmicheva V.I., Kolotyeva N.A., Komarova M.V., Ryskina E.A., Gussyakova O.A., Vinogradova D.S., Salmin V.V. Conformational features of lactate dehydrogenase: temperature effect in presence of small molecules, mathematical model</p>
<p>Жульков М.О., Гренадёр А.С., Корнеев Д.С., Агаева Х.А., Чернявский А.М., Хлусов И.А. Исследование реакции тромбоцитов на а-С:Н:SiOx покрытие, полученное методом плазмохимического осаждения с использованием импульсного биполярного смещения</p>	<p>Zhulkov M.O., Grenadyorov A.S., Korneev D.S., Agaeva H.A., Chernyavsky A.M., Khlusov I.A. The study of platelet reaction on a-C:H:SiOx coatings obtained via plasma enhanced chemical vapor deposition with bipolar bias voltage</p>
<p>Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В. Аберрации числа копий в геноме опухоли молочной железы люминального подтипа В</p>	<p>Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Slonimskaya E.M., Litviakov N.V. Aberrations of the number of copies (cna) in the genome of luminal B breast tumor</p>
<p>Иванова В.В., Тихонов Д.И., Мильто И.В., Серебрякова О.Н., Геренг Е.А., Плешко Р.И. Влияние гипертрофии больших слюнных желез на ультраструктуру сперматогенного эпителия крыс</p>	<p>Ivanova V.V., Tikhonov D.I., Mil'to I.V., Serebrjakova O.N., Gereng E.A., Pleshko R.I. The effect of major salivary glands hypertrophy on rat's spermatogenic epithelium ultrastructure</p>
<p>Корнетова Е.Г., Гончарова А.А., Дмитриева Е.Г., Аржаник А.А., Корнетов А.Н., Семке А.В. Влияние клинических и терапевтических показателей на выраженность нейрокогнитивного дефицита у пациентов с шизофренией</p>	<p>Kornetova E.G., Goncharova A.A., Dmitrieva E.G., Arzhanik A.A., Kornetov A.N., Semke A.V. Influence of clinical and therapeutic indicators on the severity of neurocognitive deficits in patients with schizophrenia</p>
<p>Лебедев Д.А., Мосикян А.А., Бабенко А.Ю. Оценка факторов, влияющих на приверженность к лечению ингибитором натрий-глюкозного ко-транспортера 2-го типа</p>	<p>Lebedev D.A., Mosikyan A.A., Babenko A.Yu. Evaluation of factors influencing adherence to treatment with sodium-glucose cotransporter type 2 inhibitor</p>
<p>Матюшечкин С.В. Сравнительная оценка некоторых линейных параметров проксимальных фаланг кисти у детей и подростков мужского пола Таджикистана и Западной Индии в возрастном аспекте</p>	<p>Matyushechkin S.V. Age-specific comparison of some morphological parameters of the proximal phalanges of the hand in male children and adolescents from Tajikistan and Western India</p>
<p>Олейник А.А., Иванова Н.Е., Горощенко С.А., Олейник Е.А., Иванов А.Ю. Отдаленные результаты и качество жизни у пациентов с множественными церебральными аневризмами после эндоваскулярного лечения</p>	<p>Oleinik A.A., Ivanova N.E., Goroshchenko S.A., Oleinik E.A., Ivanov A.Yu. Late results and health-related quality of life in patients after endovascular treatment for multiple intracranial aneurysms</p>

Писарев А.А., Петренко В.И., Кубышкин А.В., Харченко В.З., Фомочкина И.И., Кузичкин Д.С.

Изменение показателей свертывающей системы крови и неспецифических плазменных протеиназ при развитии синдрома ишемии-реперфузии

67

Pisarev A.A., Petrenko V.I., Kubyshkin A.V., Kharchenko V.Z., Fomochkina I.I., Kuzichkin D.S.

Changes in the blood coagulation system and non-specific plasma proteinases in ischemia-reperfusion injury

Полетика В.С., Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Васильева О.А., Дмитриева А.И., Янкович К.И., Новицкий В.В., Рябова Л.М., Грищенко М.Ю.

Роль галектина-1, -3 в механизмах дисрегуляции Т-клеточного звена иммунного ответа при раке толстого кишечника

76

Poletika V.S., Kolobovnikova Yu.V., Urazova O.I., Vasileva O.A., Dmitrieva A.I., Yankovich K.I., Novitsky V.V., Ryabova L.M., Grishchenko M.Yu.

The role of galectin-1 and galectin-3 in the mechanisms of T-cell immune response dysregulation in colon cancer

Сорокина М.Г., Фомина М.А., Петров Д.С., Короткова Н.В.
Изменение активности лизосомальных цистеиновых протеаз плазмы, моноядерных и полиморфноядерных лейкоцитов крови при болезни Альцгеймера

83

Sorokina M.G., Fomina M.A., Petrov D.S., Korotkova N.V.

Changes in the activity of lysosomal cysteine proteases of plasma mononuclear and polymorphonuclear blood leukocytes in Alzheimer's disease

Чарышкин А.Л., Гурьянов А.А.

Применение модифицированного метода вакуум-терапии при лечении инфицированных постстернотомных ран

89

Charyshkin A.L., Guryanov A.A.

Modified method of vacuum therapy in the treatment of infected post-sternotomy wounds

Уклонская Д.В., Косова Е.В., Неклюдова М.В., Решетов Д.Н., Уклонская А.А.

Некоторые аспекты комплексной реабилитации пациентов с приобретенными дефектами и деформациями оротфарингеальной зоны

95

Uklonskaya D.V., Kosova E.V., Neklyudova M.V., Reshetov D.N., Uklonskaya A.A.

Some aspects of complex rehabilitation of patients with acquired defects and deformities of the oropharyngeal area

Часовских Н.Ю.

Особенности функциональной аннотации генов предрасположенности к ревматоидному артриту при использовании Cytoscape

101

Chasovskikh N.Yu.

Features of functional annotation of rheumatoid arthritis susceptibility genes by Cytoscape

Чумакова С.П., Уразова О.И., Винс М.В., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Кошель А.П., Новицкий В.В.

Содержание гипоксия-индуцируемых факторов и медиаторов иммуносупрессии в крови при заболеваниях, ассоциированных с гипоксией

105

Chumakova S.P., Urazova O.I., Vins M.V., Shipulin V.M., Pryakhin A.S., Bukreeva E.B., Bulanova A.A., Koshel A.P., Novitsky V.V.

The content of hypoxia-inducible factors and mediators of immunosuppression in the blood in diseases associated with hypoxia

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

Алексеева Л.И., Терпигорев С.А., Зоннова Е.В., Куделя Л.М., Бабадаева Н.М., Тетенева А.В., Кондрашов А.А., Орлов Д.Н., Раскина Т.В., Аношенкова О.Н., Часовских Ю.П., Кропотина Т.В., Опонгошева А.Б., Юдина Н.В., Ганюкова Н.Г.

Пути улучшения диагностики и лечения поражения легких при системной склеродермии на территории Сибирского федерального округа (материалы совместного совета экспертов ревматологов и пульмонологов от 8.12.2019)

113

REVIEWS AND LECTURES

Alekseeva L.I., Terpigorev S.A., Zonova E.V., Kudelya L.M., Babadaeva N.M., Teteneva A.V., Kondrashov A.A., Orlov D.N., Raskina T.V., Anoshenkova O.N., Chasovskikh Yu.P., Kropotina T.V., Opongoshcheva A.B., Yudina N.V., Ganyukova N.G.

Ways to improve the diagnosis and treatment of interstitial lung disease associated with systemic sclerosis in the Siberian Federal District (materials of the advisory board of rheumatologists and pulmonologists from December 08, 2019)

Григорьев Е.Г., Лебедева Д.В., Григорьев С.Е. Хроническая тазовая боль у женщин	120	Grigoryev E.G., Lebedeva D.V., Grigoryev S.E. Chronic pelvic pain in women
Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Останко В.Л., Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Шаловой А.А., Сибирева О.Ф., Соловцов М.А. Корректная формулировка диагноза у пациента с хронической сердечной недостаточностью: реальность или несбыточная мечта?	128	Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Bespalova I.D., Kalyuzhina E.V., Ostanko V.L., Terentyeva N.N., Livshits I.K., Shalovay A.A., Sibireva O.F., Solovtsov M.A. Correct diagnostic conclusion in patients with chronic heart failure: a reality or a pipe dream?
Климов А.В., Калюжин О.В., Климов В.В., Свиридова В.С. Аллергический ринит и феномен энтопии	137	Klimov A.V., Kalyuzhin O.V., Klimov V.V., Sviridova V.S. Allergic rhinitis and the phenomenon of entropy
Куприянов С.В., Синицкий А.И., Долгушин И.И. Разнообразие субпопуляций регуляторных Т-клеток	144	Kupriyanov S.V., Sinitsky A.I., Dolgushin I.I. Multiple subsets of regulatory T-cells
Ларина Н.В., Павленко В.Б., Корсунская Л.Л., Дягилева Ю.О., Фалалеев А.П., Михайлова А.А., Орехова Л.С., Пономарева И.В. Возможности реабилитации детей с синдромом ДЦП с применением роботизированных устройств и биологи- ческой обратной связи	156	Larina N.V., Pavlenko V.B., Korsunskaya L.L., Dyagileva Yu.O., Falaleev A.P., Mikhailova A.A., Orehova L.S., Ponomareva I.V. Rehabilitation possibilities for children with cerebral palsy through the use of robotic devices and biofeedback
Лещенко О.Я. Хронический эндометрит и репродуктивные наруше- ния: версии и контраверсии	166	Leshchenko O.Ya. Chronic endometritis and reproductive disorders: versions and contraversions (review)
Никитин П.В., Беляев А.Ю., Рыжова М.В. Молекулярно-биологические особенности анапласти- ческих астроцитом и выделение молекулярных под- групп их IDH1-мутантных форм с помощью анализа <i>in</i> <i>silico</i>	177	Nikitin P.V., Belyaev A.Yu., Ryzhova M.V. Molecular characteristics of anaplastic astrocytomas and isolation of molecular subgroups of their IDH1 mutant forms using <i>in silico</i> analysis
Учасова Е.Г., Груздева О.В., Белик Е.В., Дылева Ю.А. Адипонектин и инсулин: молекулярные механизмы реализации метаболических нарушений	188	Uchasova E.G., Gruzdeva O.V., Belik E.V., Dyleva Yu.A. Adiponectin and insulin: molecular mechanisms of metabolic disorders
СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ		CASE CLINICAL PRACTICE
Атаманов С.А., Мельник А.В., Квашин А.И., Коробейников И.В., Григорьев Е.Г. Неотложная рентгенэндоваскулярная тромбаспирация при ишемическом кардиоэмболическом инсульте	198	Atamanov S.A., Mel'nik A.V., Kvashin A.I., Korobeinikov I.V., Grigoryev T.G. Emergency roentgen-endovascular clot aspiration in cardioembolic stroke
Ржевская О.Н., Пинчук А.В., Первакова Э.И., Бабкина А.В. Оптимизация иммуносупрессивной терапии при вы- полнении третьей пересадки почки в раннем послеопе- рационном периоде. Клиническое наблюдение	204	Rzhevskaya O.N., Pinchuk A.V., Pervakova E.I., Babkina A.V. Optimization of immunosuppressive therapy during the third kidney transplant in the early postoperative period. Clinical observation

УДК 577.325.3:612.015.35:004.942

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-6-14>

Конформационные особенности лактатдегидрогеназы: влияние температурного фактора в присутствии малых молекул, математическая модель

Гильмиярова Ф.Н.¹, Кузьмичева В.И.¹, Колотьева Н.А.¹, Комарова М.В.², Рыскина Е.А.³, Гусякова О.А.¹, Виноградова Д.С.⁴, Салмин В.В.⁵

¹ Самарский государственный медицинский университет (СамГМУ)
Россия, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

² Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева (Самарский университет)
Россия, 443086, г. Самара, Московское шоссе, 34

³ Российский университет дружбы народов (РУДН)
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

⁴ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ)
Россия, 188300, Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр. Орлова роща, 1

⁵ Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследовать конформационные изменения лактатдегидрогеназы под действием различных концентраций интермедиатов (пируват, оксалоацетат) в температурном градиенте с последующим построением математической модели.

Материалы и методы. Изучение термолабильности лактатдегидрогеназы проводили с использованием метода дифференциальной сканирующей флуориметрии по изменению эндогенной флуоресценции триптофана и тирозина в условиях стабильной концентрации лактатдегидрогеназы и изменяющихся концентраций пирувата и оксалоацетата. Далее была разработана математическая модель для более углубленного рассмотрения поведения каталитического белка.

Результаты. Было выявлено, что пируват и оксалоацетат в низких концентрациях оказывают термостабилизирующее воздействие на конформацию лактатдегидрогеназы, влияние пирувата статистически более значимо в сравнении с оксалоацетатом ($p < 0,05$). Изучаемые лиганды в высоких концентрациях снижают термостабильность лактатдегидрогеназы.

Заключение. Понимание роли малых молекул в регуляции биологических и каталитических процессов долгое время оставалось в тени научного интереса, но сегодня работа в данном направлении выходит на качественно новый уровень. Полученные данные свидетельствуют о возможности малых молекул выступать в качестве лигандов при взаимодействии с каталитическими белками.

Ключевые слова: лактатдегидрогеназа, конформация, дифференциальная сканирующая флуориметрия, оксалоацетат, пируват.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Гильмиярова Ф.Н., Кузьмичева В.И., Колотьева Н.А., Комарова М.В., Рыскина Е.А., Гусякова О.А., Виноградова Д.С., Салмин В.В. Конформационные особенности лактатдегидрогеназы: влияние температурного фактора в присутствии малых молекул, математическая модель. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-6-14>.

Conformational features of lactate dehydrogenase: temperature effect in presence of small molecules, mathematical model

Gilmiyarova F.N.¹, Kuzmicheva V.I.¹, Kolotyeva N.A.¹, Komarova M.V.², Ryskina E.A.³, Gusyakova O.A.¹, Vinogradova D.S.⁴, Salmin V.V.⁵

¹ Samara State Medical University
89, Chapayevskaya Str., Samara, 443099, Russian Federation

² Samara National Research University
34, Moscow Highway, Samara, 443086, Russian Federation

³ Peoples Friendship University of Russia
6, Miklukho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

⁴ Petersburg Nuclear Physics Institute named after B.P. Konstantinov of National Research Centre "Kurchatov Institute"
1, Mkr. Orlova Roscha, Gatchina, Leningradskaya Oblast, 188300, Russian Federation

⁵ Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky
1, Partizana Zeleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this work was to study the conformational changes of lactate dehydrogenase under the influence of different concentrations of intermediates (pyruvate, oxaloacetate) in the temperature gradient with the subsequent building of a mathematical model.

Materials and methods. Thermolability of lactate dehydrogenase was studied using the method of differential scanning fluorimetry to determine the change in endogenous fluorescence of tryptophan and tyrosine under the conditions of stable concentration of lactate dehydrogenase and changing concentrations of pyruvate and oxaloacetate. Further, a mathematical model was developed for a more in-depth consideration of the behavior of the catalytic protein.

Results. We found that pyruvate and oxaloacetate in low concentrations have a thermostabilizing effect on lactate dehydrogenase conformation; the effect of pyruvate is statistically more significant in comparison with oxaloacetate ($p < 0.05$). The studied ligands in high concentrations reduce the thermal stability of lactate dehydrogenase.

Conclusion. Understanding the role of small molecules in the regulation of biological and catalytic processes has long remained in the background of scientific interest, but today the work in this direction is reaching a new level. The data obtained indicate the possibility of small molecules acting as ligands when interacting with enzymes.

Key words: lactate dehydrogenase, conformation, differential scanning fluorimetry, oxaloacetate, pyruvate.

Conflict of interest. Authors declare no obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Gilmiyarova F.N., Kuzmicheva V.I., Kolotyeva N.A., Komarova M.V., Ryskina E.A., Gusyakova O.A., Vinogradova D.S., Salmin V.V. Conformational features of lactate dehydrogenase: temperature effect in presence of small molecules, mathematical model. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-6-14>.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы все большее внимание уделяется малым молекулам, уникальным химическим «отпечаткам пальцев», которые способны изменять экспрессию генов, потоки в путях промежуточного метаболизма, что может приводить к изменению специфических процессов, протекающих во внутри- и межклеточных пространствах [1]. Сигнальные белки, такие как каталитические, представляют собой в этой связи интересную область для изучения взаимодействия белок-лиганд, поскольку они проявляют высокую чувствительность к воздействию на них внешними стимулами, такими как эндогенные метаболиты или малые молекулы [2].

Молекулами с небольшой молекулярной массой, находящимися на точке пересечения метаболических путей обмена белков, жиров, углеводов и служащих «метаболической валютой» живой клетки, являются такие ключевые биоэнергетические интермедиаты, как пировиноградная и щавелевоуксусная кислоты.

Щавелевоуксусная кислота (оксалоацетат) – четырехуглеродная двухосновная кетокислота, которой свойственно явление таутомерии, представляет собой ценную и достаточно редкую молекулу, ее концентрация в митохондриях не превышает 10^{-6} М, участвует во многих метаболических путях, включая глюконеогенез, цикл лимонной кислоты, цикл гликоксилата, цикл мочевины и метаболизм аминокислот. Оксалоацетат является критическим компонентом в производстве аденозинтрифосфорной кислоты и должен постоянно регенерироваться, чтобы поддерживать необходимый уровень окислительных процессов в цикле трикарбоновых кислот и цепи переноса электронов [3].

Пировиноградная кислота (пируват) представляет собой один из промежуточных компонентов метаболизма, который является предшественником важнейших интермедиатов анаболических и катаболических путей. Среди них можно назвать глюконеогенез, липогенез *de novo*, синтез холестерина, а также поддержание функционирования цикла трикарбоновых кислот. Пируват образуется в результате реакций анаэробного гликолиза под действием фермента пируваткиназы, а также может быть синтезирован из различных прекурсоров: лактата под действием лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малата под действием цитозольной малатдегидрогеназы, возможен синтез пирувата из аланина в митохондриях [4]. Серин, треонин, глицин, цистеин и триптофан могут превращаться в пируват [5].

Нами был выбран фермент лактатдегидрогеназа (ЕС 1.1.1.27), который представляет собой тетрамерный белок с каталитической активностью, от-

носящийся к классу оксидоредуктаз, катализирует обратимое превращение пирувата в лактат, сопровождающееся окислением НАДН. Известны четыре гена, кодирующие данный фермент: *LDHA*, *LDHB*, *LDHC* и *LDHD* [6]. Транскрипция генов данного фермента регулируется более чем 20 различными факторами, в том числе активное участие в этом процессе принимает белок HIF1.

Благодаря исследованиям последних лет стало известно, что ЛДГ наряду с ферментативной активностью также способна регулировать клеточный цикл – угнетение активности ЛДГ ускоряет переход клетки в стадию G2, в то время как усиление ее активности задерживает клетку в S-периоде [7]. Молекулы фермента находятся в цитоплазме, в ядре, где играют роль транскрипционного фактора и влияют на синтез ДНК [8]. Есть указания в литературе на то, что ЛДГ оказывает прямое влияние на работу калиевых ионных каналов клеток миокарда и печени в условиях гипоксии [9].

Целью нашей работы является исследование конформационных изменений лактатдегидрогеназы под действием различных концентраций интермедиатов (пируват, оксалоацетат) в температурном градиенте с последующим построением математической модели.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на базе отделения молекулярной и радиационной биофизики НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ. В работе использовали следующие реактивы: лактатдегидрогеназа (ЕС 1.1.1.27, ЛДГ, L-Lactic Dehydrogenase, L-LDH) из мышцы кролика, тип XI, лиофилизат, 848 Ед/мг белка; пируват, оксалоацетат, буфер Трис-НСl 50мМ, рН 7,5 (Sigma-Aldrich, США). Фермент и малые молекулы разводились в трис-НСl буфере.

Дифференциальная сканирующая флуориметрия (Differential Scanning Fluorimetry, DSF) проводилась на приборе Prometheus NT.48 (NanoTemper Technologies, Германия). Данный прибор позволяет быстро и точно оценивать фолдинг белка, а также его химическую и термическую стабильность. Принцип метода основан на изменении эндогенной флуоресценции триптофана и тирозина при длинах волны 330 и 350 нм соответственно. Результат регистрируется в градусах Цельсия, что соответствует температуре «разворачивания» белка (*T_m*) [10]. Отметим, что данный параметр находится в зависимости от сил нековалентного межмолекулярного взаимодействия: электростатических, гидрофобных, сил Ван-дер-Ваальса, а также от наличия и числа водородных связей.

Готовили шесть разведений, в которых конечная концентрация фермента оставалась неизменной – 1 мкМ, а конечная концентрация пирувата и оксалоацетата изменялась и составляла 16; 8; 4; 2; 1 и 0,5 мкМ соответственно. Полученный раствор (10 мкл) помещали в капилляры Prometheus NT.48 (nanoDSF grade). Сканирующая флуориметрия проводилась при интенсивности лазера 30%, диапазон нагрева от 20 до 95 °C, шаг 1 °C /мин.

Для исследования зависимости относительной флуоресценции от температуры нагревания белка и концентрации лиганда в образце применяли два подхода: анализ с использованием предустановленного программного обеспечения (Prometheus NT.48 Software), которое позволяло определить температуру плавления белка и максимальную скорость плавления (первую производную), также восстанавливали аналитическую зависимость кривых плавления с помощью нелинейной регрессии в среде статистического пакета SPSS 21 (IBM SPSS Statistics, США). Использовали четырехпараметрическую S-образную кривую следующего вида:

$$f(t) = d + \frac{c - d}{1 + e^{-a(t-b)}},$$

где $f(t)$ – зависимая переменная, соотношение флуоресценции на длинах волн 330 и 350 нм; t – независимая переменная, температура, °C; a , b , c , d – параметры уравнения, или регрессионные коэффициенты. Они имеют следующую содержательную интерпретацию.

Используемая форма аналитической зависимости относится к сигмоидальным кривым, рекомендуемым для аппроксимации явлений роста с насыщением [11], в том числе и для различных медико-биологических приложений [12–14]. Выбор данной математической модели для настоящего исследования обусловлен удобной содержательной интерпретацией ее параметров: a – отражает скорость плавления;

b – соответствует теоретической точке перегиба и температуре, при которой скорость плавления максимальна; c – асимптотически минимальное соотношение поглощений на изучаемых длинах волн; d – асимптотически максимальное соотношение поглощений на изучаемых длинах волн.

Оценку адекватности построенных моделей проводили графоаналитическим способом по анализу наблюдаемых и оцененных по регрессионному уравнению значений. Выполняли анализ регрессионных остатков и выясняли соответствие их распределения нормальному закону. Качество аппроксимации оценивали по статистической значимости моделей в целом, коэффициентам детерминации и стандартным ошибкам регрессий. После построения регрессионных моделей (по одной математической модели для каждого интермедиата в различных концентрациях) проводили содержательный анализ их параметров. По оцененным статистическим пакетом 95%-м доверительным интервалом регрессионных коэффициентов судили о статистической значимости различий между кривыми плавления ЛДГ с разными концентрациями лигандов и разными лигандами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фермент, находясь в растворе, одновременно присутствует в нем как в свернутом, так и в частично развернутом состоянии («расплавленная глобула»). При высокой температуре белки, в том числе ферменты, обладающие упорядоченной структурой, разворачиваются [15, 16], что приводит к изменению окружения ароматических остатков. Эти изменения могут быть выявлены методом дифференциальной сканирующей флуориметрии, позволяющей определить температуру плавления белка и некоторые другие параметры данного процесса.

Термостабильность лактатдегидрогеназы при добавлении оксалоацетата и пирувата имела следующие особенности (рис. 1, 2).

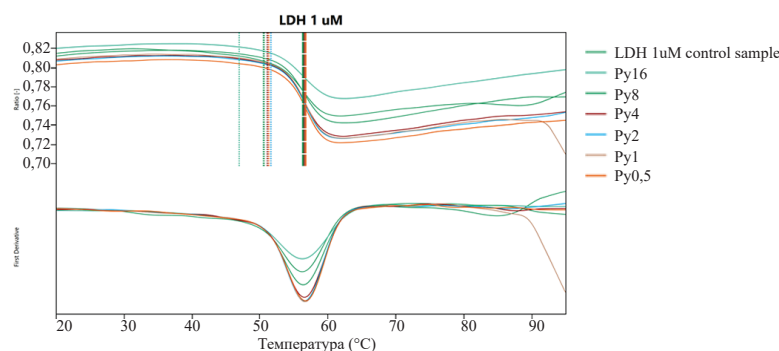


Рис. 1. Кривые плавления и первой производной лактатдегидрогеназы (1 мкМ) в комплексе с оксалоацетатом в различной концентрации (верхний график): здесь и на рис. 2 концентрация оксалоацетата в смеси составляла 16; 8; 4; 2; 1 и 0,5 мкМ соответственно. Значение флуоресценции (верхняя панель) при 350/330 нм (ось Y) представлено в зависимости от температуры (ось X). Цветные линии в точках перехода соответствуют максимумам пика T_m первой производной (нижняя панель)

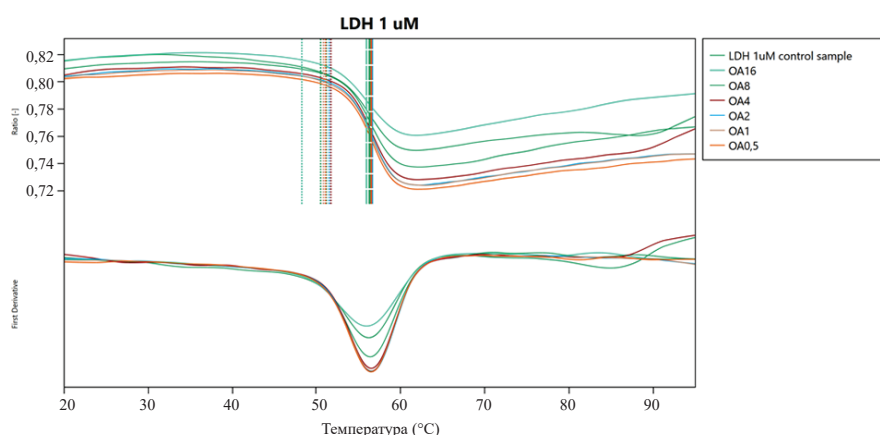


Рис. 2. Кривые плавления и первой производной лактатдегидрогеназы (1 мкМ) в комплексе с пируватом в различной концентрации (верхний график)

Высокое содержание оксалоацетата и пирувата (16 мкМ) способствует разворачиванию молекулы белка, что выражается в снижении его термостабильности: снижение температуры начала плавления (оксалоацетат – 48,3 °С, пируват – 47 °С в сравнении с 50,5 °С для контрольной пробы), более быстрое наступление точки температурного перегиба (оксалоацетат – 56,0 °С, пируват – 56,2 °С в сравнении с 56,3 °С в контрольной пробе). Напротив, добавление оксалоацетата и пирувата в минимальной концентрации (0,5 мкМ) изменяет конформацию белка в сторону более свернутой, что приводит к повышению термодинамической стабильности лактатдегидрогеназы: температура, при которой начиналось плавление белка, увеличилась в сравнении с контролем и составила 51,1 °С для оксалоацетата и 51,3 °С для пирувата, произошел сдвиг наступления температурного перегиба: 56,6 °С для оксалоацетата, 56,7 °С – для пирувата. Также значительно менялась общая амплитуда сигнала флуоресценции в течение процесса разворачивания, что свидетельствует о различном конформационном состоянии комплексов. Для более детальной характеристики поведения каталитического белка в температурном градиенте при добавлении малых молекул нами была разработана математическая модель.

Перед построением математической модели, аппроксимирующей экспериментально полученные точки соотношений флуоресценции при нагревании белка, был проведен визуальный анализ исходных скаттерграмм (рис. 3). В отличие от сглаженных программным обеспечением Prometheus NT.48 кривых, приведенных ранее для оксалоацетата и пирувата на рис. 1 и 2, обращает внимание, что разбросы соотношений флуоресценции по оси ординат были более высокими перед началом плавления и сразу после достижения температурного перегиба и

уменьшались непосредственно при достижении температуры плавления белка.

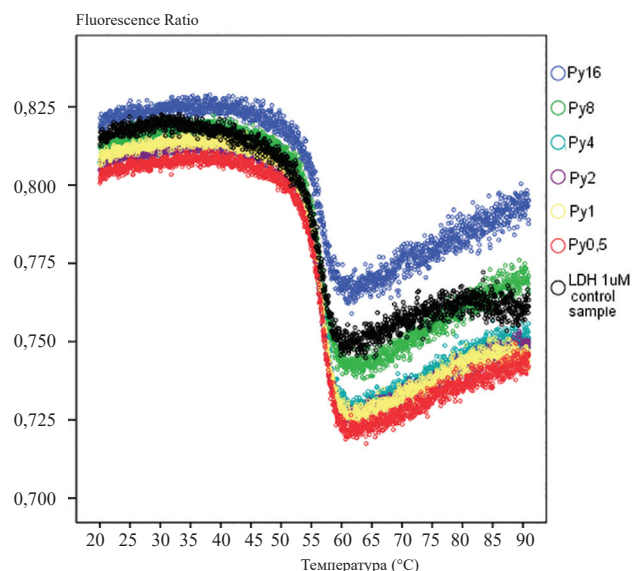


Рис. 3. Кривые плавления лактатдегидрогеназы (1 мкМ) в комплексе с пируватом в различной концентрации: несглаженные данные соотношений флуоресценции

Для построения моделей был выбран температурный диапазон 48–63 °С. Коэффициенты детерминации полученных моделей были в диапазоне 98,5–99,7%, а стандартные ошибки регрессии, соответственно, 0,0026–0,0018. Все построенные модели статистически значимы при $p < 0,001$ (табл. 1). Регрессионные коэффициенты для различных концентраций лигандов приведены в табл. 2.

Для удобства сопоставления полученных параметров моделей между различными концентрациями лигандов нами были построены графики зависимостей. Параметр b , численно равный точке температурного перегиба, рассмотрен на рис. 4.

Таблица 1

Оценка качества регрессионных моделей, аппроксимирующих кривые плавления лактатдегидрогеназы в присутствии пирувата и оксалоацетата в различных концентрациях				
Концентрация, мкМ	Пируват		Оксалоацетат	
	Коэффициент детерминации, R^2	Стандартная ошибка регрессии	Коэффициент детерминации, R^2	Стандартная ошибка регрессии
16	0,985	0,0026	0,988	0,0025
8	0,995	0,0019	0,995	0,0021
4	0,996	0,0020	0,996	0,0021
2	0,997	0,0018	0,997	0,0018
1	0,997	0,0019	0,996	0,0020
0,5	0,996	0,0020	0,996	0,0019
0	0,992	0,0022	0,992	0,0022

Таблица 2

Параметры регрессионных моделей, аппроксимирующих кривые плавления лактатдегидрогеназы в присутствии пирувата и оксалоацетата в различных концентрациях								
Концентрация, мкМ	Пируват				Оксалоацетат			
	a	b	c	d	a	b	c	d
16	0,724 (0,685–0,762)	56,2 (56,1–56,3)*	0,765 (0,765–0,766)*	0,819 (0,818–0,820)*	0,732 (0,697–0,767)	55,9 (55,8–56,0)	0,759 (0,758–0,759)	0,814 (0,814–0,815)
8	0,760 (0,737–0,783)	56,2 (56,2–56,3)	0,741 (0,740–0,741)*	0,811 (0,811–0,812)*	0,780 (0,756–0,804)	56,3 (56,2–56,3)	0,736 (0,735–0,736)	0,807 (0,807–0,808)
4	0,776 (0,755–0,797)	56,4 (56,4–56,4)	0,727 (0,726–0,727)	0,806 (0,805–0,806)*	0,788 (0,768–0,809)	56,4 (56,3–56,4)	0,726 (0,726–0,727)	0,804 (0,803–0,804)
2	0,787 (0,768–0,806)	56,4 (56,4–56,4)	0,724 (0,724–0,725)*	0,805 (0,805–0,806)*	0,778 (0,759–0,797)	56,4 (56,4–56,4)	0,722 (0,722–0,723)	0,802 (0,802–0,803)
1	0,776 (0,757–0,796)	56,5 (56,4–56,5)*	0,724 (0,724–0,725)*	0,807 (0,806–0,807)*	0,767 (0,746–0,788)	56,3 (56,3–56,4)	0,722 (0,722–0,723)	0,802 (0,801–0,802)
0,5	0,761 (0,741–0,782)	56,5 (56,4–56,5)*	0,719 (0,719–0,720)	0,801 (0,801–0,801)	0,755 (0,735–0,775)	56,3 (56,3–56,4)	0,719 (0,719–0,720)	0,800 (0,799–0,800)
0	0,728 (0,698–0,757)	56,1 (56,0–56,1)	0,748 (0,747–0,748)	0,809 (0,808–0,809)	0,728 (0,698–0,757)	56,1 (56,0–56,1)	0,748 (0,747–0,748)	0,809 (0,808–0,809)

Примечание. Приведены регрессионные коэффициенты и их 95%-е доверительные интервалы.

* статистически значимые различия между пируватом и оксалоацетатом.

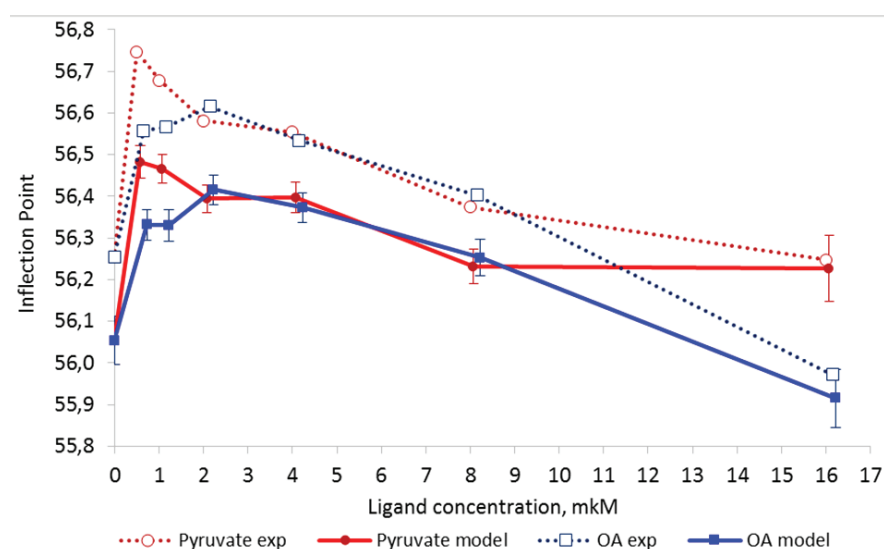


Рис. 4. Положение точек перегиба в кривых плавления лактатдегидрогеназы в комплексе с пируватом и оксалоацетатом в различных концентрациях

Приведены данные, полученные для математической модели, а также данные Prometheus NT.48 Software. Характер и величина сдвига точки температурного перегиба, оцененные различными методами, совпадают. Концентрация лигандов 0,5–8 мкМ вызывает повышение температуры плавления ЛДГ, а концентрация 16 мкМ приводит к снижению термостабильности белка. Максимальное изменение температуры плавления при добавлении пирувата отмечено при его концентрации 0,5 мкМ, а в случае добавления оксалоацетата – при 2 мкМ. Оценки сдвига, полученные нами при моделировании нелинейной регрессией и программным обеспечением Prometheus NT.48, различаются незначительно: расхождение с данными, полученными программным обеспечением прибора, составили 0,2 °С.

При сравнении влияния двух лигандов на сдвиг точки плавления установлено, что влияние оксалоацетата и пирувата различается статистически значимо в области низких концентраций (0,5 и 1 мкМ) и высоких (16 мкМ). Пируват в малых концентраци-

ях вызывает статистически значимо ($p < 0,05$) большее повышение температуры плавления, чем оксалоацетат, а при высоких концентрациях – большее снижение температуры перегиба. В концентрациях 2–8 мкМ воздействие лигандов на сдвиг температуры плавления согласно построенной регрессионной модели было неразличимым.

Для анализа максимальной скорости плавления ЛДГ в присутствии лигандов (рис. 5) из сводки результатов приборного программного обеспечения были извлечены значения первых производных в точках перегиба. Первые производные при температуре реакционной смеси $t = b$ были вычислены из параметров построенных математических моделей по формуле $f'(t) = -0,25a(d-c)$. Погрешности полученных результатов оценены по правилам расчета погрешностей арифметических операций. Отрицательные значения производных отражают уменьшение соотношения флуоресценции при разворачивании белка. Чем больше абсолютное значение первой производной, тем выше скорость плавления белка.

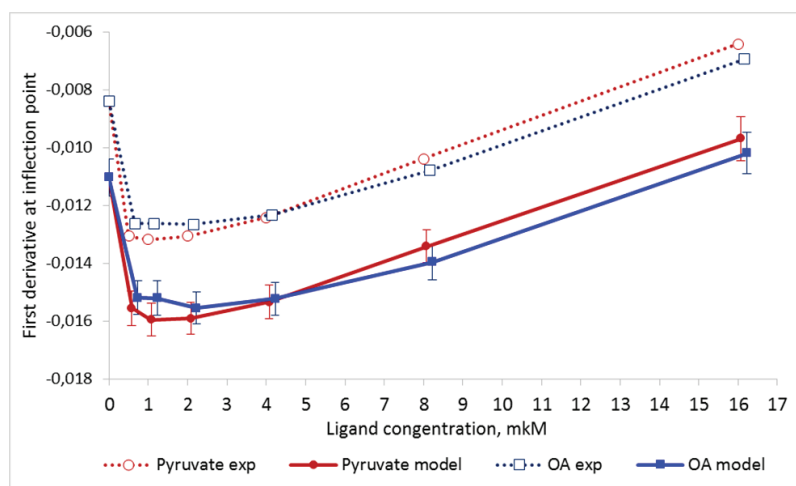


Рис. 5. Максимальные скорости плавления лактатдегидрогеназы в комплексе с пируватом и оксалоацетатом в различных концентрациях

Оба изучаемых лиганда вызвали существенное увеличение скорости плавления ЛДГ в концентрациях 0,5–4 мкМ ($p < 0,05$ по сравнению с отсутствием лигандов) с последующим его снижением в концентрации 8–16 мкМ. Характер воздействия различных концентраций пирувата и оксалоацетата на максимальную скорость плавления был одинаковым: статистически значимых различий между параметрами a , или между первыми производными в точке перегиба, для пирувата и оксалоацетата не найдено ($p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении максимальных скоростей плавления, полученных разными способами, по дан-

ным приборного программного обеспечения и математического моделирования, выявлено систематическое расхождение в среднем на 0,003. Вероятно, оно связано с тем, что предложенная форма аналитической зависимости хорошо соответствует эмпирическим данным только на участке с максимальной скоростью плавления, но не перед ним и не после него. Именно из-за этого при построении регрессионной модели был выбран достаточно узкий диапазон температур, при котором происходит плавление.

На рис. 6 представлены наблюдаемые в эксперименте отношения флуоресценций и теоретически рассчитанные по построенным моделям точки для концентраций пирувата 0,5 и 16 мкМ.

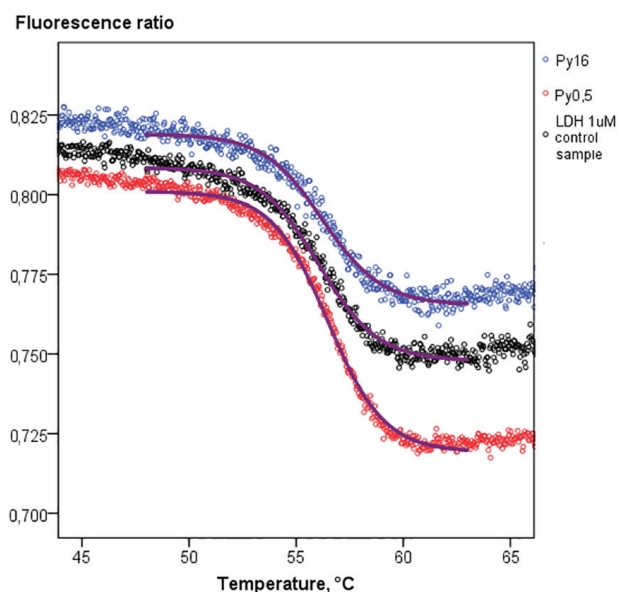


Рис. 6. Эмпирические и теоретические кривые плавления лактатдегидрогеназы без пирувата, в комплексе с пируватом в концентрации 16 и 0,5 мкМ соответственно

На рис. 6 показано, что начало теоретических кривых имеет больше расхождения с экспериментальными наблюдаемыми точками, чем на участке плавления ЛДГ. Поэтому недостаточно точные оценки параметра d разработанных регрессий приводят к незначительному смещению в оценке максимальной скорости плавления. Однако с точки зрения цели настоящего исследования по изучению факторов, влияющих на характеристики кривой плавления, данные поправки не оказывают статистически значимого влияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении конформационного состояния лактатдегидрогеназы методом дифференциальной сканирующей флуориметрии с последующим построением математической модели было выявлено, что пируват и оксалоацетат в малых концентрациях (0,5–2 мкМ) оказывают термостабилизирующее воздействие на структуру ЛДГ, а при высоких количествах (16 мкМ), напротив, снижают термостабильность ЛДГ. При этом, несмотря на сопоставленные эффекты изучаемых метаболитов, влияние пирувата оказалось более выраженным в сравнении с оксалоацетатом ($p < 0,05$).

Способность естественных интермедиатов вступать в параметаболические взаимодействия, в частности связываться и влиять на конформацию каталитических белков, определяет широкий спектр их биологического действия, механизмы которого еще предстоит изучить детальнее. Несомненный инте-

рес представляет дальнейшее изучение пирувата и оксалоацетата в качестве молекул протекторов и стабилизаторов, расширение исследуемых концентраций и белковых партнеров, что является особенно перспективным ввиду развития концепций биоэнергетической и «митохондриальной» медицины. Таковы неизвестные страницы известного фермента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Castoreno A.B., Ulrike U.S. Small molecule probes of cellular pathways and networks. *ACS Chem. Bio.* 2010; 6: 86–94. DOI: 10.1021/cb1002976.
2. Hörner M., Weber W. Molecular switches in animal cells. *FEBS Lett.* 2012; 586 (15): 2084–2096. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.02.032.
3. Nelson D.L., Cox M.M. *Lehninger principles of biochemistry*. 6th ed. New York: W.H. Freeman, 2013: 1158.
4. Mendes-Mourao J., Halestrap A.P., Crisp D.M., Pogson C.I. The involvement of mitochondrial pyruvate transport in the pathways of gluconeogenesis from serine and alanine in isolated rat and mouse liver cells. *FEBS Lett.* 1975; 53 (1): 29–32. DOI: 10.1016/0014-5793(75)80674-0.
5. McCommis K.S., Finck B.N. Mitochondrial pyruvate transport: a historical perspective and future research directions. *Biochem. J.* 2015; 466 (3): 443–454. DOI: 10.1042/BJ20141171.
6. Valvona C., Fillmore H.L., Nunn P.B., Pilkington G. J. The regulation and function of lactate dehydrogenase A: therapeutic potential in brain tumor. *Brain Pathology.* 2016; 26 (1): 3–17. DOI: 10.1111/bpa.12299.
7. Zhai X., Yang Y., Wan J., Zhu R., Wu Y. Inhibition of LDH-A by oxamate induces G2/M arrest, apoptosis and increases radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma cells. *Oncol. Rep.* 2013; 30: 2983–2991. DOI: 10.3892/or.2013.2735.
8. Pioli P.A., Hamilton B.J., Connolly J.E., Brewer G., Rigby W.F. Lactate dehydrogenase is an AU-rich element-binding protein that directly interacts with AUF1. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (38): 35738–35745. DOI: 10.1074/jbc.M204002200.
9. Huang L., Li B., Li W., Guo H., Zou F. ATP-sensitive potassium channels control glioma cells proliferation by regulating ERK activity. *Carcinogenesis.* 2009; 30 (5): 737–744. DOI: 10.1093/carcin/bgp034.
10. Martin L., Schwarz S., Breitsprecher D. Analyzing thermal unfolding of proteins: the prometheus NT.48. Application note NT-PR-001. NanoTemper technologies GmbH, 2014. URL: <https://resources.nanotempertech.com/application-notes/nanotemper-application-note-nt-pr-001-thermal-unfolding>.
11. Crawley M.J. *The R book*. John Wiley & Sons, Inc., 2007: 940.
12. Findlay J.W., Dillard R.F. Appropriate calibration curve fitting in ligand binding assays. *AAPS J.* 2007; 9: 260–267. DOI: 10.1208/aapsj0902029.
13. Rizzo J.M., Shi S., Li Y., Semple A., Esposito J.J., Yu S. Application of a high-throughput relative chemical stability assay to screen therapeutic protein formulations by assessment of conformational stability and correlation to aggregation

- propensity. *Pharm. Sci.* 2015; 104 (5): 1632–1640. DOI: 10.1002/jps.24408.
14. Goshu A.T., Koya P.R. Derivation of inflection points of non-linear regression curves – implications to statistics. *AJTAS*. 2013; 2 (6): 268–272. DOI: 10.11648/j.ajtas.20130206.25.
15. Magnusson A.O., Szekrenyi A., Joosten H.J., Finnigan J., Charnock S., Fessner W.D. nanoDSF as screening tool for enzyme libraries and biotechnology development. *FEBS J.* 2019; 286 (1): 184–204. DOI: 10.1111/febs.14696.
16. Chaudhuri R., Cheng Y., Middaugh C.R., Volkin D.B. High-throughput biophysical analysis of protein therapeutics to examine interrelationships between aggregate formation and conformational stability. *AAPS J.* 2014; 16 (1): 48–64. DOI: 10.1208/s12248-013-9539-6.

Вклад авторов

Гильмиярова Ф.Н. – фундаментальное и теоретическое обоснование проведения экспериментов, создание дизайна исследования. Кузьмичева В.И., Колотьева Н.А. – проведение экспериментов, написание текста статьи. Комарова М.В. – подбор и обоснование математической модели для аппроксимации данных. Рыскина Е.А. – анализ метаболитов, выбор низкомолекулярного лиганда. Гусякова О.А. – подбор и обоснование выбора рабочих концентраций исследуемых соединений. Виноградова Д.С. – техническое сопровождение проведения экспериментов. Салмин В.В. – консультирование при трактовке результатов экспериментов с позиции физико-химических изменений.

Сведения об авторах

Гильмиярова Фрида Насыровна, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, СамГМУ, г. Самара. ORCID 0000-0001-5992-3609.

Кузьмичева Валерия Игоревна, ординатор, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, СамГМУ, г. Самара. ORCID 0000-0002-5232-1549.

Колотьева Наталия Александровна, канд. мед. наук, доцент, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, СамГМУ, г. Самара. ORCID 0000-0002-7583-6222.

Комарова Марина Валерьевна, канд. биол. наук, доцент, кафедра лазерных и биотехнологических систем, Самарский университет, г. Самара. ORCID 0000-0001-6545-0035.

Рыскина Елена Анатольевна, д-р биол. наук, доцент, кафедра биохимии им. акад. Т.Т. Березова, РУДН, г. Москва. ORCID 0000-0002-8752-3837.

Гусякова Оксана Анатольевна, д-р мед. наук, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, зав. клинико-диагностической лабораторией клиник, СамГМУ, г. Самара. ORCID 0000-0002-5619-4583.

Виноградова Дарья Сергеевна, отделение молекулярной и радиационной биофизики, НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, г. Гатчина.

Салмин Владимир Валерьевич, д-р физ.-мат. наук, профессор, зав. кафедрой медицинской и биологической физики, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0003-4441-9025.

(✉) Гильмиярова Фрида Насыровна, e-mail: bio-sam@yandex.ru.

Поступила в редакцию 29.07.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Исследование реакции тромбоцитов на а-C:H:SiO_x покрытие, полученное методом плазмохимического осаждения с использованием импульсного биполярного смещения

Жульков М.О.^{1,2}, Гренадёрв А.С.², Корнеев Д.С.³, Агаева Х.А.¹, Чернявский А.М.^{1,2}, Хлусов И.А.^{4,5}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. акад. Е.Н. Мешалкина Россия, 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

² Институт сильноточной электроники Сибирского отделения Российской академии наук (ИСЭ СО РАН) Россия, 634055, г. Томск, пр. Академический, 2/3

³ Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука Сибирского отделения Российской академии наук (ИНГГ СО РАН) Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 3

⁴ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ) Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

⁵ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ) Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить в эксперименте *in vitro* адгезию тромбоцитов к а-C:H:SiO_x пленке на титане для оценки ее атромбогенного потенциала.

Материалы и методы. Тонкие (менее 1 мкм) а-C:H:SiO_x пленки наносили на титановые пластины марки ВТ-6 размером 10 × 10 мм² и толщиной 0,2 мм с помощью вакуумной ионно-плазменной установки с использованием импульсного биполярного смещения. Шероховатость поверхности оценивали согласно ГОСТ 2789-73 с помощью атомно-силового микроскопа. Исследуемые образцы культивировали при 37 °С в течение 30 мин в плазме крови человека, обогащенной тромбоцитами, подготавливали для сканирующей электронной микроскопии, после чего подсчитывали плотность распределения кровяных пластинок, адгезирующих к исследуемому покрытию.

Результаты. При одинаковом индексе шероховатости исследуемых образцов а-C:H:SiO_x пленка в 116 раз снижала (в сравнении с необработанным титаном) количество тромбоцитов на 1 мм² поверхности.

Заключение. Формирование на поверхности титанового сплава ВТ-6 тонкой пленки состава а-C:H:SiO_x методом плазмохимического осаждения с использованием импульсного биполярного смещения значительно снижает плотность распределения тромбоцитов в сравнении с необработанной металлической поверхностью. Полученные *in vitro* данные предполагают существенный атромбогенный потенциал данного вида покрытий на поверхности устройств, контактирующих с кровью.

Ключевые слова: адгезия тромбоцитов человека, *in vitro*, углеродная поверхность, модифицированная оксидами кремния, сканирующая электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия.

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

✉ Гренадёрв Александр Сергеевич, e-mail: 1711Sasha@mail.ru.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 19-19-00186.

Соответствие принципам этики. Работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации при получении добровольного информированного согласия на забор крови.

Для цитирования: Жульков М.О., Гренадёр А.С., Корнеев Д.С., Агаева Х.А., Чернявский А.М., Хлусов И.А. Исследование реакции тромбоцитов на а-С:H:SiO_x покрытие, полученное методом плазмохимического осаждения с использованием импульсного биполярного смещения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 15–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-15-21>.

The study of platelet reaction on a-C:H:SiO_x coatings obtained via plasma enhanced chemical vapor deposition with bipolar bias voltage

Zhulkov M.O.^{1,2}, Grenadyorov A.S.², Korneev D.S.³, Agaeva H.A.¹, Chernyavsky A.M.^{1,2}, Khlusov I.A.^{4,5}

¹ Meshalkin National Medical Research Center of Ministry of Health of the Russian Federation
15, Rechkunovskaya Str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation

² Institute of High Current Electronics of the Siberian Branch of the RAS
2/3 Akademicheskoy Av., Tomsk, 634055, Russian Federation

³ Trofimuk Institute of Petroleum Geology and Geophysics of the Siberian Branch of the RAS
3, Koptug Av., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

⁴ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

⁵ National Research Tomsk Polytechnic University
30, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study platelet adhesion to a-C:H:SiO_x film on titanium in an *in vitro* experiment to evaluate its antithrombogenic potential.

Materials and methods. Thin (less than 1 μm) a-C:H:SiO_x films were deposited on VT-6 titanium plates with a size of 10 × 10 mm² and a thickness of 0.2 mm using a vacuum ion-plasma unit using pulsed bipolar bias. The surface roughness was evaluated according to GOST 2789-73 using an atomic force microscope. The test samples were cultured at 37 °C for 30 min in platelet-rich human blood plasma, prepared for scanning electron microscopy, after which the distribution density of blood plates adhering to the test coating was calculated.

Results. With the same roughness index of the studied a-C:H:SiO_x samples, the film decreased 116 times (in comparison with untreated titanium) the platelet count per 1 mm² of the surface.

Conclusion. The deposition of a-C:H:SiO_x thin film on the surface of VT-6 titanium alloy by PACVD method using pulsed bipolar bias significantly reduces the distribution density of platelets in comparison with an untreated metal surface. *In vitro* data suggest a significant antithrombogenic potential of this type of coating on the surface of devices in contact with blood.

Key words: human platelet adhesion, *in vitro*, carbonic surface modified by silicon oxides, scanning electron microscopy, atomic force microscopy.

Conflict of interest. Authors declare no actual or potential conflict of interest related to publication of this article.

Source of financing. This work was financially supported by the Russian Science Foundation, grant No. 19-19-00186.

Conformity with the principles of ethics. The work was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration upon receipt of voluntary informed consent for blood sampling.

For citation: Zhulkov M.O., Grenadyorov A.S., Korneev D.S., Agaeva H.A., Chernyavsky A.M., Khlusov I.A. The study of platelet reaction on a-C:H:SiO_x coatings obtained via plasma enhanced chemical vapor deposition with bipolar bias voltage. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 15–21. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-15-21>.

ВВЕДЕНИЕ

Взаимодействие имплантатов с биологической средой организма во многом зависит от их поверхностных свойств, которые играют непосредственную роль в различных постимплантационных биологических реакциях, включая преципитацию различных минералов, адсорбцию белка, адгезию и пролиферацию клеток [1, 2]. В приложении к приборам (механические насосы) и стентам для хирургического лечения ишемической болезни сердца избыточность воспалительных клеточно-молекулярных реакций на границе раздела «искусственная поверхность – ткань» повышает риск тромбоза. В связи с этим возобновился интерес к методам модификации поверхности биосовместимых искусственных материалов, способствующим их биоинертности [3].

Одним из широко обсуждаемых решений проблемы детерминированной биосовместимости в диапазоне биоинертность/биоактивность является нанесение тонких алмазоподобных углеродных покрытий (diamond-likecoating, DLC). С начала 2000-х гг. показано, что DLC пленки биоинертны, устойчивы к механической нагрузке и коррозии, не цитотоксичны в отношении моноцитов/макрофагов, фибробластов, остеобластов [4]. Благодаря оптимальному соотношению sp³-, sp²-гибридизированных атомов углерода они обладают достаточно хорошей гемосовместимостью [5, 6]. В последние 5 лет в связи с определенной неудовлетворенностью результатами биомедицинского тестирования DLC покрытий накапливаются публикации по их физико-химической модификации (в частности, кремнием и его оксидами), улучшающей потребительские свойства a-C:H:SiO_x поверхности на медицинских материалах и изделиях [7].

На базе Института сильноточной электроники Сибирского отделения Российской академии наук разработан новый подход плазмохимического нанесения a-C:H:SiO_x пленок на внутренние поверхности и движущиеся части аппаратов вспомогательного кровообращения, основанный на использовании импульсного биполярного смещения подложки.

Цель работы – изучить в эксперименте *in vitro* адгезию тромбоцитов к a-C:H:SiO_x пленке на титане для оценки ее атромбогенного потенциала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве исследуемых образцов выступали титановые пластины марки ВТ-6 размером 10 × 10 мм и толщиной 0,2 мм с нанесенной тонкой (менее 1 мкм) a-C:H:SiO_x пленкой (пять образцов Т2). Контрольными образцами служили титановые образцы без a-C:H:SiO_x покрытия (пять образцов Т1). Нанесение пленки происходило на вакуумной ионно-плазменной установке с технологическими параметрами осаждения, подробно описанными в [8].

Среднее квадратическое отклонение профиля R_q по ГОСТ 25142-82 определяли согласно ГОСТ 2789-73 с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ) Solver P47 (NT-MDT, Россия) с площади 5 мкм². Для проведения теста адгезии тромбоцитов из крови здорового взрослого донора мужского пола (предназначенной для гемотрансфузии) получали 50 мл плазмы, обогащенной тромбоцитами, с помощью центрифугирования и сепарации форменных элементов крови [9, 10].

Полученную плазму разводили 0,9%-м раствором хлорида натрия в соотношении 1:1. Исследуемые образцы погружали в полученную суспензию тромбоцитов и инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. Затем образцы промывали дистиллированной водой для удаления слабо адгезированных клеток. Оставшиеся на поверхности тромбоциты фиксировали в 2%-м растворе глутарового альдегида при комнатной температуре в течение 1 ч и высушивали в термостате при 37 °С.

Образцы покрывали слоем хрома толщиной 20 нм в атмосфере аргона при ионном токе 6 мА и давлении 0,1 мм рт. ст. с использованием установки Q150T ES (Quorum Technologies, Великобритания) и подвергали сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе Mira3 (Tescan, Чехия). На каждом образце производили подсчет количества адгезированных тромбоцитов в 20 случайных полях зрения согласно принципам морфометрии [11].

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию

Левена. В том случае, когда распределение в экспериментальных группах было нормальным и соблюдалось межгрупповое равенство дисперсий, дальнейшую обработку проводили с помощью метода параметрической статистики – критерия Ньюмена – Кейлса. При распределении, отличном от нормального, и несоблюдении межгруппового равенства дисперсий использовали методы непараметрической статистики – критерий Краскела – Уоллиса. Результаты представлены как среднее и стандартная ошибка среднего $M \pm m$. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты АСМ показали определенное сглаживание неровностей поверхности сплава титана ВТ-6

после формирования а-С:H:SiO_x пленки (рис. 1). Тем не менее различия в индексе шероховатости R_q не достигали статистических различий (таблица). Полученные данные соответствуют результатам, опубликованным ранее [12].

В биологической части исследования использование цельной плазмы крови, обогащенной тромбоцитами, приводило к образованию их микроконгломератов и кристаллизации растворенных солей на поверхности образцов (рис. 2), что затрудняло подсчет числа отдельных клеток. Разведение плазмы изотоническим раствором хлорида натрия в соотношении 1:1 с последующей промывкой образцов раствором дистиллированной воды позволили получить изображения, доступные для морфометрического анализа (рис. 3).

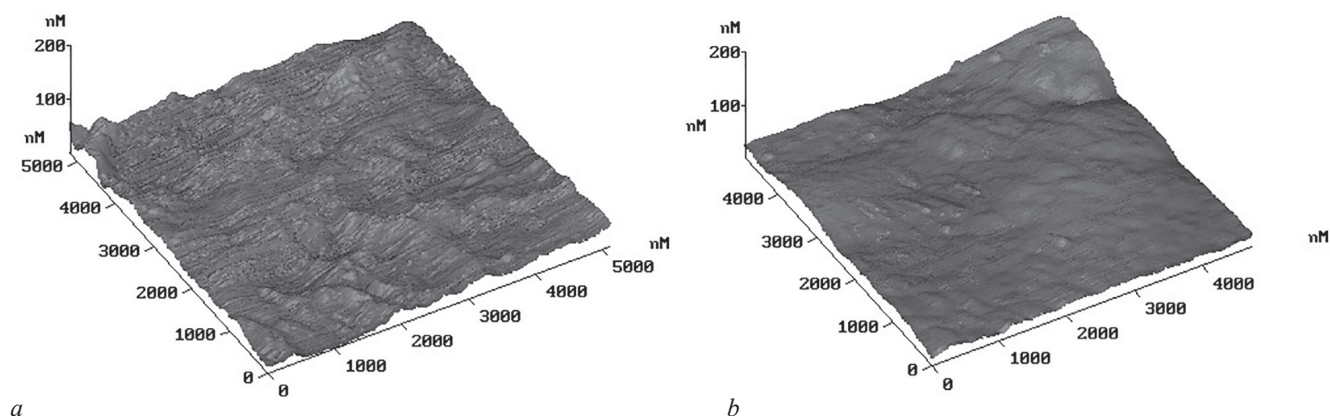


Рис. 1. АСМ-изображения морфологии поверхности титана (а) и титана с нанесенной а-С:H:SiO_x пленкой (b)

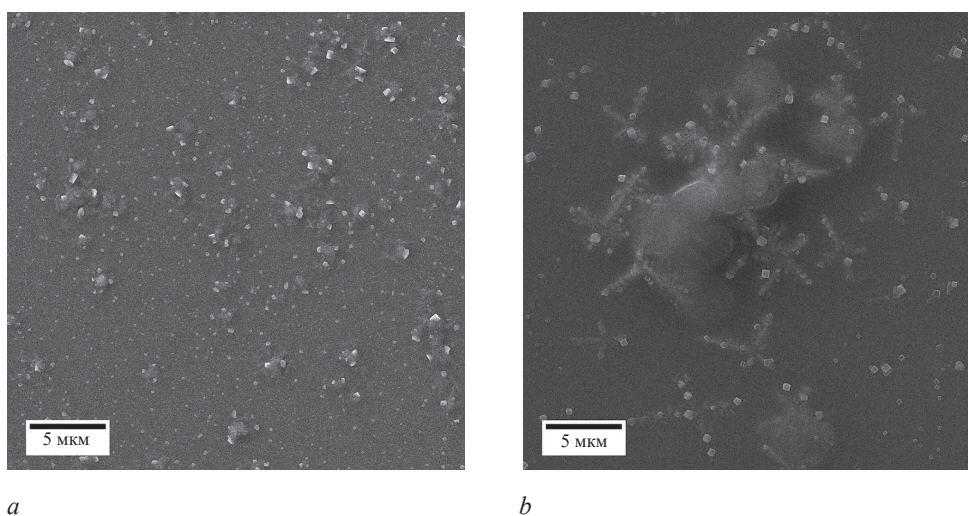


Рис. 2. СЭМ-изображение конгломератов тромбоцитов и кристаллов солей на поверхности образца титана марки ВТ-6. Шкала 25 мкм (а) и 5 мкм (b)

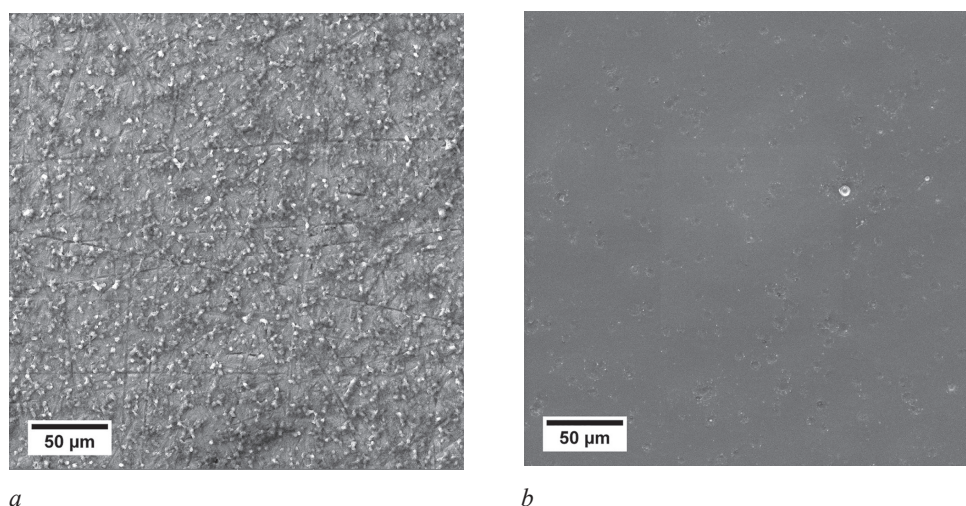


Рис. 3. СЭМ-изображения поверхности образца титана Т1 (а) и Т2 с нанесенной а-С:Н:SiO_x пленкой (b) после проведения теста на адгезию тромбоцитов. Шкала 50 мкм

Т а б л и ц а

Плотность распределения адгезированных тромбоцитов на исследуемых образцах согласно сканирующей электронной микроскопии, $M \pm m$			
Маркировка группы	Наименование группы, $n = 5$	Среднее число клеток на площади поверхности 250 мкм ²	Индекс шероховатости поверхности образцов, Rq , нм
T1	Титан марки ВТ-6 без обработки	290 ± 72 $n_1 = 20$	$7,9 \pm 0,8$
T2	Титан марки ВТ-6 с а-С:Н:SiO _x пленкой	$2,5 \pm 1,8$ $n_1 = 20$ $<0,001$	$7,2 \pm 0,7$

Примечание. Число изученных образцов в каждой группе – n . Число изученных полей зрения на каждом образце – n_1 .

Подсчет количества тромбоцитов показал, что а-С:Н:SiO_x покрытие на титановой подложке резко снижает их поверхностную адгезию. В группе Т2 (титан с покрытием) число кровяных пластинок оказалось в 116 раз меньше, чем на поверхности образцов из группы Т1 (без плазмохимической обработки). Следует подчеркнуть отсутствие статистически значимых различий в индексе шероховатости изучаемых поверхностей (см. таблицу), поскольку рельеф имплантатов и других медицинских изделий имеет существенное биологическое значение.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования DLC покрытий, модифицированных кремнием и его оксидами, были сосредоточены, преимущественно, на изучении их физико-механических свойств [13]. Так, формирование связей Si–C значительно повышает адгезию покрытия к подложкам при сохранении высоких трибологических характеристик DLC пленок [12]. Вместе с тем физико-химические процессы улучшения гемосовместимости материалов, обусловленного как DLC [14], так и Si-DLC пленками, остаются в области ги-

потез. В связи с одинаковой и незначительной шероховатостью исследуемых образцов (см. таблицу), требуемой для изделий, контактирующих с кровью, из всего разнообразия биологически активных физико-химических факторов (поверхностная энергия, фазовый и элементный состав, растворимость, наличие биологически активных (лекарственных) молекул в составе поверхности) [15] на первый план в определении гемосовместимости может выходить заряд (дзета(ξ)-потенциал) поверхности.

P.V. Sawyer и соавт. предположили, что антикоагулянтные свойства имплантируемым материалам способен придавать электростатический заряд их поверхности [16]. В свою очередь Y. Ikada и соавт. [17] высказали гипотезу, что в биологических жидкостях имеет место взаимосвязь между поверхностным ξ-потенциалом и противосвертывающими свойствами поверхности медицинских изделий. Действительно, введение кремния в состав тонких пленок значительно меняет их электрические и биологические характеристики [18].

В связи с этим установленная *in vitro* атромбогенность а-С:Н:SiO_x пленки на титане является ценным

потребительским свойством для приборов и изделий, контактирующих с кровью, и требует дальнейшего изучения электрокинетических и других физико-химических характеристик ее биологической инертности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Формирование на поверхности титанового сплава ВТ-6 тонкой а-С:H:SiO_x пленки, полученной методом плазмохимического осаждения с использованием импульсного биполярного смещения подложки, более чем в 100 раз снижает плотность распределения тромбоцитов человека в сравнении с необработанной металлической поверхностью. Полученные *in vitro* данные позволяют предполагать существенный атромбогенный потенциал а-С:H:SiO_x покрытий на поверхности устройств, контактирующих с кровью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ali N., Kousar Y., Okpalugo T. I., Singh V., Pease M., Ogwu A.A., Jackson M.J. Human micro-vascular endothelial cell seeding on Cr-DLC thin films for mechanical heart valve applications. *Thin Solid Films*. 2006; 515 (1): 59–65. DOI: 10.16/j.tsf.2005.12.023.
2. Goodman S.L., Tweden K.S., Albrecht R.M. Platelet interaction with pyrolytic carbon heart valve leaflets. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*. 1996; 32 (2): 249–258. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4636(199610)32:2<249::AID-JBM15>3.0.CO;2-E.
3. Love C.A., Cook R.B., Harvey T.J., Dearnley P.A., Wood R.J.K. Diamond like carbon coatings for potential application in biological implants – a review. *Tribology International*. 2013; 63 (2013): 141–150. DOI: 10.1016/j.triboint.2012.09.006.
4. Dearnaley G., Arps J.H. Biomedical applications of diamond-like carbon (DLC) coatings: a review. *Surface & Coatings Technology*. 2005; 200 (7): 2518–2524. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2005.07.007.
5. Kwok S.C.H., Wang J., Chu P.K. Surface energy, wettability, and blood compatibility phosphorus doped diamond-like carbon films. *Diamond and Related Materials*. 2005; 14 (1): 78–85. DOI: 10.1016/j.diamond.2004.07.019.
6. Sheeja D., Tay B.K., Nung L.N. Tribological characterization of surface modified UHMWPE against DLC-coated Co–Cr–Mo. *Surface & Coatings Technology*. 2005; 190 (2–3): 231–237. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2004.02.051.
7. Bociaga D., Sobczyk-Guzenda A., Komorowski P., Balcerzak J., Jastrzebski K., Przybyszewska K., Kaczmarek A. Surface characteristics and biological evaluation of Si-DLC coatings fabricated using magnetron sputtering method on Ti6Al-7Nb Substrate. *Nanomaterials*. 2019; 9 (6): 812. DOI: 10.3390/nano9060812.
8. Grenadyorov A.S., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Rabotkin S.V., Elgin Y.I., Sypchenko V.S., Ivanova N.M. Effect of substrate bias and substrate/plasma generator distance on properties of a-C:H:SiO_x films synthesized by PACVD. *Thin Solid Films*. 2019; 669: 253–261. DOI: 10.1016/j.tsf.2018.11.005.
9. Lopes F.S., Oliveira J.R., Milani J., Oliveira L.D., Machado J.P.B., Trava-Airoldi V.J., Marciano F.R. Biomaterialized diamond-like carbon films with incorporated titanium dioxide nanoparticles improved bioactivity properties and reduced bio-film formation. *Materials Science and Engineering: C*. 2017; 81: 373–379. DOI: 10.1016/j.msec.2017.07.043.
10. Wen F., Liu J., Xue J. The Studies of Diamond-Like Carbon Films as Biomaterials: review. *Colloid and Surface Science*. 2017; 2 (3): 81. DOI: 10.11648/j.css.20170203.11.
11. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990: 384.
12. Grenadyorov A.S., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Onischenko S.A., Chernyavskiy A.M., Zhulkov M.O., Kaichev V.V. Modifying the surface of a titanium alloy with an electron beam and a-C:H:SiO_x coating deposition to reduce hemolysis in cardiac assist devices. *Surface and Coatings Technology*. 2020; 381: 125113. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2019.125113.
13. Bociaga D., Kaminska M., Sobczyk-Guzenda A., Jastrzebski K., Swiatek L., Olejnik A. Surface properties and biological behaviour of Si-DLC coatings fabricated by a multi-target DC–RF magnetron sputtering method for medical applications. *Diamond and Related Materials*. 2016; 67: 41–50. DOI: 10.1016/j.diamond.2016.01.025.
14. Yang P., Huang N., Leng Y.X., Chen J.Y., Fu R.K.Y., Kwok S.C.H., Chu P. K. Activation of platelets adhered on amorphous hydrogenated carbon (a-C:H) films synthesized by plasma immersion ion implantation-deposition (PIII-D). *Biomaterials*. 2003; 24 (17): 2821–2829. DOI: 10.1016/s0142-9612(03)00091-7.
15. Коков Л.С., Капранов С.А., Долгушин Б.И., Троицкий А.В., Протопопов А.В., Мартов А.Г. Сосудистое и внутриорганное стентирование. М.: Изд. дом «Грааль», 2003: 384.
16. Sawyer P.M., Janczuk B., Bruque J. Materials with negative charge surface and their blood compatibility. *Tasaio*. 1964; 10 (3): 316–321.
17. Ikada Y. Blood-compatible polymers. *Polymers in medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1984: 103–140.
18. Пичугин В.Ф., Сурменева М.А., Сурменев Р.А., Хлюсов И.А., Эппле М. Исследование физико-химических и биологических свойств кальцийфосфатных покрытий, созданных методом ВЧ-магнетронного распыления кремний-замещенного гидроксипатита. Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2011; 9: 54–61. DOI: 10.1134/S1027451011090138.

Вклад авторов

Жульков М.О. – проведение исследований, обработка полученного материала, написание статьи. Гренадёр А.С. – формирование покрытий, проведение исследований, написание статьи. Корнеев Д.С. – проведение исследований, обработка полученного

материала. Агаева Х.А. – проведение исследований, написание статьи. Чернявский А.М. – анализ полученного материала, редактирование статьи. Хлусов И.А. – анализ полученного материала, редактирование статьи.

Сведения об авторах

Жульков Максим Олегович, стажер-исследователь, Центр хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск. ORCID 0000-0001-7976-596X.

Гренадёр Александр Сергеевич, канд. техн. наук, науч. сотрудник, лаборатория прикладной электроники, ИСЭ СО РАН, г. Томск. ORCID 0000-0001-6013-0200.

Корнеев Дмитрий Сергеевич, канд. хим. наук, науч. сотрудник, лаборатория физико-химических исследований ядра и пластовых флюидов, ИНГГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-3398-5729.

Агаева Хава Абдуллаевна, клинический ординатор, Центр хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина. ORCID 0000-0002-1648-1529.

Чернявский Александр Михайлович, д-р мед. наук, профессор, руководитель Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина. ORCID 0000-0001-9818-8678.

Хлусов Игорь Альбертович, д-р мед. наук, профессор, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ; профессор, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3465-8452.

(✉) Гренадёр Александр Сергеевич, e-mail: 1711Sasha@mail.ru.

Поступила в редакцию 03.02.2020

Подписана в печать 06.05.2020

Аберрации числа копий в геноме опухоли молочной железы люминального подтипа В

Ибрагимова М.К.¹, Цыганов М.М.¹, Слонимская Е.М.², Литвяков Н.В.¹

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

² Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ)
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9

РЕЗЮМЕ

Цель. Описание ландшафта Copy Number Aberration (CNA) опухоли молочной железы люминального подтипа В до лечения.

Материалы и методы. В исследование включены 100 больных раком молочной железы (РМЖ) люминального подтипа В, для которых проведен забор биопсийного материала опухоли до проведения неоадъювантной химиотерапии (НХТ). ДНК из опухоли исследована при помощи микроматрицы CytoScan HD Array (Affymetrix, США). Полученные микроматричные данные соотнесены с эффективностью НХТ.

Результаты. Показано, что наибольшая частота амплификаций (более чем у 65% больных) наблюдается в следующих локусах: 1q32.1-32.3, 1q41-42.2, 8q24.21. Наибольшая частота делеций (более чем у 60% больных) была обнаружена в локусах 16q21, 16q22.1, 16q23.1-24.1, 17p13.1, 17p12. Трисомия чаще всего наблюдалась в 7-, 8-, 12- и 17-й хромосомах, моносомия – в 3-, 4-, 9-, 11-, 18-й и X-хромосомах. Ландшафт CNA опухоли молочной железы люминального подтипа В отличается от трижды негативного РМЖ. Наибольшая разница частоты встречаемости амплификаций между больными с объективным ответом на НХТ и больными с отсутствием ответа на НХТ показана в 1q24.2-42.2 локусах (46%), а наибольшая разница частоты встречаемости делеций (более 30%) – между группами в регионах 6q16.3, 11p15.4, 11q23.1, 16q22.2-22.3. Данные локусы могут быть рассмотрены в качестве потенциальных предиктивных маркеров.

Заключение. Установлены локусы с наибольшей частотой амплификаций и делеций для рака молочной железы люминального подтипа В. Идентифицированы потенциальные предиктивные маркеры для данного молекулярного подтипа.

Ключевые слова: рак молочной железы, микроматричный анализ, делеции, амплификации, неоадъювантная химиотерапия.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 17-15-01203.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Для цитирования: Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В. Аберрации числа копий в геноме опухоли молочной железы люминального подтипа В. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 22–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-22-28>.

Aberrations of the number of copies (CNA) in the genome of luminal B breast tumor

Ibragimova M.K.¹, Tsyganov M.M.¹, Slonimskaya E.M.², Litviakov N.V.¹

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

² Saint-Petersburg State University 7/9, University Emb., 199034, Saint-Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To describe the CNA (Copy Number Aberration) landscape of luminal B breast tumor before treatment.

Materials and methods. The study included 100 patients with breast cancer (BC) of luminal B subtype for which a biopsy of the tumor material was performed prior to neoadjuvant chemotherapy (NAC). The tumor DNA was examined using a CytoScan HD Array microarray (Affymetrix, USA). The obtained microarray data were correlated with NAC efficacy.

Results. The study showed that loci 1q32.1-32.3, 1q41-42.2, and 8q24.21 had the highest frequency of amplifications (in more than 65% of patients). The highest deletion frequency (in more than 60% of patients) was found in loci 16q21, 16q22.1, 16q23.1-24.1, 17p13.1, and 17p12. Trisomy was most often observed in chromosomes 7, 8, 12, and 17, and monosomy in chromosomes 3, 4, 9, 11, 18, and X-chromosomes. The CNA landscape of luminal B subtype breast tumors is different from triple-negative breast cancer. The largest difference in the frequency of amplifications between patients with an objective response to NAC and patients with no response to NAC was shown in 1q24.2-42.2 loci (46%), and the largest difference in the frequency of deletions (more than 30%) between groups was in regions 6q16.3, 11p15.4, 11q23.1, and 16q22.2-22.3. These loci can be considered potential predictive markers.

Conclusion. The research determined loci with the highest amplification and deletion frequencies for luminal B breast cancer. Potential predictive markers for the given molecular subtype were identified.

Key words: breast cancer, microarray analysis, deletions, amplifications, neoadjuvant chemotherapy.

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

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 17-15-01203.

Conformity with the principles of ethics. The study was carried out in compliance with the ethical standards developed in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association Ethical Principles for Conducting Scientific Medical Research with Human Participation as amended in 2000 and the Rules of Clinical Practice in the Russian Federation, approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of 19.06.2003, No. 266. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Cancer Research Institute.

For citation: Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Slonimskaya E.M., Litviakov N.V. Aberrations of the number of copies (CNA) in the genome of luminal B breast tumor. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 22–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-22-28>.

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря проекту «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas, TCGA) возникло понимание того, что опухоли многих локализаций содержат не только точечные мутации онкогенов и генов-супрессоров опухоли, но также и большое количество разнообразных хромосомных аномалий, которые играют ключевую роль в канцерогенезе и прогрессии

опухоли [1]. Наиболее часто хромосомные аномалии встречаются в солидных опухолях [2].

Делеции или амплификации хромосомных регионов и отдельных хромосом называют абберациями числа копий ДНК, или Copy Number Aberration (CNA). Эти типы цитогенетических нарушений могут влиять на экспрессию генов. Как правило, при делециях экспрессия генов, локализованных в делетированном регионе, снижена, при амплификации

ях – повышена [3]. Рак молочной железы (РМЖ) не является исключением. Несмотря на тот факт, что опухоли молочной железы имеют высокую степень внутриопухолевой гетерогенности, для них определены наиболее часто встречающиеся хромосомные аберрации. При РМЖ (в том числе и по данным TCGA) высокую частоту встречаемости имеют CNA в 1q, 8q, 8p, 11q, 13q, 16q, 17q и 20q регионах [4–6].

В настоящее время начался процесс детализации генетических изменений в опухоли. Идет описание генетических особенностей CNA конкретных опухолевых локализаций и связанных с ними паттернов экспрессии генов. Фактически специфичные для опухоли ландшафты CNA с большими изменениями количества геномных копий приводят к глобальной дерегуляции транскриптома опухолевых клеток. Кроме того, молекулярная характеристика цитогенетических аномалий позволила получить представление о механизмах онкогенеза и в некоторых случаях привела к клинической реализации эффективных диагностических и прогностических инструментов, а также стратегий лечения, нацеленных на конкретную генетическую аномалию.

J.Y. Goh и соавт. было определено, что амплификация 1q21.3 хромосомы является новым биомаркером и действенной мишенью при раке молочной железы [7]. Эта амплификация присутствует в 10–30% первичных опухолей и более чем в 70% рецидивирующих, независимо от подтипа РМЖ. Был исследован молекулярный механизм, посредством которого амплификация 1q21.3 связана с рецидивом рака молочной железы, включая функциональную связь между S100A7/8/9 и IRAK1. Используя ddPCR, авторы разработали молекулярный анализ на основе анализа крови для выявления амплификации 1q21.3

во внеклеточной ДНК и показали, что данная амплификация может служить в качестве циркулирующего биомаркера для прогнозирования раннего рецидива и мониторинга реакции опухоли молочной железы на химиотерапию [7].

В настоящее время есть исследования ассоциации CNA и клинико-морфологических показателей опухоли для отдельных подтипов рака молочной железы. В частности, для трижды негативного рака молочной железы показана наибольшая частота амплификаций в хромосомных регионах 10p и 12q, что соответствует увеличению количества копий генов *GATA3* и *MDM2*. С меньшей частотой встречаются амплификации в хромосомах 1q (*MDM4*), 3q (*PIK3CA*), 6p (*CCND3*), 8q (*MYC*) и 18 (*BCL2* и *SMAD4*), частые делеции включали хромосомы 4p (*FGFR3*), 5q (*PIK3R1*), 8p (*DBC2*), 9p (*NR4A3*), 12 (*MDM2*) и 22 (*CHEK2*) [8]. Тем не менее в большинстве исследований определяются CNA не всего генома, а только ключевых генов, которые участвуют в патогенезе опухоли. Не представлено описание ландшафта CNA в полногеномном масштабе для люминального подтипа В РМЖ.

Цель работы – описание ландшафта CNA опухоли молочной железы люминального подтипа В до лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе выполнения данного исследования собран банк биологического материала 100 больных с морфологически верифицированным диагнозом РМЖ люминального подтипа В (из них 11 люминальны BHER2+) и составлен подробный регистр клинико-морфологических данных (средний возраст $(46,2 \pm 0,4)$ лет) (табл. 1).

Таблица 1

Клинико-морфологические параметры обследованных больных раком молочной железы		
Показатель		Число больных, абс. (%)
Возраст, лет	≤45	41 (41%)
	>45	59 (59%)
Менструальный статус	Пременопауза	58 (54%)
	Постменопауза	42 (42%)
Гистологический тип	Инвазивный протоковый рак	85 (85%)
	Инвазивный дольковый рак	8 (8%)
	Медулярный рак	1 (1%)
	Другие типы	7 (7%)
Размер опухоли	T ₁	13 (13%)
	T ₂	78 (78%)
	T ₃	4 (4%)
	T ₄	5 (5%)

Окончание табл. 1

Показатель	Число больных, абс. (%)
Лимфогенное метастазирование	N ₀
	45 (45%)
	N ₁
	43 (43%)
	N ₂
	4 (4%)
	N ₃
	8 (8%)
Молекулярный подтип	Люминальный В
	100 (100%)
Рецепторы эпидермального фактора роста HER2	0/+
	89 (89%)
	++/+++
	11 (11%)
Гистологическая форма	Уницентрическая
	70 (70%)
	Мультицентрическая
	30 (30%)
Схема НХТ	CAX
	19 (19%)
	FAC/AC
	31 (31%)
	Таксотер
	20 (20%)
Ответ на НХТ	АТ/АСТ
	9 (9%)
	СР
	12 (12%)
	Не проводилась
	9 (9%)
Прогрессирование	4 (4%)
	Стабилизация
	22 (22%)
	Частичная регрессия
	53 (53%)
Полная регрессия	12 (12%)
	Не проводилась
	9 (9%)

Примечание. НХТ – неoadъювантная химиотерапия; CAX – cyclophosphamide, adriamycin, xeloda; FAC – 5-fluorouracil, adriamycin, cyclophosphamide; CP – cyclophosphamide, cisplatin; AT – adriamycin, docetaxel; AC – adriamycin, cyclophosphamide; ACT – adriamycin, cyclophosphamide, docetaxel.

У каждой больной произведен забор материала опухоли до начала лечения с помощью пистолетной биопсии под контролем ультразвукового исследования (УЗИ). ДНК из образцов выделялась с использованием набора QIAamp DNA miniKit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Для изучения CNA в опухолевых клетках использована микроматрица высокой плотности CytoScan HD Array (Affymetrix, США), позволяющая в полном формате оценить делеции и амплификации ДНК во всех опухолевых клетках одновременно и проводить количественный анализ представленности мутации (или несущего мутацию клона) на фоне нормальной ДНК.

Работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266.

Эффективность предоперационной химиотерапии оценивали по критериям Всемирной организации здравоохранения и Международного противоракового союза (International Union Against Cancer) под контролем УЗИ и (или) маммографии. Регистрировали полную регрессию (100%-е уменьшение опухоли), частичную регрессию (уменьшение объема опухоли более чем на 50%), стабилизацию (снижение объема

менее чем на 50% или увеличение не более чем на 25%) и прогрессирование (увеличение объема опухоли более чем на 25%). Согласно международным рекомендациям, при проведении предоперационной химиотерапии больные РМЖ со стабилизацией или прогрессированием составляли группу с отсутствием ответа на неoadъювантную химиотерапию (НХТ), а больные с частичной и полной регрессией – группу с объективным ответом. Для обработки результатов микрочипирования (биоинформатического анализа) использовалась программа Chromosome Analysis Suite 4.0 (Affymetrix, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе был проведен анализ частоты встречаемости CNA по всем 862 цитобендам для каждой пациентки, включенной в исследование. В табл. 2 представлены данные по регионам генома с высокой частотой встречаемости CNA и их отсутствием в группе больных РМЖ.

В большинстве случаев амплификации и делеции отсутствовали в прицентромерных регионах 13-, 14-, 15-, 21- и 22-й хромосом. При этом показано, что отсутствие в локусах 10q23.32-24.33, 11q23.1-23.2, 13q14.11-14.3 амплификаций сопровождалось наличием более чем у 30% больных делеций, и, наоборот, отсутствие в локусах 8q12.1, 8q24.11-24.21 делеций

сопровождалось наличием более чем у 40% больных амплификаций (рис. 1, табл. 2). Были подсчитаны числовые хромосомные аномалии. Показано, что

трисомия чаще всего наблюдалась в 7-, 8-, 12- и 17-й хромосомах. Моносомия – в 3-, 4-, 9-, 11-, 18-й и X-хромосомах.

Таблица 2

Данные по регионам генома с высокой частотой встречаемости CNA и их отсутствием в группе больных раком молочной железы	
Показатель	Локус
Частота амплификаций >65%	1q32.1-32.3, 1q41-42.2, 8q24.21
Частота делеций >60%	16q21, 16q22.1, 16q23.1-24.1, 17p13.1, 17p12
Отсутствие амплификаций	10q23.32-24.33, 11q23.1-23.2, 13p12-11.1, 13q14.11-14.3, 14p13-11.1, 14q11.1, 15p13-11.1, 15q11.1, 21p13-11.1, 21q11.1, 22p13-11.1
Отсутствие делеций	8q12.1, 8q24.11-24.21, 13p13-11.1, 14p12-11.1, 14q11.1, 15p12-11.1, 15q11.1, 21p13-11.1, 21q11.1, 22p13-11.2
Отсутствие амплификаций и делеций	13p13-11.1, 14p12-11.1, 15p12-11.1, 21p13-11.1, 21q11.1, 22p13-11.2

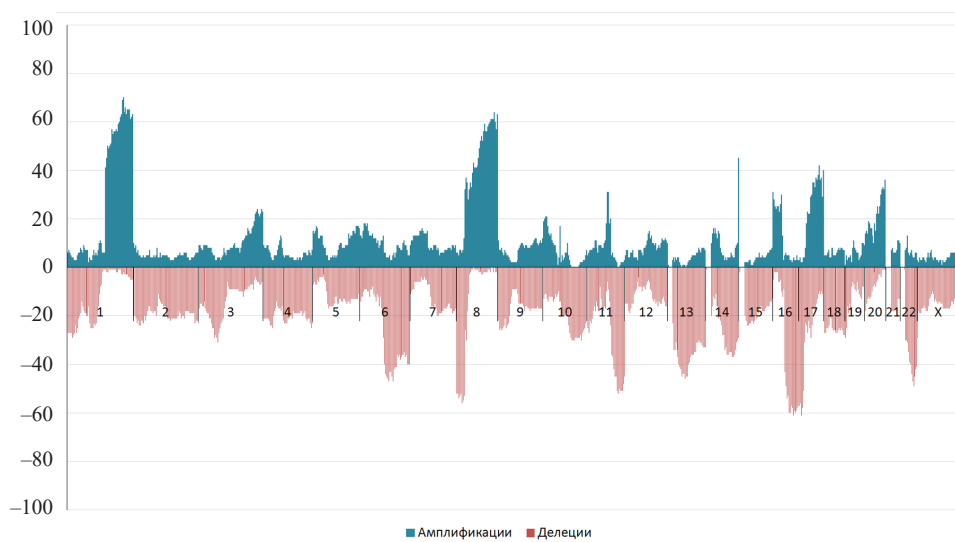


Рис. 1. Частота CNA в опухоли молочной железы молекулярного люминального подтипа В

Далее нами была изучена ассоциация ответа на НХТ с частотой встречаемости CNA. Были выделены две группы пациенток до лечения: группа 1 – пациентки со стабилизацией и прогрессированием опухолевого процесса после проведения НХТ ($n = 26$), группа 2 – пациентки с частичной и полной регрессией опухоли после лечения ($n = 65$).

Установлено, что наибольшая частота амплификаций (более 60%) в группе пациенток со стабилизацией и прогрессированием после проведения НХТ была обнаружена только в локусах 8q23.1-24.3. Интересно отметить, что при наличии более 60% амплификаций в регионах 8q23.1-24.3 отмечено полное отсутствие делетированных участков в этих локусах. Максимальная частота делеций (более 50%) в группе 1 была обнаружена в локусах 8p23.3, 16q21, 16q23.1-24.2, 17p13.3-11.2. При этом в локусе 8p23.3 при наибольшей частоте делеций показано отсутствие ам-

плификаций. Общая картина частоты встречаемости CNA у больных со стабилизацией и прогрессированием опухолевого процесса представлена на рис. 2.

Для второй группы пациенток наибольшая частота амплификаций (84%) была обнаружена в локусе 1q32.2. Частота амплификаций более 60% обнаружена в длинном плече 1-й хромосомы (локусы 1q23.2-25.3, 1q31.1-44) и длинном плече 8-й хромосомы (локусы 8q22.1-24.3). При максимальной частоте встречаемости амплификаций в данных регионах практически отсутствуют делеции. Максимальная частота делеций (72%) отмечается в локусе 17p13.1. Частота делеций более 50% отмечается в большом количестве локусов: 6q14.1-16.3, 6q21-22.1, 8p23.3-21.1, 11q21-25, 13q14.11-14.3, 13q21.1, 16q11.2-13, 16q21-24.3, 17p13.3-11.2, 22q12.3-13.2. Общая картина частоты встречаемости CNA у больных группы 2 также представлена на рис. 2.

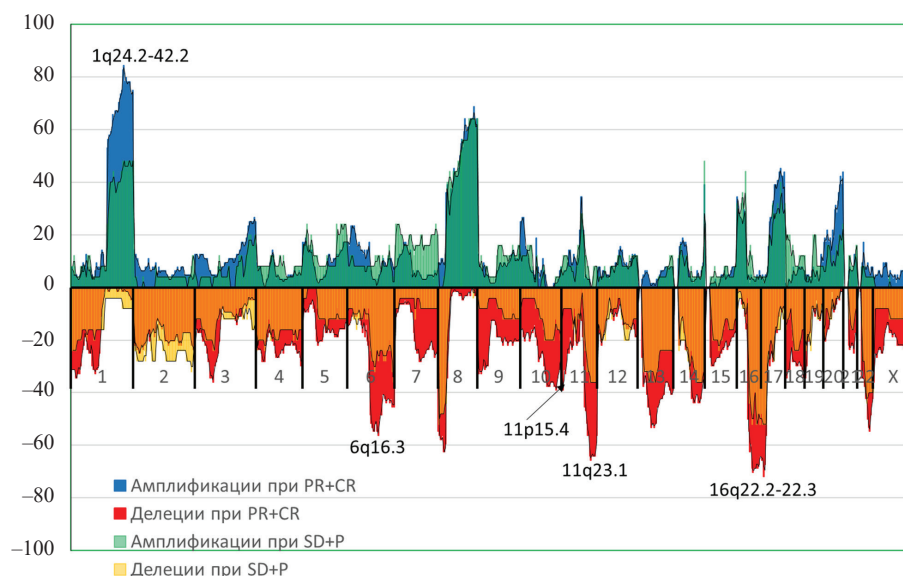


Рис. 2. Соотношение частот амплификаций и делеций в опухоли до лечения в зависимости от эффекта неоадьювантной химиотерапии: указаны локусы с наибольшей разницей в частотах амплификаций и делеций; SD + P – стабилизация и прогрессирование; PR + CR – частичная регрессия и полная регрессия

При совместном анализе двух групп были найдены цитобенды, в которых разница частот встречаемости хромосомных аномалий в группах с наличием и отсутствием объективного ответа на НХТ достигала максимального значения 30% и более. Наибольшая разница частоты встречаемости амплификаций между группами показана в 1q24.2-42.2 локусах (46%), а наибольшая разница частоты встречаемости делеций (более 30%) – между группами в регионах 6q16.3, 11p15.4, 11q23.1, 16q22.2-22.3 (см. рис. 2). Эти локусы обладают потенциальной предиктивной значимостью для РМЖ люминального подтипа В, что необходимо валидировать в проспективных исследованиях.

ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая тот факт, что РМЖ представляет собой генетически гетерогенное заболевание, то в настоящее время становится необходимым проведение исследований на выявление спектра молекулярно-генетических особенностей опухоли как основы разработки новых подходов к лечению онкологических больных. Для этого необходимо подробное описание особенностей генетического ландшафта опухоли молочной железы с разделением на молекулярные подтипы в зависимости от основных клинических показателей.

В настоящее время уже опубликованы данные по анализу частоты хромосомных aberrаций для небольшой выборки пациентов ($n = 12$) с трижды негативным раком молочной железы. При помощи микроматричного анализа были определены хромосомные регионы с наиболее частыми амплификациями (1q, 3q, 6p, 8q), частая трисомия 18-й хромосомы, регио-

ны с наиболее частыми делециями (4p, 5q, 8p, 9p) и моносомия 12-й и 22-й хромосом. Также идентифицировано много уникальных амплификаций, которые возникали исключительно у отдельных пациентов [8].

Более того, аналогичные данные получены М.Д. Burstein и соавт. на большой выборке пациентов ($n = 278$) с трижды негативным раком молочной железы. Так, были охарактеризованы особенности частоты встречаемости CNA, где показано, что наибольшая частота встречаемости амплификаций (более 84%) обнаружена в 1q31.2, 3q26.1 и 8q23.3 хромосомах, а наибольшая частота делеций – в 8p23.2, 9p21.3 и 10q23.31 хромосомах [9]. В отличие от трижды негативного РМЖ [9], при РМЖ люминальном подтипе В теломерная часть длинного плеча 1-й хромосомы имеет высокую частоту амплификаций, но в 3q26.1 частота амплификаций гораздо ниже, а в длинном плече 8-й хромосомы наибольшая частота (66%) наблюдается в 8q24.21, где локализован один из самых известных онкогенов *-c-MYC*. Трижды негативный и люминальный подтип В РМЖ отличаются и по локусам с наибольшей частотой делеций (см. табл. 2), в частности наиболее часто делетированы локусы в длинном плече 16-й хромосомы и коротком плече 17-й хромосомы (17p13.1, 17p12) при РМЖ люминального подтипа В. В локусе 17p13.1 находится один из самых известных генов-супрессоров опухолевого роста – TP53. Эти данные свидетельствуют о том, что ландшафт опухоли молочной железы CNA зависит от молекулярного подтипа.

Кроме самого описания ландшафта CNA, важно понимать, что подобные данные могут составлять

основу для разработки новых маркеров эффективности лечения пациенток с патологией молочной железы. В исследовании П.В. Казанцевой и соавт. были рассмотрены молекулярно-генетические маркеры эффективности неoadъювантной химиотерапии с применением антрациклинов у больных раком молочной железы. На выборке из 46 пациенток с РМЖ показано, что делеции 18p11.21, 11q22.1 и амплификацию 1q24.1-43 можно рассматривать в качестве предсказательных критериев высокой эффективности НХТ. Наличие хотя бы одного из представленных маркеров позволяет в 85,3% наблюдений предположить высокую эффективность предоперационного лечения антрациклинами [10]. В настоящем исследовании РМЖ люминального подтипа В также длинное плечо 1-й хромосомы у больных с объективным ответом показало сравнительно высокую частоту амплификаций. Делеции обнаруживаются чаще у больных с объективным ответом в локусах bql6.3, 11p15.4, 11q23.1, 16q22.2-22.3, что не совпадает с данными работы П.В. Казанцевой и соавт.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате исследования описан ландшафт CNA опухоли молочной железы люминального подтипа В до лечения, а также отдельно у пациентов с объективным ответом на НХТ и его отсутствием. Установлены частоты встречаемости аберраций во всех цитобендах. Выявлены цитобенды с наибольшей частотой встречаемости CNA и их отсутствием, анеуплоидия, обсуждены отличия ландшафта CNA опухоли люминального подтипа В и трижды негативного РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Garraway L.A., Lander E.S. Lessons from the cancer genome. *Cell*. 2013; 153 (1): 17–37. DOI: 10.1016/j.cell.2013.03.002.
2. Abbas T., Keaton M.A., Dutta A. Genomic instability in cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2013; 5 (3): a012914. DOI: 10.1101/cshperspect.a012914.
3. Xu Y., Duan Mu H., Chang Z., Zhang S., Li Z., Li Z., Liu Y., Li K., Qiu F., Li X. The application of gene co-expression network reconstruction based on CNVs and gene expression microarray data in breast cancer. *Molecular Biology Reports*. 2012; 39 (2): 1627–1637. DOI: 10.1007/s11033-011-0902-3.
4. Kaveh F., Baumbusch L.O., Nebdal D., Borresen-Dale A.-L., Lingjærde O.C., Edvardsen H., Kristensen V.N., Solvang H.K. A systematic comparison of copy number alterations in four types of female cancer. *BMC Cancer*. 2016; 16 (1): 913. DOI: 10.1186/s12885-016-2899-4.
5. Iddawela M., Rueda O., Eremin J., Eremin O., Cowley J., Earl H.M., Caldas C. Integrative analysis of copy number and gene expression in breast cancer using formalin-fixed paraffin-embedded core biopsy tissue: a feasibility study. *BMC Genomics*. 2017; 18 (1): 526. DOI: 10.1186/s12864-017-3867-3.
6. Grade M., Difilippantonio M.J., Camps J. Patterns of chromosomal aberrations in solid tumors. *Chromosomal Instability in Cancer Cells*. 2015; 200: 115–142. DOI: 10.1007/978-3-319-20291-4_6.
7. Goh J.Y., Feng M., Wang W., Oguz G., Yatim S.M.J.M., Lee P.L., Bao Y., Lim T.H., Wang P., Tam W.L., Kodahl A.R., Lyng M.B., Sarma S., Lin S.Y., Lezhava A., Yap Y.S., Lim A.S.T., Hoon D.S.B., Ditzel H.J., Lee S.C., Tan E.Y., Yu Q. Chromosome 1q21.3 amplification is a trackable biomarker and actionable target for breast cancer recurrence. *Nature Medicine*. 2017; 23: 1319–1330. DOI: 10.1038/nm.4405.
8. Gao R., Davis A., McDonald T.O., Sei E., Shi X., Wang Y., Tsai P.-C., Casasent A., Waters J., Zhang H., Meric-Bernstam F., Michor F., Navin N.E. Punctuated copy number evolution and clonal stasis in triple-negative breast cancer. *Nature Genetics*. 2016; 48: 1119–1130. DOI: 10.1038/ng.3641.
9. Burstein M.D., Tsimelzon A., Poage G.M., Covington K.R., Contreras A., Fuqua S.A.W., Savage M.I., Osborne C.K., Hilsenbeck S.G., Chang J.C., Mills G.B., Lau C.C., Brown P.H. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clinical Cancer Research*. 2015; 21 (7): 1688–1699. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0432.
10. Казанцева П.В., Цыганов М.М., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В., Чердынцева Н.В., Ибрагимова М.К., Дорошенко А.В., Тарабановская Н.А., Паталяк С.В. Молекулярно-генетические маркеры эффективности неoadъювантной химиотерапии с применением антрациклинов у больных раком молочной железы. *Сибирский онкологический журнал*. 2016; 15 (2): 29–35. DOI: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-29-35.

Сведения об авторах

Ибрагимова Марина Константиновна, мл. науч. сотрудник, лаборатория онковирусологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-8815-2786.

Цыганов Матвей Михайлович, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория онковирусологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7419-4512.

Слонимская Елена Михайловна, д-р мед. наук, профессор, кафедра онкологии, СПбГУ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-4382-5697.

Литвяков Николай Васильевич, д-р биол. наук, зав. лабораторией онковирусологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0714-8927.

(✉) **Ибрагимова Марина Константиновна**, e-mail: imk1805@yandex.ru.

Поступила в редакцию 21.05.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Влияние гипертрофии больших слюнных желез на ультраструктуру сперматогенного эпителия крыс

Иванова В.В.¹, Тихонов Д.И.¹, Мильто И.В.^{1,2}, Серебрякова О.Н.³, Геренг Е.А.¹, Плешко Р.И.¹

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

² Северский биофизический научный центр
Россия, 636013, Томская обл., г. Северск-13, а/я № 130

³ Норильская городская больница № 2
Россия, 663300, г. Норильск, ул. Б. Хмельницкого, 18

РЕЗЮМЕ

Цель. Выяснение особенностей эндокринного влияния больших слюнных желез на сперматогенез половозрелых крыс.

Материалы и методы. Половозрелые белые беспородные самцы крыс (возраст 2 мес, масса тела 153 ± 18 г) составили три группы (по 30 особей): интактная, контрольная и крысы, подвергшиеся многократной ампутации резцов. Для оценки эндокринного влияния эпителиоцитов ацинусов и протоков больших слюнных желез моделировали их гипертрофию путем многократной ампутации резцов. Крыс выводили из эксперимента на 2-, 3-, 4-, 6-, 8- и 10-ю нед после первой ампутации резцов. Семенники животных оценивали при помощи трансмиссионной электронной микроскопии. На электронограммах анализировали удельный объем вакуолизации цитоплазмы сустентоцитов, сперматогоний, сперматоцитов и сперматид (усл. ед.), в сперматогенных клетках оценивали количество митохондрий (%) с морфологическими признаками набухания.

Результаты. В ранние сроки эксперимента в извитых семенных канальцах крыс развивается вакуолизация цитоплазмы сустентоцитов, а также ультраструктурные изменения сперматогенных клеток (вакуолизация цитоплазмы, альтерация митохондрий, разрушение мембранных органелл, фрагментация хроматина). Изменения структуры сперматогенных клеток и сустентоцитов максимально выражены на 2–3-й нед, снижаются на 4-й нед и полностью нивелируются к 6-й нед эксперимента.

Заключение. Гипертрофия больших слюнных желез, вызванная многократной ампутацией резцов, оказывает на сперматогенный эпителий влияние, схожее с эффектом сиалоаденэктомии. В результате многократной ампутации резцов угнетается функциональное состояние клеток гранулярных извитых трубок поднижнечелюстных желез. Эндокринные факторы, которые вносят наибольший вклад в регуляцию сперматогенеза у крыс, вырабатываются клетками гранулярных извитых трубок.

Ключевые слова: сперматогенез, сустентоцит, слюнные железы, гипертрофия.

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

Источники финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено решением локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 4253 от 28.09.2015).

Для цитирования: Иванова В.В., Тихонов Д.И., Мильто И.В., Серебрякова О.Н., Геренг Е.А., Плешко Р.И. Влияние гипертрофии больших слюнных желез на ультраструктуру сперматогенного эпителия крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 29–35. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-29-35>.

The effect of major salivary glands hypertrophy on rat's spermatogenic epithelium ultrastructure

Ivanova V.V.¹, Tikhonov D.I.¹, Mil'to I.V.^{1,2}, Serebrjakova O.N.³, Gereng E.A.¹, Pleshko R.I.¹

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Seversk Biophysical Research Centre

P.O. Box 130, Seversk-13, Tomskaya Oblast, 636013, Russian Federation

³ Regional State Healthcare Institution Norilsk № 2 Municipal Hospital

18, B. Chmelnitsky Str., Norilsk, 663300, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose. The aim of this study was to ascertain the characteristics of major salivary glands endocrine effect on spermatogenesis.

Materials and methods. Mature white outbred male rats (2 months, 153 ± 18 g) consisted of the following groups (each containing 30 rats): intact, control, and group of rats subjected to multiple amputation of incisors. To achieve hypertrophy of major salivary glands multiple amputation of incisors was performed: incisors were cut to a level of 1-2 mm above the gingival margin under ether anesthesia once every 3 days within 2 weeks. Animals of the control group were anesthetized with ether at the same time. Rats were sacrificed by CO₂ asphyxia after 2, 3, 4, 6, 8 and 10 weeks after the first amputation of incisors. Fragments of the rat testes were examined on a JEM-1400 "JEOL" (Japan) transmission electron microscope. On electron microscopy images the specific vacuolization of the cytoplasm of Sertoli cells, spermatogonia, spermatocytes and spermatids (standard units) was analyzed by the point counting method. In spermatogenic cells the proportion of mitochondria (%) with morphological signs of swelling was assessed.

Results. Transient ultrastructural changes of Sertoli and spermatogenic cells develop in the rats convoluted seminiferous tubules as a result of multiple amputation of the incisors, such as phagosomes and pronounced vacuolization in the Sertoli cells cytoplasm, cytoplasm vacuolization and mitochondrial swelling in spermatogenic cells. Sporadic spermatogenic cells with signs of nuclear (chromatin fragmentation, its condensation on the periphery of the nucleus) and cytoplasm (destruction of membrane organelles) destruction appeared as a result of multiple incisors' amputation. Ultrastructural changes of Sertoli and spermatogenic cells are most pronounced at 2-3 weeks, decrease at 4 week and are completely leveled by the 6th week of the experiment.

Conclusion. Hypertrophy of major salivary glands, caused by multiple amputations of incisors, has similar to sialoadenectomy effect on the spermatogenic epithelium. Multiple incisors' amputation cause transient depression of granular convoluted cells function. Probably submandibular gland granular convoluted tubules cells endocrine factors make the greatest contribution to the regulation of spermatogenesis in rats.

Key words: spermatogenesis, Sertoli cells, salivary glands, hypertrophy.

Conflict of interest. Authors declare no actual or potential conflict of interest related to publication of this manuscript.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study approved by the local ethics committee under Siberian State Medical University (Protocol No. 4253 of 28.09.2015).

For citation: Ivanova V.V., Tikhonov D.I., Mil'to I.V., Serebrjakova O.N., Gereng E.A., Pleshko R.I. The effect of major salivary glands hypertrophy on rat's spermatogenic epithelium ultrastructure. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 29–35. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-29-35>.

ВВЕДЕНИЕ

Большие слюнные железы являются дуакринными железами [1]: их экзокринную функцию связывают с пищеварением, вкусовой рецепцией, неспецифической иммунной защитой, экскрецией и

речеобразованием; их эндокринное воздействие показано на органы системы кроветворения и иммуногенеза, кожу, эпителиоциты нефрона, хрящи, а также гонады [2, 3]. Взаимное влияние слюнных и половых желез известно у многих животных, в том числе у человека. Показано, что комплексное обследование

позволяет у 100% пациентов с гипогонадизмом (как мужчин, так и женщин) диагностировать интерстициальную форму синдаденоза [4]. Наиболее удобной моделью для изучения взаимного влияния гонад и слюнных желез являются грызуны из-за выраженного морфологического и биохимического полового диморфизма их больших слюнных желез. В связи с этим целью настоящего исследования явилось выяснение особенностей эндокринного влияния больших слюнных желез на сперматогенез крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Половозрелые белые беспородные самцы крыс (возраст 2 мес, масса тела 153 ± 18 г) составили следующие группы (в каждой по 30 особей): интактная (ИН), контрольная (К) и группа крыс, подвергшихся многократной ампутации резцов (АР). Крысам группы АР моделировали гипертрофию больших слюнных желез посредством многократной ампутации резцов [5]: резцы (нижние и верхние) подрезали под эфирным наркозом до уровня 1–2 мм выше десневого края один раз в 3 дня в течение 2 нед (итого пять ампутаций). Животные группы К в аналогичные сроки подвергались наркотизации диэтиловым эфиром. Выведение из эксперимента осуществляли асфиксией CO_2 на 2-, 3-, 4-, 6-, 8- и 10-ю нед после первой ампутации резцов.

Фрагменты семенников животных 24 ч фиксировали в 4%-м параформальдегиде (Serva, Германия), затем 3 ч – в 1%-м OsO_4 (SPI, США) при 4 °C, pH 7,4. Образцы заливали в смесь эпоксидных смол Epon 812 : Araldite 502 : DDSA (SPI, США). Ультратонкие

срезы (80 нм) получали на ультратоме (Leica EM UC 7 (Leica, Австрия) и контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца для исследования на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1400 (JEOL, Япония). На электронограммах методом точечного счета анализировали удельный объем вакуолизации цитоплазмы sustentocитов, сперматогоний, сперматоцитов и сперматид (усл. ед.) при помощи программы ImageJ 1.48 (NIH Image, США). В сперматогониях, сперматоцитах и сперматиде оценивали количество митохондрий (%) с морфологическими признаками набухания (рассчитывали исходя из анализа 200 митохондрий).

Статистическая обработка количественных данных проведена с помощью критериев Шапиро – Уилка, Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса с использованием SPSS 17.0 (IBM, США). Результаты морфометрического исследования представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1; Q_3)$, уровень значимости принят как $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В извитых семенных канальцах крыс групп ИН и К sustentocиты и все популяции герминативных клеток определялись во все исследуемые сроки, однако у животных группы АР сперматозоиды в просветах извитых семенных канальцев обнаруживались, начиная с 3-й нед эксперимента. У крыс группы К ультроструктура sustentocитов и сперматогенных клеток в исследуемые сроки не отличалась от таковой у интактных животных (табл. 1, 2).

Таблица 1

Удельный объем вакуолизации цитоплазмы, усл. ед., $Me (Q_1; Q_3)$												
Срок эксперимента, нед	Сустентоциты			Сперматогонии			Сперматоциты			Сперматиды		
	ИН	К	АР	ИН	К	АР	ИН	К	АР	ИН	К	АР
2-я	0 (0; 1,5)	0 (0; 1,2)	36,8 (24,7; 45,0)*	0 (0; 4,8)	0 (0; 3,6)	9,9 (5,6; 18,1)*	0 (0; 4,2)	0 (0; 1,6)	10,2 (7,1; 14,4)*	0 (0; 1,6)	0 (0; 2,1)	10,0 (7,3; 25,9)*
3-я	0 (0; 2,1)	0 (0; 2,6)	37,9 (14,5; 44,2)*	0 (0; 1,6)	0 (0; 4,5)	4,2 (2,4; 9,7)	0 (0; 2,6)	0 (0; 2,0)	6,9 (0,9; 9,9)	0 (0; 2,5)	0 (0; 1,0)	10,7 (5,1; 22,8)*
4-я	0 (0; 1,2)	0 (0; 1,6)	16,1 (14,7; 21,6)*#	0 (0; 3,7)	0 (0; 0,6)	2,0 (0; 4,1)	0 (0; 1,4)	0 (0; 1,6)	3,8 (0; 16,0)	0 (0; 1,5)	0 (0; 2,1)	6,2 (1,0; 14,8)*
6-я	0 (0; 0,8)	0 (0; 1,4)	0 (0; 6,7)*	0 (0; 0,7)	0 (0; 1,0)	0 (0; 1,6)	0 (0; 2,0)	0 (0; 0,7)	0 (0; 1,6)	0 (0; 0,9)	0 (0; 1,2)	0 (0; 3,1)
8-я	0 (0; 0,6)	0 (0; 1,6)	0 (0; 1,1)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 1,3)	0 (0; 2,3)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 1,6)
10-я	0 (0; 1,0)	0 (0; 0,6)	0 (0; 0,8)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0,7)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Примечание. ИН – интактная группа, К – контрольная группа, АР – группа крыс, подвергшихся многократной ампутации резцов (здесь и в табл. 2).

* отличие показателя от соответствующего показателя интактной группы, $p < 0,05$. # разница показателя с таковым на предыдущем сроке внутри группы, $p < 0,05$ (здесь и в табл. 2).

На 2–4-й нед эксперимента у крыс группы АР в цитоплазме суспендоцитов определялись фагосомы и фаголизосомы, а также обнаруживалась вакуолизация цитоплазмы (рис., *a*). Наблюдаемые вакуоли представляли собой расширенные цистерны эндоплазматического ретикулума (ЭПР). Выраженность вакуолизации максимальна на 2–3-й нед, снижалась с течением времени и полностью нивелировалась к 6-й нед эксперимента ($p < 0,05$; см. табл. 1). В сперматогониях, сперматоцитах I и II порядка крыс группы АР на 2-й нед эксперимента наблюдалась вакуолизация цитоплазмы ($p < 0,05$; см. табл. 1).

Набухание митохондрий, которое идентифицировали как уменьшение количества и размеров крист, расширение матрикса и появление в нем везикулярных структур [6], наблюдалось в сперматогониях на 2–3-й нед, в сперматоцитах – на 2–4-й нед после первой ампутации резцов ($p < 0,05$; см. табл. 2; рис., *b*). Описанные выше ультраструктурные изменения сперматогоний, развивающиеся в ответ на многократную ампутацию резцов, полностью нивелировались к 4-й нед, сперматоцитов – к 6-й нед эксперимента.

На 2–4-й нед эксперимента у крыс группы АР ранние и поздние сперматиды характеризовались набуханием митохондрий ($p < 0,05$; см. табл. 2), а также деструкцией их мембран. В ранних сперматидеях на 2–3-й нед также детектировалось расширение цистерн ЭПР и комплекса Гольджи ($p < 0,05$; табл. 1; рис., *b*). Структурные изменения сперматид, вызванные многократной ампутацией резцов, нивелировались к 6-й нед эксперимента.

У крыс группы АР в сперматогенном эпителии на 2–3 нед эксперимента наблюдались отдельные герминативные клетки с признаками деструкции ядра (фрагментация хроматина, его конденсация по периферии ядра) и цитоплазмы (разрушение мембранных органелл). Клетки с признаками деструкции – округлой формы, адлюминальной локализации (см. рис. 1, *d*), что позволяет идентифицировать их как сперматоциты или ранние сперматиды. Начиная с 4-й нед эксперимента, в извитых семенных канальцах крыс группы АР сперматогенные клетки с признаками деструкции не определялись.

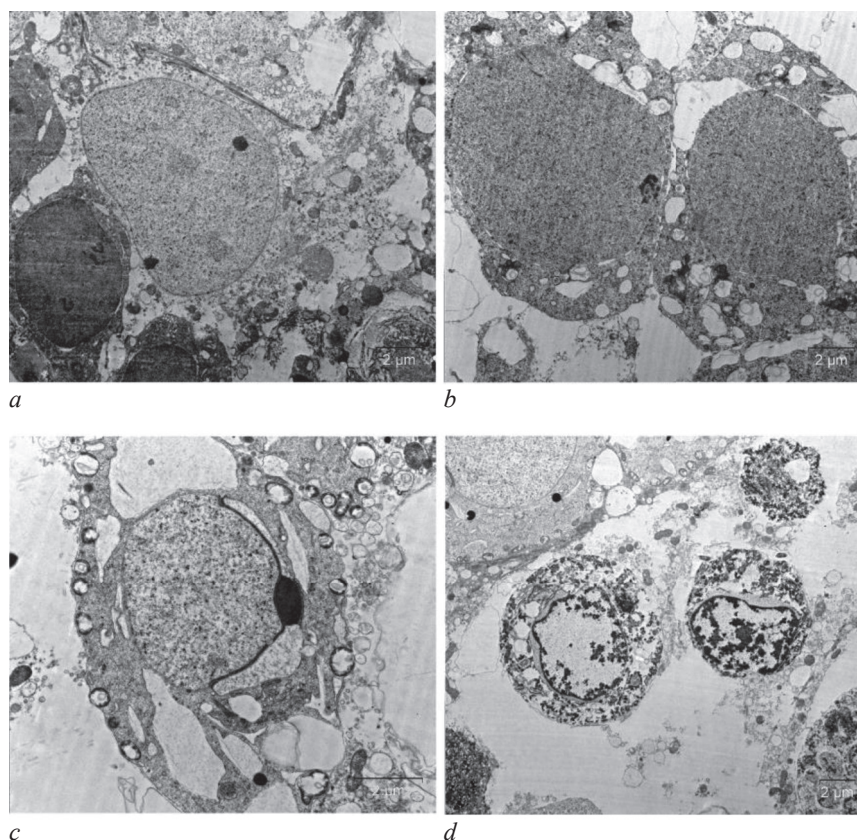


Рисунок. Фрагмент извитого семенного канальца половозрелой крысы, подвергшейся многократной ампутации резцов: *a* – вакуолизация цитоплазмы суспендоцита; *b* – вакуолизация цитоплазмы, расширение перинуклеарного пространства и альтерация митохондрий сперматоцитов I порядка; *c* – вакуолизация цитоплазмы и деструкция мембран митохондрий ранней сперматиды; *d* – сперматогенные клетки с признаками деструкции ядра и цитоплазмы; трансмиссионная электронная микроскопия; 2-я нед (*a*, *d*) и 4-я нед эксперимента (*b*, *c*)

Таблица 2

Срок эксперимента, нед	Доля митохондрий с признаками набухания, %, $Me (Q_1; Q_3)$								
	Сперматогонии			Сперматоциты			Сперматиды		
	ИН	К	АР	ИН	К	АР	ИН	К	АР
2-я	0 (0; 2,8)	0 (0; 2,5)	8,0 (5,0; 11,0)*	0 (0; 2,4)	0 (0; 2,5)	25,6 (17,2; 39,2)*	0 (0; 4,1)	0 (0; 6,4)	36,8 (30,4; 47,0)*
3-я	0 (0; 2,5)	0 (0; 2,2)	10,0 (6,6; 11,9)*	0 (0; 2,1)	0 (0; 4,4)	32,0 (20,4; 37,3)*	1,4 (0; 5,3)	0 (0; 2,8)	31,8 (26,2; 39,1)*
4-я	0 (0; 3,2)	0 (0; 1,3)	0 (0; 3,7)#	0 (0; 3,2)	0 (0; 4,0)	14,7 (6,0; 25,2)*#	0 (0; 7,1)	0 (0; 2,2)	24,5 (14,1; 29,8)*#
6-я	0 (0; 2,8)	0 (0; 3,1)	0 (0; 1,6)	0 (0; 1,9)	0 (0; 3,8)	4,0 (1,5; 8,9)#	0 (0; 3,1)	0 (0; 6,5)	6,0 (1,5; 10,3)#
8-я	0 (0; 2,2)	0 (0; 2,0)	0 (0; 2,6)	0 (0; 1,5)	0 (0; 0,8)	0 (0; 4,6)	0 (0; 1,6)	0 (0; 2,0)	0 (0; 0,5)
10-я	0 (0; 0,5)	0 (0; 1,0)	0 (0; 1,5)	0 (0; 0,5)	0 (0; 0,5)	0 (0; 0)	0 (0; 0,5)	0 (0; 0,7)	0 (0; 0)

В исследуемые сроки мы не наблюдали изменения морфологии сперматозоидов и перитубулярных миоидных клеток крыс в ответ на многократную ампутацию резцов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами показано, что удаление больших слюнных желез приводит к ультраструктурным изменениям сперматогенного эпителия неполовозрелых крыс [3]. Однако осталось неясно, какие именно структуры больших слюнных желез являются источником факторов, оказывающих наибольшее влияние на семенники. Силорфин и паротин, к примеру, вырабатываются ацинусами поднижнечелюстных и околоушных желез соответственно [7]. Эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста α и β , напротив, продуцируются клетками протоков поднижнечелюстных желез [8]. Все вышеперечисленные, а возможно, и некоторые неназванные биологически активные факторы больших слюнных желез, оказывают влияние на спермато- и стероидогенез. Многократная ампутация резцов вызывает гипертрофию исключительно эпителиоцитов ацинусов больших слюнных желез, не сопровождающуюся, однако, гиперфункцией [9]. Напротив, многократная ампутация резцов приводит к угнетению функционального состояния клеток гранулярных извитых трубок поднижнечелюстных желез [9]. Таким образом, выбранная экспериментальная модель позволит оценить вклад ацинусов и протоков больших слюнных желез в эндокринную регуляцию сперматогенеза.

Вакуолизации цитоплазмы сустентоцитов является неспецифическим ответом на повреждение [10] и свидетельствует о нарушении метаболизма клетки [11]. Сустентоциты участвуют в регуляции сперматогенеза паракринно (ингибин, акти-

вин, антимюллеров гормон), а также посредством контактного взаимодействия с герминативными клетками [12]. Сустентоциты являются лабильным элементом гемато-тестикулярного барьера и принимают участие в формировании микроокружения для развивающихся половых клеток [12]. Нарушение функционирования сустентоцитов неизбежно влечет за собой дисрегуляцию сперматогенеза.

Ультраструктурные изменения сперматогенных клеток, развивающиеся в ответ на многократную ампутацию резцов, затрагивают энергетический и синтетический аппараты клетки. Набухание и деструкция митохондрий (2–4-я нед) в сперматогенных клетках крыс группы АР свидетельствуют о снижении в них интенсивности энергетических процессов. Митохондрии в половых клетках выполняют множество функций: участвуют в инициации апоптоза дефектных герминативных клеток, обеспечении подвижности сперматозоидов, а контролируемая выработка ими активных радикалов необходима для адекватного протекания капацитации и акросомальной реакции [13]. Дефекты ультраструктуры митохондрий ассоциированы с нарушением функционирования сперматозоидов [13]. Альтерация митохондрий сопряжена с чрезмерной продукцией активных радикалов – потенциальных индукторов вакуолизации цитоплазмы. Повреждение мембраны и ферментных систем гранулярного ЭПР является причиной нарушения фолдинга и деградации белков, что приводит к расширению люмена его цистерн [14, 15].

Сперматиды и сперматоциты являются наиболее чувствительными сперматогенными клетками к изменениям, вызванным многократной ампутацией резцов. В части сперматогенных клеток ультраструктурные изменения принимают необратимый

характер: наличие герминативных клеток с признаками деструкции (2–3-я нед), отсутствие сперматозоидов (2-я нед) в извитых семенных канальцах указывают на невозможность адекватного течения фазы созревания и формирования сперматогенеза у крыс в ранние сроки после достижения гипертрофии больших слюнных желез путем многократной ампутации резцов. Определяемые в цитоплазме sustentоцитов на 2–4-й нед эксперимента фаголизосомы, вероятно, представляют собой результат поглощения фрагментов разрушенных сперматогенных клеток.

Наблюдаемые в ответ на многократную ампутацию резцов ультраструктурные изменения sustentоцитов и сперматогенных клеток схожи с таковыми, развивающимися после сиалоаденэктомии [3]. Так как многократная ампутация резцов приводит к гипертрофии ацинусов, по уменьшению количества и угнетению функциональной активности клеток протоков поднижнечелюстных желез [9] можно предположить, что именно гранулярные извитые трубки поднижнечелюстных желез являются источниками факторов, оказывающих наибольшее влияние на сперматогенный эпителий. Угнетение синтетической и секреторной активности клеток гранулярных извитых трубок поднижнечелюстных желез приводит к развитию ультраструктурных изменений клеток в составе извитых семенных канальцев. Эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста α и β и другие биологически активные факторы эпителиоцитов протоков поднижнечелюстных желез могут оказывать непосредственное или опосредованное sustentоцитами и интерстициальными эндокриноцитами семенника влияние на герминативные клетки. Стоит отметить потенциальную возможность эндокринного действия больших слюнных желез на сперматогенез опосредованно через центральные и периферические эндокринные железы. Биологически активные вещества гранулярных извитых трубок поднижнечелюстных желез крыс продуцируются и большими слюнными железами человека. Выяснение эндокринных взаимодействий слюнных и половых желез человека является перспективной задачей.

Изменение морфологии и функционального статуса эпителиоцитов ацинусов и протоков больших слюнных желез крыс в ответ на многократную ампутацию резцов носит преходящий характер [9]. Этим объясняется постепенное снижение выраженности морфологических изменений сперматогенного эпителия и полная нормализация ультраструктуры sustentоцитов и герминативных клеток к 6-й нед эксперимента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами показано, что многократная ампутация резцов вызывает преходящие ультраструктурные изменения sustentоцитов и сперматогенных клеток половозрелых крыс, аналогичные наблюдаемым в результате сиалоаденэктомии. Эндокринные факторы, вносящие наибольший вклад в регуляцию сперматогенеза у крыс, вырабатываются клетками гранулярных извитых трубок. Вещества, продуцируемые эпителиоцитами ацинусов больших слюнных желез крыс, вероятно, оказывают менее мощное воздействие на сперматогенный эпителий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Perez P., Rowzee A.M., Zheng C., Adriaansen J., Baum B.J. Salivary epithelial cells: an unassuming target site for gene therapeutics. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2010; 42 (6): 773–777. DOI: 10.1016/j.biocel.2010.02.012.
2. Сукманский О.И. Биологически активные вещества слюнных желез. Киев: Здоровье, 1991: 112.
3. Иванова В.В., Мильто И.В., Суходоло И.В., Усов В.Ю. Влияние сиалоаденэктомии на становление сперматогенеза у крыс: ультраструктурная характеристика сперматогенного эпителия и клеток Лейдига. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2018; 166 (12): 773–777.
4. Афанасьев В.В., Калинин С.Ю., Винокурова О.Ю., Ордашев Х.А., Дамадаев М.М. Состояние слюнных желез у больных гипогонадизмом. *Российский стоматологический журнал.* 2017; 21 (3): 137–140. DOI: 10.18821/1728-2802-2017-21-3-137-140.
5. Wells H., Zackin S.J., Goldhaber P., Munson P.L. Increase in weight of the submandibular salivary glands of rats following periodic amputation of the erupted portion of the incisor teeth. *Am. J. Physiol.* 1959; 196: 827–830. DOI: 10.1152/ajplegacy.1959.196.4.827.
6. Sun M.G., Williams J., Munoz-Pinedo C., Perkins G.A., Brown J.M., Ellisman M.H., Green D.R., Frey T.G. Correlated three-dimensional light and electron microscopy reveals transformation of mitochondria during apoptosis. *Nat. Cell Biol.* 2007; 9 (9): 1057–1065. DOI: 10.1038/ncb1630.
7. Rougeot C., Rosinski-Chupin I., Mathison R. Rodent submandibular gland peptide hormones and other biologically active peptides. *Peptides.* 2000; 21 (3): 443–455. DOI: 10.1016/S0196-9781(00)00158-3.
8. Mori M., Sumitomo S., Shrestha P., Tanaka S., Takai Y., Shikimori M. Multifunctional roles of growth factors or biologically active peptides in salivary glands and saliva. *Oral Medicine & Pathology.* 2008; 12 (4): 115–123. DOI: 10.3353/omp.12.115.
9. Иванова В.В., Мильто И.В., Суходоло И.В. Морфофункциональное состояние эпителиоцитов поднижнечелюстных слюнных желез на фоне многократной ампутации резцов у половозрелых крыс. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018; 17 (1): 53–58. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-53-58.
10. Creasy D.M. Pathogenesis of male reproductive toxicity.

- ty. *Toxicol. Pathol.* 2001; 29 (1): 64–76. DOI: 10.1080/019262301301418865.
11. Creasy D., Bube A., de Rijk E., Kandori H., Kuwahara M., Masson R., Nolte T., Reams R., Regan K., Rehm S., Rogerson P., Whitney K. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse male reproductive system. *Toxicol. Pathol.* 2012; 40 (6): 40–121. DOI: 10.1177/0192623312454337.
 12. Franca L.R., Hess R.A., Dufour J.M., Hofmann M.C., Griswold M.D. The Sertoli cell: one hundred fifty years of beauty and plasticity. *Andrology.* 2016; 4 (2): 189–212. DOI: 10.1111/andr.12165.
 13. Amaral A., Lourenco B., Marques M., Ramalho-Santos J. Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction.* 2013; 146 (5): 163–174. DOI: 10.1530/REP-13-0178.
 14. Lemus L., Goder V. Regulation of endoplasmic reticulum associated protein degradation (ERAD) by ubiquitin. *Cells.* 2014; 3 (3): 824–847. DOI: 10.3390/cells3030824.
 15. Shubin A.V., Demidyuk I.V., Komissarov A.A., Rafieva L.M., Kostrov S.V. Cytoplasmic vacuolization in cell death and survival. *Oncotarget.* 2016; 7 (34): 55863–55898. DOI: 10.18632/oncotarget.10150.

Вклад авторов

Иванова В.В. – анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи. Тихонов Д.И., Серебрякова О.Н. – анализ и интерпретация данных. Мильто И.В. – разработка концепции и дизайна исследования. Геренг Е.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Плешко Р.И. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Благодарности

Авторы благодарят сотрудников ЦКП «Нанотех» Института физики прочности и материаловедения (г. Томск), а также группу микроскопических исследований Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск).

Сведения об авторах

Иванова Вера Владимировна, ассистент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2530-1112.

Тихонов Дмитрий Игоревич, студент VI курса, СибГМУ, г. Томск.

Мильто Иван Васильевич, д-р биол. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск; зав. отделом молекулярной и клеточной радиобиологии, Северский биофизический научный центр, Томская обл., г. Северск. ORCID 0000-0002-9764-4392.

Серебрякова Ольга Николаевна, врач, отделение клинической лабораторной диагностики, Норильская городская больница № 2, г. Норильск.

Геренг Елена Андреевна, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7226-0328.

Плешко Раиса Ивановна, д-р медицинских наук, профессор, профессор кафедры морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-8845-2086.

(✉) **Иванова Вера Владимировна**, e-mail: ivvera92@rambler.ru.

Поступила в редакцию 02.04.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Влияние клинических и терапевтических показателей на выраженность нейрокогнитивного дефицита у пациентов с шизофренией

Корнетова Е.Г.¹, Гончарова А.А.¹, Дмитриева Е.Г.¹, Аржаник А.А.², Корнетов А.Н.³, Семке А.В.¹

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

² Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ)
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить связь клинических и терапевтических показателей с выраженностью нейрокогнитивного дефицита у пациентов с шизофренией.

Материалы и методы. Были обследованы 118 пациентов с шизофренией в возрасте 34 [29; 41] лет, с длительностью заболевания – 10 [4; 16] лет. Конвенциональные антипсихотические препараты (КАП) получали 33 пациента (28%), атипичные антипсихотические препараты (ААП) – 85 (72%) пациентов. В качестве сопутствующей терапии 58 человек (49,1%) принимали тригексифенидил, не принимали его 60 человек (50,9%). Оценка когнитивных функций проведена всем пациентам по шкале краткой оценки когнитивных функций у пациентов с шизофренией (Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, BACS), клинико-психопатологической симптоматики – с использованием шкалы позитивных и негативных синдромов (Positive and Negative Syndrome Scale, PANSS). Статистический анализ полученных данных выполнен с использованием критерия Краскела – Уоллиса ANOVA с процедурой множественного сравнения, критерия χ^2 Пирсона и кластерного анализа методом K-средних.

Результаты. Нейрокогнитивный дефицит образовал три кластера нарушений, отличающихся между собой клинической выраженностью: 1) легкий, 2) умеренно выраженный, 3) выраженный. По субшкале позитивных симптомов PANSS пациенты с легким нейрокогнитивным дефицитом имели меньший средний суммарный балл по сравнению с больными с выраженным нейрокогнитивным дефицитом ($p = 0,011$), которые, в свою очередь, значимо дольше получали антипсихотическую терапию по сравнению с пациентами с умеренным ($p = 0,014$) и легким ($p = 0,01$) нейрокогнитивным дефицитом. При этом длительность приема КАП не различалась между кластерами, следовательно, имеющиеся результаты по антипсихотикам в целом получены за счет ААП ($p = 0,005$ и $p = 0,001$ соответственно). Тригексифенидил не оказал влияния на выраженность нейрокогнитивного дефицита.

Заключение. Выраженность позитивных симптомов шизофрении была ниже у пациентов с легким нейрокогнитивным дефицитом. Наиболее выраженные нейрокогнитивные нарушения отмечаются у пациентов, получающих ААП.

Ключевые слова: шизофрения, нейрокогнитивный дефицит, антипсихотики, тригексифенидил.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 18-315-20019 «Новые подходы к генетике клинического полиморфизма и нейрокогнитивного дефицита при шизофрении».

Соответствие принципам этики. Все лица, вошедшие в исследование, подписали письменное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья, Томского НИМЦа (протокол № 99 от 17.04.2017).

Для цитирования: Корнетова Е.Г., Гончарова А.А., Дмитриева Е.Г., Аржаник А.А., Корнетов А.Н., Семке А.В. Влияние клинических и терапевтических показателей на выраженность нейрокогнитивного дефицита у пациентов с шизофренией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 36–43. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-36-43>.

Influence of clinical and therapeutic indicators on the severity of neurocognitive deficits in patients with schizophrenia

Kornetova E.G.¹, Goncharova A.A.¹, Dmitrieva E.G.¹, Arzhanik A.A.², Kornetov A.N.³, Semke A.V.¹

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

² Saint-Petersburg State University 7/9, Universitetskaya Emb., Saint-Petersburg, 199034, Russian Federation

³ Siberian State Medical University 2, Moscow Trakt, 634055, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the association of clinical and therapeutic parameters with the severity of the neurocognitive deficits in patients with schizophrenia.

Materials and methods. We examined 118 patients with schizophrenia, aged 34 [29; 41] years, and with a disease duration of 10 [4; 16] years. 33 patients (28%) received conventional antipsychotic drugs (CAD), and 85 (72%) patients received atypical antipsychotic drugs (AAD). As concomitant therapy, 58 people (49.1%) took trihexyphenidyl, 60 people did not take it (50.9%). Assessment of cognitive functions was carried out for all patients using the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS), and clinical psychopathological symptomatology was evaluated using the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). Statistical analysis of the data was performed using the Kruskal-Wallis test ANOVA with the multiple comparison procedure, the Pearson's chi-squared test, and K-means cluster analysis.

Results. Neurocognitive deficits formed three clusters of disturbances that differ in clinical severity: 1) mild, 2) moderate, 3) severe. According to the subscale of positive PANSS symptoms, patients with mild neurocognitive deficits had a lower average total score compared to patients with severe neurocognitive deficits ($p = 0.011$), who, in turn, received significantly longer antipsychotic therapy compared with patients with moderate ($p = 0.014$) and mild ($p = 0.01$) neurocognitive deficits. Herewith, the duration of CAD treatment did not differ between clusters; consequently, the obtained results on antipsychotics as a whole were obtained due to AAD ($p = 0.005$ and $p = 0.001$, respectively). Trihexyphenidyl did not affect the severity of neurocognitive deficits.

Conclusion. The severity of positive symptoms of schizophrenia was lower in patients with mild neurocognitive deficits. The most pronounced neurocognitive deficits are observed in patients receiving AAD.

Key words: schizophrenia, neurocognitive deficits, antipsychotics, trihexyphenidyl.

Conflict of interests. The authors declare no obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was conducted with the support from the grant of RFBR 18-315-20019 "New approaches to the genetics of clinical polymorphism and neurocognitive deficits in schizophrenia".

Conformity with the principles of ethics. All the people included in the study gave their written informed consent. The study was approved by the ethics committee of Mental Health Research Institute of Tomsk National Research Medical Center (Protocol No. 99 of 17.04.2017).

For citation: Kornetova E.G., Goncharova A.A., Dmitrieva E.G., Arzhanik A.A., Kornetov A.N., Semke A.V. Influence of clinical and therapeutic indicators on the severity of neurocognitive deficits in patients with schizophrenia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 36–43. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-3-36-43](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-36-43).

ВВЕДЕНИЕ

Существующие в настоящее время антипсихотические препараты являются в основном антагонистами рецепторов дофамина второго типа и способны вызывать экстрапирамидные нежелательные явления [1]. Для их купирования в психиатрической практике широко используются антихолинергические препараты. Однако они сами могут провоцировать развитие различных периферических побочных эффектов, таких как сухость во рту, нарушения мочеиспускания и запоры, и центральных – когнитивные нарушения, ухудшение симптомов поздней дискинезии и возникновение делирия [2]. Когнитивные нарушения развиваются на самых ранних стадиях шизофренического процесса и составляют основную часть функциональных проблем, связанных с болезнью. Вероятно, что длительное одновременное применение антипсихотических и антихолинергических препаратов усугубляет основные когнитивные нарушения у пациентов с шизофренией, что в конечном итоге влияет на качество их жизни [3]. Таким образом, современные руководства по лечению шизофрении обычно не рекомендуют профилактическое и длительное применение антихолинергических препаратов. Тем не менее в ряде стран имело место широкое долгосрочное использование антихолинергических препаратов одновременно с антипсихотическими препаратами [3–5].

Результаты изучения данной проблемы носят неоднозначный характер. Ряд исследований последних 10 лет говорит о благоприятном влиянии антихолинергических препаратов на когнитивные функции пациентов с шизофренией [4, 6, 7]. В более раннем исследовании, посвященном возможному влиянию антихолинергических препаратов на остаточные шизофренические симптомы, показано, что антипсихотические препараты и тригексифенидил в комбинации оказывают положительное влияние на память и внимание пациентов [8].

Однако в современных работах содержится больше данных, свидетельствующих о неблагоприятном воздействии антихолинергических средств на когнитивные функции пациентов с шизофренией, либо об

отсутствии такого влияния [5, 9, 10]. Так, S. Ogino и соавт. [3] выявили, что прекращение длительного приема препаратов данной группы может улучшить объективные показатели когнитивных функций и субъективные характеристики качества жизни у пациентов с хронической шизофренией.

В исследовании S. Eum и соавт. [10] изучено влияние общей антихолинергической нагрузки, возникающей при совместном применении антихолинергических и антипсихотических препаратов на когнитивные функции пациентов с психотическими расстройствами и шизофренией в том числе. Согласно этим данным, общая антихолинергическая нагрузка была обратно пропорциональна уровню когнитивной деятельности, особенно она влияла на ухудшение вербальной памяти. Несмотря на схожую общую антихолинергическую нагрузку в группах с различными психотическими расстройствами, у пациентов с шизофренией была выявлена повышенная когнитивная восприимчивость к антихолинергическим препаратам.

В ряде исследований выявлено улучшение когнитивных функций различной степени на фоне применения антипсихотиков второго поколения при терапии длительно текущей шизофрении или первого психотического эпизода. Отмечен положительный эффект клозапина, рисперидона, оланзапина, кветиапина, сертиндола, арипипразола на различные аспекты когнитивного функционирования. В то же время ряд авторов считает, что в настоящее время нет убедительных свидетельств о большей эффективности антипсихотиков второго поколения в отношении когнитивных нарушений по сравнению с антипсихотиками первого поколения [4, 6].

В рутинной клинической психиатрической практике во многих странах врачами-психиатрами продолжает широко использоваться совместное применение антипсихотических и антихолинергических препаратов для лечения шизофрении. В связи с этим возникает необходимость дальнейшего изучения эффектов длительного совместного применения данных групп препаратов при лечении шизофрении.

Цель исследования: оценить связь клинических и терапевтических показателей с выраженностью нейрокогнитивного дефицита у пациентов с шизофренией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены лица, находящиеся на стационарном лечении в клиниках Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук и Областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Томская клиническая психиатрическая больница». Критериями включения в исследование являлись: возраст пациентов 18–60 лет, верифицированный диагноз шизофрении по критериям для исследований МКБ-10 [11], способность дать письменное информированное согласие. Критериями невключения являлись наличие нарушений органических, неврологических и тяжелых соматических расстройств, приводящих к органной недостаточности, отказ от участия в исследовании. Исследование осуществлено в соответствии с этическими стандартами, разработанными в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266.

Таким образом, в исследовании приняли участие 118 пациентов больных шизофренией (60 мужчин и 58 женщин) в возрасте – 34 [29; 41] лет, длительность заболевания – 10 [4; 16] лет, возраст манифестации шизофренического процесса – 23 [20; 29] года. Все пациенты на момент включения в исследование получали базисную терапию препаратами из группы антипсихотиков в терапевтических дозировках, одобренных Минздравом России.

На основании рецепторного профиля базисной антипсихотической терапии пациенты были разделены на группы: получающие конвенциональные антипсихотики (КАП) – 33 (28%) и атипичные антипсихотические препараты (ААП) – 85 (72%). Все дозы принимаемой терапии были приведены к единообразию в перерасчете на хлорпромазиновый эквивалент (CPZeq) [12], общая антипсихотическая нагрузка составила 320 [160; 598,5]; для КАП – 416,9 [160; 1000], для ААП – 300 [199,9; 428,1].

Также было учтено назначение тригексифенидила: пациентов, получающих его в качестве сопутствующей терапии, было 58 (49,1%) человек, не получающих – 60 (50,9%). Длительность приема тригексифенидила составила 2 [0,5; 4] года. В данном исследовании в силу его наблюдательного характера не учитывались причины и цель назначения тригексифенидила в ходе лечения пациентов, а оценивался

факт назначения антихолинергического препарата, как вероятно способного оказывать влияние на когнитивный дефицит у пациентов с шизофренией.

Все лица, включенные в исследование, прошли обследование с использованием шкалы краткой оценки когнитивных функций у пациентов с шизофренией (Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, BACS) [13], в адаптированной русскоязычной версии [14]. Набор заданий данной шкалы («Заучивание списка слов», «Последовательность чисел», «Двигательный тест с фишками», «Речевая беглость», «Шифровка», «Башня Лондона») позволяет оценить параметры, соответственно, последовательности приведенного списка: вербальная память, рабочая память, моторные функции, скорость обработки информации, внимание и скорость обработки информации, исполнительные функции/мышление и проблемно-решающее поведение.

Объективная оценка тяжести клинико-психопатологической симптоматики была выполнена с использованием Шкалы позитивных и негативных синдромов (Positive and Negative Syndrome Scale, PANSS) [15] в адаптированной русской версии SCI-PANSS [16].

Полученные данные прошли проверку на соответствие распределения с нормальным законом с помощью критериев Колмогорова – Смирнова (с поправкой Лиллиефорса) и критерия Шапиро – Уилка. Данные с нормальным типом распределения представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения $M \pm SD$, при отсутствии нормального распределения данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Качественные данные представлены частотными показателями n (%). При сравнении нескольких независимых выборок количественных данных, имеющих распределение отличное от нормального, использовался критерий Краскела – Уоллиса ANOVA с процедурой множественного сравнения. Для сопоставления частот использован критерий χ^2 Пирсона. Для выделения вариантов выраженности нейрокогнитивного дефицита (НКД) применен кластерный анализ методом K -средних. Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения Statistica for Windows (V. 12.0). Пороговое значение достигнутого уровня значимости p было принято равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нейрокогнитивный дефицит образовал три кластера нарушений, зарегистрированных по всем субшкалам BACS, которые отличались между собой клинической выраженностью: 1) легкий, 2) умеренно выраженный, 3) выраженный. Соответственно, паци-

енты по степени его выраженности были стратифицированы следующим образом (рис., табл. 1): 1-й кластер (37 (31,4%)), 2-й кластер (51 (43,2%)) и 3-й кластер (30 (25,4%)). Для всех кластеров результаты дисперсионного анализа говорят о хорошем качестве кластеризации ($p < 0,0001$). Далее была выполнена оценка связи клинических и терапевтических показателей на выраженность НКД в выделенных кластерах.

Возраст манифестации шизофренического процесса и давность заболевания не имели различий между

кластерами, вместе с тем возраст пациентов на момент включения в исследование имел значимые различия между 2-м и 3-м кластерами, $p = 0,024$ (табл. 2).

Оценка влияния актуального психического состояния по субшкале позитивных симптомов PANSS показала, что имеющие легкий НКД имели меньший средний суммарный балл позитивных симптомов по сравнению с пациентами с выраженным НКД, у которых отмечалось преобладание позитивного симптомокомплекса, $p = 0,011$ (табл. 3).

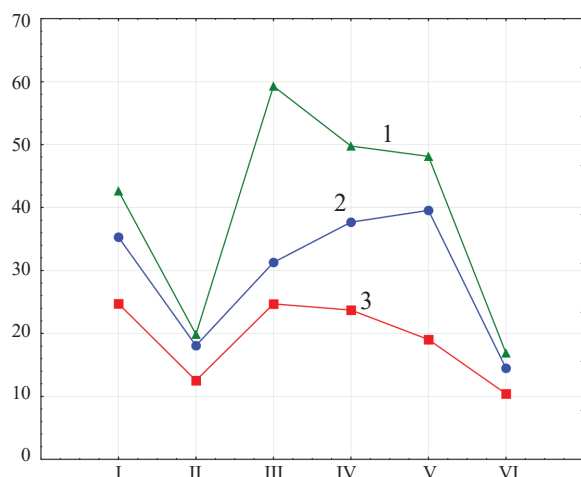


Рисунок. Когнитивный профиль выделенных вариантов выраженности нейрокогнитивного дефицита по BACS в группе пациентов с шизофренией: I – запоминание списка слов, II – последовательность чисел, III – двигательный тест с фишками, IV – речевая беглость, V – «шифровка», VI – «башня Лондона»; 1 – 1-й кластер, 2 – 2-й кластер, 3 – 3-й кластер

Таблица 1

Описательная статистика для выделенных кластеров, $M \pm SD$			
Показатель	1-й кластер, $n = 37$ (31,4%)	2-й кластер, $n = 51$ (43,2%)	3-й кластер, $n = 30$ (25,4%)
Заучивание списка слов	$42,6 \pm 11,4$	$35,3 \pm 9,5$	$24,7 \pm 9,1$
Последовательность чисел	$19,8 \pm 3,8$	$18,1 \pm 4,7$	$12,5 \pm 4,8$
Двигательный тест с фишками	$59,2 \pm 11,6$	$31,3 \pm 13,3$	$24,6 \pm 11,6$
Речевая беглость	$49,7 \pm 11,5$	$37,6 \pm 9,7$	$23,7 \pm 8,1$
Шифровка	$48,1 \pm 12,4$	$39,6 \pm 9,7$	$19,0 \pm 8,9$
Башня Лондона	$16,8 \pm 2,3$	$14,5 \pm 4,7$	$10,4 \pm 5,8$

Таблица 2

Клинические показатели в зависимости от выраженности НКД по BACS, $Me [Q_1; Q_3]$				
Показатель	1-й кластер, $n = 37$ (31,4%)	2-й кластер, $n = 51$ (43,2%)	3-й кластер, $n = 30$ (25,4%)	p (1–2; 1–3; 2–3)
Возраст, лет	35 [29; 39]	32 [28; 38]	37,5 [33; 53]	1,0; 0,167; 0,024
Возраст манифестации, лет	26 [20; 29]	22 [19; 27]	23,5 [20; 29]	0,588; 1,0; 1,0
Срок заболевания, лет	10 [4; 14]	8 [2; 16]	13,5 [5; 22]	1,0; 0,118; 0,073

Таблица 3

Показатели PANSS в зависимости от выраженности НКД по BACS, $Me [Q_1; Q_3]$				
Показатель	1-й кластер, $n = 37$ (31,4%)	2-й кластер, $n = 51$ (43,2%)	3-й кластер, $n = 30$ (25,4%)	p (1–2; 1–3; 2–3)
Позитивные симптомы	19 [16; 22]	21 [15; 25]	23 [20; 27]	0,626; 0,011; 0,166
Негативные симптомы	25 [23; 28]	25 [21; 28]	26,5 [22; 30]	1,0; 1,0; 0,485
Общеспихо-патологические симптомы	54 [48; 60]	54 [48; 58]	55,5 [49; 61]	1,0; 1,0; 0,807
Общий балл	100 [92; 107]	100 [86; 109]	107,5 [94; 114]	1,0; 0,227; 0,199

При оценке влияния приема тригексифенидила на выраженность НКД был использован χ^2 Пирсона, статистически значимые различия не установле-

ны. Длительность приема тригексифенидила была оценена у 58 пациентов на основании анамнестических данных, включая медицинскую документацию,

длительность приема оценивалась в годах. Различий между кластерами не установлено. Также кластеры выраженности НКД у пациентов с шизофренией не различались в зависимости от принимаемой базисной антипсихотической терапии препаратов из групп КАП или ААП. Оценка общей антипсихотической нагрузки показала, что CPZeq не различался как между кластерами, так и в группах пациентов, получавших в качестве базисной терапии КАП и ААП.

Длительность принимаемой базисной терапии имела различия между кластерами 1 и 3 ($p = 0,01$), а также 2 и 3 ($p = 0,014$), что свидетельствует о более выраженном нейрокognитивном дефиците у пациентов, длительно получающих антипсихотическую терапию (табл. 4).

Таблица 4

Длительность базисной антипсихотической терапии в зависимости от выраженности НКД по BACS, Ме [Q_1 ; Q_3]				
Показатель	1-й кластер, $n = 37$ (31,4%)	2-й кластер, $n = 51$ (43,2%)	3-й кластер, $n = 30$ (25,4%)	p (1–2; 1–3; 2–3)
Длительность базисной терапии, лет	3 [0,5; 5]	3 [1; 5]	7 [3; 17]	1,0; 0,01; 0,014

Длительность приема КАП не различалась в кластерах выраженности НКД, т. е. имеющиеся результаты по антипсихотикам в целом получены за счет ААП: 1–3-й кластеры – $p = 0,001$, 2–3-й кластеры – $p = 0,005$ (табл. 5).

Таблица 5

Выраженность НКД по BACS в зависимости от длительности приема конвенциональных и атипичных антипсихотиков, лет, Ме [Q_1 ; Q_3]				
Длительность приема	1-й кластер, $n = 37$ (31,4%)	2-й кластер, $n = 51$ (43,2%)	3-й кластер, $n = 30$ (25,4%)	p (1–2; 1–3; 2–3)
КАП	5,5 [2,5; 10,5]	3 [1; 8]	8,5 [0,3; 20]	1,0; 1,0; 1,0
ААП	3 [0,3; 4]	3 [0,8; 5]	7 [4; 13,5]	1,0; 0,001; 0,005

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время наряду со сложившейся дихотомической теорией шизофрении о выделении позитивного и негативного синдромов когнитивный симптомокомплекс рассматривается как третья составляющая расстройства [2], а когнитивное функционирование пациентов все больше входит в поле зрения исследователей не только в области клинической и биологической психиатрии [17, 18], но и соматической медицины [19].

Использование антихолинергических препаратов для лечения нежелательных двигательных явлений

антипсихотической терапии оказывает негативное влияние на когнитивные функции пациентов с шизофренией [9, 20], также как общий показатель антихолинергической нагрузки [10]. Внимание к данному вопросу должно быть усилено с учетом соматического состояния больных и потенциального влияния антихолинергических средств в сочетании с другими препаратами, используемыми в психиатрии, на сердечно-сосудистую систему [21], поскольку кардиоваскулярные заболевания сами вызывают когнитивные нарушения. Полученные нами результаты не показали влияния приема тригексифенидила на выраженность НКД у больных шизофренией и имеют некоторые ограничения, так как было оценено влияние конкретного препарата, а не общей холинергической нагрузки. Также не учитывался прием соматических препаратов с аналогичным эффектом. Тем не менее в современной литературе этот вопрос практически не обсуждается, а исследования о влиянии комбинации антипсихотиков и антихолинергических средств единичны [3, 6, 22].

Существующее предположение о влиянии антипсихотических препаратов на когнитивные функции пациентов с шизофренией укоренилось в психиатрическом сообществе. Так, прием КАП связывают с негативным воздействием на когнитивные функции, а использование ААП – с их улучшением [7, 23], однако данный факт оспаривается [4]. В нашем исследовании мы не обнаружили различий в выраженности НКД у пациентов, которые получали КАП или ААП в качестве базисной терапии.

Метаанализ A.L. Mishara, T.E. Goldberg [24] продемонстрировал, что КАП в целом оказывает умеренное благоприятное действие на когнитивные функции, в то же время доза приема препаратов не влияет на когнитивные функции, что было обнаружено и в нашем исследовании. Использование препаратов третьей генерации связывают со множеством преимуществ, в том числе и с их положительным влиянием на когнитивные функции [25].

Установлено, что чем дольше пациент получает антипсихотическую терапию, тем более выражен НКД, однако давность заболевания, которая тесно связана со стажем приема поддерживающей терапии, в нашей выборке не оказывала такого значимого влияния. Длительность приема ААП также была связана с более выраженным НКД, что не отмечено у пациентов, получающих КАП, но длительность их приема была больше. Обнаруженные нами данные о более выраженном НКД при увеличении длительности базисной антипсихотической терапии у пациентов, получающих именно ААП, представляется интересным, так как имеющиеся длительные наблюдения

за ходом лечения пациентов шизофренией показали, что после 8 нед лечения не выявлено каких-либо различий в когнитивных показателях у больных шизофренией, получающих КАП и ААП [26].

Наличие в клинической картине шизофрении негативных симптомов и нейрокогнитивного дефицита имеет относительно постоянный характер в отличие от позитивных симптомов, которые могут варьировать во время болезни. Снижение балла по субшкале негативных и позитивных симптомов PANSS было связано с улучшением в выполнении заданий BACS у пациентов с шизофренией [27]. Следует отметить, что пациенты, включенные в исследование, находились в активной фазе болезни, поэтому показатели PANSS необходимо сопоставлять также с результатами схожих исследований, выполненных в период ремиссии [28].

Полученные нами различия по субшкале позитивных симптомов PANSS у лиц с выраженным НКД по сравнению с пациентами с легким НКД согласуются с данными в отношении длительности приема базисной антипсихотической терапии. Вероятно, выбор в назначении ААП был связан с более тяжелым актуальным психическим состоянием и преобладанием в клинической картине бреда и галлюцинаций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Влияние тригексифенидила и атипичных антипсихотиков второго поколения на когнитивные показатели у пациентов с шизофренией остается открытым вопросом и требует дальнейшего изучения и рассмотрения с учетом общей лекарственной нагрузки. Ожидается, что пациенты лучше выполняли задания BACS на фоне приема ААП, однако длительный прием данной группы препаратов был связан с более выраженным НКД у пациентов с шизофренией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Servonnet A., Samaha A.N. Antipsychotic-evoked dopamine supersensitivity. *Neuropharmacology*. 2020; 163: 107630. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2019.05.007.
2. Stepnicki P., Kondej M., Kaczor A.A. Current concepts and treatments of schizophrenia. *Molecules*. 2018; 23(8): e2087. DOI: 10.3390/molecules23082087.
3. Ogino S., Miyamoto S., Tenjin T., Kitajima R., Ojima K., Miyake N. Effects of discontinuation of long-term biperiden use on cognitive function and quality of life in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2011; 35: 78–83. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.08.030.
4. Keefe R.S.E., Harvey P.D. Cognitive impairment in schizophrenia. *Handbook of Experimental Pharmacology. Novel Antischizophrenia Treatments*, 2012: 11–37. DOI: 10.1007/978-3-642-25758-2_2.
5. Wojtalik J.A., Eack S.M., Pollock B.G., Keshavan M.S. Prefrontal gray matter morphology mediates the association between serum anticholinergic activity and cognitive functioning in early course schizophrenia. *Psychiatry Research*. 2012; 204 (2–3): 61–67. DOI: 10.1016/j.psychres.2012.04.014.
6. Desmarais J.E., Beauclair L., Annable L., Belanger M.C., Kolivakis T.T., Margolese H.C. Effects of discontinuing anticholinergic treatment on movement disorders, cognition and psychopathology in patients with schizophrenia. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*. 2014; 4 (6): 257–267. DOI: 10.1177/2045125314553611.
7. Jann M.W. Implications for atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: neurocognition effects and a neuroprotective hypothesis. *Pharmacotherapy*. 2004; 24: 1759–1783. DOI: 10.1592/phco.24.17.1759.52346.
8. Tandon R., Greden J.F., Silk K.R. Treatment of negative schizophrenic symptoms with trihexyphenidyl. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 1988; 8 (3): 212–215.
9. Baitz H.A., Thornton A.E., Procyshyn R.M., Smith G.N., MacEwan G.W., Kopala L.C., Barr A.M., Lang D.J., Honer W.G. Antipsychotic medications: linking receptor antagonism to neuropsychological functioning in first episode psychosis. *Journal of the International Neuropsychological Society*. 2012; 18: 717–727. DOI: 10.1017/S1355617712000343.
10. Eum S., Hill S.K., Rubin L.H., Carnahan R.M., Reilly J.L., Ivleva E.I., Keedy S.K., Tamminga C.A., Pearlson G.D., Clementz B.A., Gershon E.S., Keshavan M.S., Keefe R.S.E., Sweeney J.A., Bishop J.R. Cognitive burden of anticholinergic medications in psychotic disorders. *Schizophrenia Research*. 2017; 190: 129–135. DOI: 10.1016/j.schres.2017.03.034.
11. World Health Organization: The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders – Diagnostic Criteria for Research. Geneva: WHO, 1993.
12. Andreasen N.C., Pressler M., Nopoulos P., Miller D., Ho B.C. Antipsychotic dose equivalents and dose-years: a standardized method for comparing exposure to different drugs. *Biological Psychiatry*. 2010; 67: 255–262. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.08.040.
13. Keefe R.S., Harvey P.D., Goldberg T.E. Norms and standardization of the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS). *Schizophrenia Research*. 2008; 102 (1–3): 108–115. DOI: 10.1016/j.schres.2008.03.024.
14. Саркисян Г.Р., Гурович И.Я., Киф Р.С. Нормативные данные для российской популяции и стандартизация шкалы «Краткая оценка когнитивных функций у пациентов с шизофренией». *Социальная и клиническая психиатрия*. 2010; 20 (3): 13–19.
15. Kay S.R., Fiszbein A., Opler L.A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*. 1987; 13 (2): 261–276. DOI: 10.1093/schbul/13.2.261.
16. Мосолов С. Н. Шкалы психометрической оценки симптоматики шизофрении и концепция позитивных и негативных расстройств. М., 2001: 238.
17. Мельников М.Е., Безматерных Д.Д., Петровский Е.Д., Козлова Л.И., Штарк М.Б., Савелов А.А., Шубина О.С., Натарева К.А. Время реакции в ответ на эмоциональные стимулы (включая фотопортреты с различной мимикой) в ходе фМРТ-исследования лиц с легкой и умеренной депрессией, дистимией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 130–138. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-130-138.

18. Поляков В.М., Рычкова Л.В., Белогорова Т.А., Михнович В.И., Бугун О.В., Бердина О.Н., Прохорова Ж.В., Тетерина Т.А., Лебедева Л.Н., Колесникова Л.И. Влияние применения L-триптофана на динамику когнитивных функций в комплексной терапии задержек психоречевого развития у детей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (2): 71–79. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-2-71-79.
19. Лебедева Е.В., Горохов А.С., Счастный Е.Д., Репин А.Н., Симуткин Г.Г., Шишнев Е.В., Перчаткин В.А., Суровцева А.К., Винтер Ш., Карпов Р.С., Бохан Н.А. Динамика когнитивной дисфункции и биохимического маркера повреждения ЦНС S100β при коронарном шунтировании. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (4): 72–84. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-72-84.
20. Brébion G., Bressan R.A., Amador X., Malaspina D., Gorman J.M. Medications and verbal memory impairment in schizophrenia: the role of anticholinergic drugs. *Psychological Medicine*. 2004; 34 (2): 369–374. DOI: 10.1017/s0033291703008900.
21. Останко В.Л., Калачева Т.П., Калюжина Е.В., Лившиц И.К., Шаловой А.А., Черногорюк Г.Э., Беспалова И.Д., Юнусов Р.Ш., Лукашова Л.В., Помогаева А.П., Тепляков А.Т., Калюжин В.В. Биологические маркеры в стратификации риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (4): 264–280. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-264-280.
22. Lupu A.M., Clinebell K., Gannon J.M., Ellison J.C., Chengappa K.N.R. Reducing anticholinergic medication burden in patients with psychotic or bipolar disorders. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2017; 78 (9): e1270–e1275. DOI: 10.4088/JCP.16m11269.
23. Harvey P.D. Cognitive and functional effects of atypical antipsychotic medications. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2006; 67: e13. DOI: 10.4088/JCP.1006e13.
24. Mishara A.L., Goldberg T.E. A meta-analysis and critical review of the effects of conventional neuroleptic treatment on cognition in schizophrenia: opening a closed book. *Biological Psychiatry*. 2004; 55: 1013–1022. DOI: 10.1016/j.biopsych.2004.01.027.
25. Mariyan K., Topolov M.K., Getova D.P. Cognitive impairment in schizophrenia, neurotransmitters and the new atypical antipsychotic aripiprazole. *Folia Medica*. 2016; 58 (1): 12–18. DOI: 10.1515/folmed-2016-0002.
26. Nielsen R.E., Levander S., Kjaersdam T.G., Jensen S.O., Ostergaard Ch.T., Leucht S. Second-generation antipsychotic effect on cognition in patients with schizophrenia – A meta-analysis of randomized clinical trials. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2015; 131 (3): 185–196. DOI: 10.1111/acps.12374.
27. Keefe R.S.E., Harvey P.D., Khan A., Saoud J.B., Staner C., Davidson M., Luthringer R. Cognitive Effects of MIN-101 in Patients with Schizophrenia and Negative Symptoms: Results from a Randomized Controlled Trial. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2018; 79 (3). DOI: 10.4088/JCP.17m11753.
28. Шмуклер А.Б., Семенова Е.А. Возрастные особенности нейрокогнитивного дефицита у больных шизофренией и расстройствами шизофренического спектра на начальных этапах заболевания. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2013; 23 (4): 19–23.

Вклад авторов

Корнетова Е.Г. – разработка дизайна и концепции исследования, написание статьи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Гончарова А.А. – клинико-психопатологическое и психометрическое обследование выборки, статистическая обработка данных, анализ литературы по теме исследования, написание статьи. Дмитриева Е.Г. – психометрическое обследование выборки, написание статьи, анализ литературы по теме исследования. Аржанник А.А. – статистическая обработка данных. Корнетов А.Н. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Семке А.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Корнетова Елена Георгиевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-5179-9727.

Гончарова Анастасия Александровна, аспирант, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5260-5245.

Дмитриева Екатерина Георгиевна, научный сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7261-3434.

Аржанник Александра Алексеевна, студент, СПбГУ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-4378-272X.

Корнетов Александр Николаевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальной психологии и поведенческой медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2342-7504.

Семке Аркадий Валентинович, д-р мед. наук, профессор, зав. отделением эндогенных расстройств, зам. директора по научной и лечебной работе, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-8698-0251.

(✉) **Корнетов Александр Николаевич**, e-mail: alkornetov@gmail.com.

Поступила в редакцию 16.01.2020

Подписана в печать 16.06.2020

Оценка факторов, влияющих на приверженность к лечению ингибитором натрий-глюкозного ко-транспортера 2-го типа

Лебедев Д.А., Мосикян А.А., Бабенко А.Ю.

Институт эндокринологии, Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. В.А. Алмазова
Россия, 194156, г. Санкт-Петербург, пр. Пархоменко, 15

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Несмотря на появление новых групп препаратов для лечения сахарного диабета 2-го типа (СД2), вопрос оптимального соблюдения режимов терапии остается в центре внимания.

Цель. Изучить факторы, влияющие на приверженность к лечению ингибитором натрий-глюкозного ко-транспортера 2-го типа – эмпаглифлозином (Джардинс, Берингер Ингельхейм, Германия) у пациентов с СД2.

Материалы и методы. В исследование были включены 102 пациента с СД2 (из них 58 женщин), время наблюдения – 24 нед. Средний возраст составил $(58,3 \pm 10,4)$ лет.

Результаты. Пациенты без нарушения когнитивных функций имели меньший уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) – 7,76 (6,18–9,34)%, чем пациенты с деменцией легкой степени выраженности – 8,51 (7,02–10)%, $p = 0,032$. В группе пациентов, которые отметили невозможность приобретения даже части препаратов, уровень HbA1c составил 9,73 (8,95–10,51)%, в то время как пациенты, не испытывающие финансовых затруднений в приобретении препаратов, имели HbA1c 8,83 (7,85–9,81)%, $p = 0,036$. Терапия эмпаглифлозином была прекращена у 38,2% пациентов по следующим причинам: стоимость препарата – 16,6%, развитие побочных эффектов – 10,7%, отсутствие эффективности от терапии в виде улучшения гликемического контроля – 7,8%, другие причины – 2,9%.

Заключение. Таким образом, основными причинами, влияющими на продолжение лечения, оказались финансовые затруднения в приобретении препарата, возникновение побочных эффектов и отсутствие эффективности от терапии. При этом возможность приобретать всю необходимую терапию ассоциировалась как с лучшим гликемическим контролем, так и более высоким качеством жизни.

Ключевые слова: сахарный диабет, приверженность к лечению, ингибиторы натрий-глюкозного ко-транспортера 2-го типа, эмпаглифлозин.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 17-75-30052.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НМИЦ им. В.А. Алмазова (протокол № 63 от 14.04.2014).

Для цитирования: Лебедев Д.А., Мосикян А.А., Бабенко А.Ю. Оценка факторов, влияющих на приверженность к лечению ингибитором натрий-глюкозного ко-транспортера 2-го типа. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 44–51. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-44-51>.

Evaluation of factors influencing adherence to treatment with sodium-glucose cotransporter type 2 inhibitor

Lebedev D.A., Mosikian A.A., Babenko A.Yu.

*Institute of Endocrinology, Almazov National Medical Research Center
15, Parkhomenko Str., Saint-Petersburg, 194156, Russian Federation*

ABSTRACT

Despite the emergence of new groups of drugs for the treatment of type 2 diabetes mellitus (DM2), the issue of optimal adherence to treatment remains of interest.

The aim of this study was to investigate the factors that influence the adherence to treatment with sodium glucose co-transporter type 2 inhibitor, empagliflozin (Jardiance, Boehringer Ingelheim, Germany), in patients with DM2.

Materials and methods. The study included 102 patients with DM2 (58 of them were women); the observation time was 24 weeks. The mean age was 58.3 ± 10.4 years.

Results. Patients without cognitive impairment had a lower level of glycated hemoglobin (HbA1c) (7.76%, 6.18–9.34) than patients with mild dementia (8.51%, 7.02–10; $p = 0.032$). In the group of patients who noted the impossibility of purchasing even a part of the drugs, the level of HbA1c was 9.73% (8.95–10.51), while patients who had no difficulties in purchasing drugs HbA1c was 8.83% (7.85–9.81; $p = 0.036$). Empagliflozin was discontinued in 38.2% of patients for the following reasons: cost of the drug (16.6%), development of side effects (10.7%), lack of effectiveness (7.8%), other reasons (2.9%).

Conclusion. Thus, the main factors influencing the adherence to treatment were the cost of the drug, development of adverse events, and lack of effectiveness from the therapy. At the same time, the opportunity of purchasing all the necessary drugs was associated with both better glycemic control and a higher quality of life.

Key words: diabetes mellitus, adherence to treatment, sodium glucose co-transporter type 2 inhibitor, empagliflozin.

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

Source of financing. The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, grant No. 17-75-30052.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee of Almazov National Medical Research Center (Protocol No. 63 of 14.04.2014).

For citation: Lebedev D.A., Mosikian A.A., Babenko A.Yu. Evaluation of factors influencing adherence to treatment with sodium-glucose cotransporter type 2 inhibitor. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 44–51. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-44-51>.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) является одним из самых распространенных неинфекционных заболеваний во всем мире. В 2017 г., по некоторым оценкам, 425 млн человек во всем мире имели СД, что соответствует глобальной распространенности в 8,3% [1]. При этом большинство случаев приходится на сахарный диабет типа 2 (СД2), который является серьезной проблемой общественного здравоохранения, поскольку требует больших финансовых и социальных издержек для лечения его хронических осложнений, таких как нефропатия, ретинопатия, нейропатия. В конечном итоге эти осложнения могут привести к терми-

нальной почечной недостаточности, потере зрения и ампутации нижних конечностей. Риск смерти от сердечно-сосудистых или цереброваскулярных событий значительно выше в популяции пациентов с СД2 по сравнению с людьми без диабета [2].

В клинической практике поддержание целевых значений гликированного гемоглобина (HbA1c) остается основной терапевтической целью для профилактики осложнений, связанных с СД2, в особенности микрососудистых. Данные представления основаны на результатах трех крупных экспериментальных исследований – ACCORD, ADVANCE и VADT, а также исследования UKPDS, которые

показали, что более низкие уровни HbA1c связаны с более поздним началом и прогрессированием микрососудистых осложнений [3–6].

Несмотря на то, что лекарственная терапия СД2 достигла существенного развития в последние годы, имеет место ряд факторов, которые снижают эффективность этой терапии. Со стороны пациентов к таким факторам относятся низкая осведомленность о заболевании и недостаточное соблюдение режимов лечения [7, 8].

Приверженность к терапии является важной детерминантой исходов у пациентов с хроническими заболеваниями. Так, в 2003 г. Всемирная организация здравоохранения отметила, что «повышение эффективности вмешательств в отношении приверженности к лечению может оказывать гораздо большее влияние на здоровье населения, чем любое улучшение конкретных видов лечения» [9]. По-прежнему большинство исследований указывают на то, что приверженность к лечению лекарственными препаратами остается, в лучшем случае, субоптимальной у пациентов со многими хроническими заболеваниями, включая СД2 [10–14]. В 2004 г. J.A. Cramer опубликовал систематический обзор, в котором сравнивались показатели приверженности к антигипергликемическим препаратам и инсулину [15]. Результаты этого обзора показали, что многие пациенты с диабетом не придерживались рекомендованной фармакотерапии, что приводило к неоптимальному контролю гликемии. Также в обзоре по приверженности к лечению при сахарном диабете было показано, что уровень образования пациента, особенно в вопросах самоуправления лечением, является наиболее важным фактором, предсказывающим улучшение гликемического контроля, а также качества жизни и исходов [16]. Среди причин неоптимальной приверженности к лечению сахарного диабета указывались такие факторы, как сложность режимов приема препаратов и нежелательные явления, связанные с лечением. Метаанализ, который включал 40 исследований, опубликованных с 2005 по 2015 г., показал, что только 67,9% пациентов с СД2 были привержены к их антигипергликемическим препаратам [17]. При этом известно, что для пациентов с диабетом соблюдение приема препаратов связано с лучшим гликемическим контролем, более низким уровнем госпитализаций, затратами на здравоохранение и более низкой смертностью [18].

Несмотря на появление на рынке целого ряда новых антигипергликемических препаратов, характеризующихся высокой эффективностью и в основном хорошей переносимостью, вопрос приверженности остается актуальным. Предполагается,

что существует положительная связь между приверженностью к лечению, знаниями пациента о своем заболевании и уровнем его HbA1c, в немногих исследованиях антигипергликемических препаратов фактически оценивалась связь между описанными переменными и проводился анализ факторов, влияющих на эти процессы [19, 20]. В настоящем исследовании изучены факторы, влияющие на приверженность к лечению ингибитором натрий-глюкозного ко-транспортера 2-го типа (ИНГТ2) эмпаглифлозином (Джардинс, Берингер Ингельхайм, Германия) у пациентов с СД2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены пациенты с СД2 (мужчины и женщины в возрасте 18–70 лет), которым впервые назначался ИНГТ2 эмпаглифлозин в суточной дозе 10 мг. Все пациенты подписывали информированное согласие. Обязательным условием была стабильная сахароснижающая терапия в течение как минимум 12 нед до включения в исследование. К критериям невключения относились: наличие сахарного диабета 1-го типа, острый коронарный синдром (ОКС), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) в последние 2 мес, пациенты с подтвержденными заболеваниями почек (гломерулонефрит, пиелонефрит, амилоидоз) или с хронической болезнью почек со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) <45 мл/мин/1,73 м². Также в исследование не включались пациенты с язвами нижних конечностей в рамках синдрома диабетической стопы и те пациенты, которым выполнялись бариатрические операции и проводилось лечение препаратами для снижения массы тела в последние 3 мес.

В начале исследования собиралась информация о пациенте: возраст, пол, уровень образования, рост и масса тела (с расчетом индекса массы тела), продолжительность диабета, наличие хронических осложнений диабета с указанием стадий ретинопатии и нефропатии, наличие в анамнезе инфекций мочевыводящих путей и инфекций половых органов. Кроме того, оценивались такие показатели, как артериальное давление (АД), частота сердечных сокращений (ЧСС), HbA1c, глюкоза в плазме натощак, креатинин крови с расчетом, СКФ. В ходе первого визита пациенты заполняли опросник EQ-5D для оценки качества жизни; для выявления и определения тяжести депрессии и тревоги использовалась Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS). Также у всех пациентов проводилась оценка когнитивного статуса с помощью Краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE). Пациенты дополнительно заполняли анкету, включавшую вопросы об индивидуальных

особенностях течения заболевания, наличии хронических осложнений диабета, вопросы, позволяющие оценить уровень доверия пациентов к лечащему врачу и информированность о своем заболевании.

Время наблюдения составило 24 нед, в ходе исследования оценивалась динамика лабораторных (HbA1c, креатинин, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, липопротеины низкой плотности (ЛПНП)) и клинических показателей (АД, ЧСС), заполнялись те же опросники, что и во время первого визита, а также анализировалась представленная пациентами медицинская документация на предмет развития инфекций мочевыводящих путей и инфекций половых органов, сердечно-сосудистых событий (острого инфаркта миокарда, ОКС, ОНМК, госпитализаций по поводу диабетического кетоацидоза). За время исследования фиксировались данные по развитию побочных явлений, факт прекращения лечения с указанием причины отказа от продолжения лечения.

Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Качественные признаки представлены в виде n (%), количественные – при нормальном распределении в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$), при асимметричном – в виде медианы и интерквартильного размаха Me (Q_{25} – Q_{75}). Для сравнения количественных данных использовался U -критерий Манна – Уитни. Корреляционный коэффициент Спирмена использовался для выявления взаимосвязей между факторами. Выявленные результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В общей сложности в исследование было включено 102 пациента с СД2 (из них 58 женщин). Средний возраст составил ($58,3 \pm 10,4$) лет (таблица).

Таблица

Исходные характеристики пациентов	
Параметр	Значение
Средний возраст, лет, $M \pm SD$	$58,3 \pm 10,4$
Женщины, n (%)	58 (56,8)
Мужчины, n (%)	44 (43,2)
Продолжительность диабета, лет, $M \pm SD$	$9,2 \pm 4,5$
Индекс массы тела, $кг/м^2$	$28,6 \pm 5,5$
Скорость клубочковой фильтрации, $мл/мин/1,73 м^2$, $M \pm SD$	$69,7 \pm 20,7$
>60 $мл/мин/1,73 м^2$, n (%)	58 (55,8)
<60 $мл/мин/1,73 м^2$, n (%)	44 (44,2)
Гликированный гемоглобин, %, $M \pm SD$	$8,8 \pm 1,6$

На момент включения в исследование 36,2% пациентов помимо пероральной сахароснижающей терапии получали препараты инсулина, а 23,5% – метформин в виде монотерапии.

Среди всех пациентов 64,7% имели высшее образование, 29,4% – среднее специальное образование. При сравнении уровней гликированного гемоглобина через 24 нед лечения в этих двух группах, значимых различий не выявлено – 8,2 (7,3–9,1)% и 8,4 (7,4–9,3)% соответственно, $p > 0,05$. Однако пациенты без нарушения когнитивных функций (24–30 баллов по шкале MMSE) имели меньший уровень HbA1c – 7,7 (6,2–9,3)%, чем пациенты с деменцией легкой степени выраженности (20–23 балла) – HbA1c 8,5 (7,1–10)%, $p = 0,032$.

Средний уровень HbA1c через 24 нед лечения составил 8,4 (7,2–8,9)% у пациентов, которые отметили, что не пропускают приема препаратов, а у пациентов, указавших, что пропускают прием несколько раз в месяц и чаще, – 9,3 (7,6–10,8)%, $p = 0,026$. Также выявлена взаимосвязь между исходным уровнем HbA1c и возможностью приобретать препараты: в группе пациентов, которые отметили невозможность приобретения даже части препаратов, уровень HbA1c составил 9,7 (8,9–10,5)%, в то время как пациенты, не испытывающие финансовых затруднений в приобретении препаратов, имели HbA1c 8,8 (7,8–9,8)%, $p = 0,036$. Аналогичные различия сохранялись через 24 нед терапии – 9,5 (8,7–10,3) и 7,9 (6,8–8,7)% соответственно, $p = 0,027$. При оценке липидного профиля исходный уровень ЛПНП составил 3,9 (2,7–4,7) ммоль/л для группы пациентов, испытывавшей затруднения в приобретении препаратов, и 2,8 (2,2–3,3) ммоль/л для группы, которые такие затруднения не испытывали.

Качество жизни, оцененное пациентом самостоятельно по визуально-аналоговой шкале в рамках опросника EQ-5D, положительно коррелировало с суммарным баллом по шкале MMSE ($p = 0,002$; $r = 0,69$). При этом качество жизни пациентов, которые отмечали возможность приобретать лекарственные препараты, было значимо выше – 62,5 (48,4; 75,3), чем у пациентов, которые имели сложности с приобретением даже части препаратов – 43,9 (30,1; 59,7), $p < 0,001$. В свою очередь, получена отрицательная корреляция между уровнем HbA1c и качеством жизни по данным опросника EQ-5D ($p < 0,001$; $r = 0,51$). При анализе результатов шкалы HADS выявлена положительная корреляция между уровнем тревоги и значениями HbA1c ($p < 0,001$; $r = 0,51$). Также слабая, но статистически значимая положительная корреляция была обнаружена между уровнем депрессии по шкале HADS и уровнем HbA1c ($p = 0,016$; $r = 0,31$).

Терапия эмпаглифлозином была прекращена у 39 (38,2%) пациентов по следующим причинам: стоимость препарата (17 пациентов, 16,6%), развитие побочных эффектов (11 пациентов, 10,7%), отсутствие эффективности от терапии в виде улучшения гликемического контроля (8 пациентов, 7,8%), другие причины (3 пациента, 2,9%). Среди пациентов, отменивших лечение в связи с финансовыми сложностями, 70% перестали приобретать препарат в первые 90 дней терапии. Наиболее часто развивавшимися нежелательными явлениями были урогенитальные инфекции (15,7%), из которых подавляющее наблюдалось у лиц женского пола (76,4% всех урогенитальных инфекций), легкие гипогликемии – 8,8%, гипотензия – 5,8%. У четырех пациентов имело место рецидивирование урогенитальных инфекций (>1 раза), при этом отмена терапии в связи повторяющимися эпизодами вульвовагинита потребовалась у двух пациентов женского пола.

ОБСУЖДЕНИЕ

С низкой приверженностью к лечению связан целый ряд факторов. Среди них социально-экономические факторы и факторы, связанные с терапией, пациентом и медицинским персоналом [21]. Многие из этих факторов могут быть взаимосвязаны, что делает сложным выявление основных причин несоблюдения рекомендаций. Например, пациенты могут сообщать, что они «забыли принять лекарство из-за занятости» в повседневной жизни, когда на самом деле у них отсутствует мотивация принимать препарат. Это может быть связано с отсутствием понимания необходимости приема препарата, обеспокоенностью по поводу неблагоприятных явлений, невозможностью приобретения или какой-либо другой причиной, перевешивающей преимущества, которые, по их мнению, будут возникать при приеме лекарства. Даже простой факт приема лекарств на ежедневной основе может влиять на плохую приверженность, напоминая пациентам, что они больны [22].

Поскольку пациенты, по данным нашего исследования, в основном отмечали хороший контакт со своим врачом, а опрос медицинского персонала не проводился, оценка вклада медицинского персонала в приверженность к лечению на основе полученных данных не представляется возможной. В одном исследовании, проведенном в Северной Калифорнии с участием 9 тыс. пациентов, было показано, что пациенты, которые выставили более низкие оценки докторам по уровню доверия, имели более низкую приверженность [23]. В ряде работ указывается, что к факторам, которые снижают эффективность лечения со стороны медицинского персонала, относят не-

достаточное вовлечение пациента в принятие решений относительно терапии и непонимание проблем, которые возникают у пациентов в ходе лечения. Так, по результатам нашего исследования, финансовые вопросы лечения с пациентами обсуждали только 34,3% врачей. Кроме того, формированию доверительных отношений между врачом и пациентом способствуют такие факторы, как открытость, эмоциональная поддержка, предоставление ясной и полной информации и возможность для пациента задать интересующие его вопросы [24].

Социальные и экономические факторы влияют на степень приверженности к лечению пациентов с хроническими заболеваниями, в том числе и с сахарным диабетом. Недавно было проведено исследование в виде телефонного опроса, которое оценивало частоту отказов от продолжения лечения антигипергликемическими препаратами. Из более чем 1 200 пациентов с СД2 около 16% сообщили об отмене терапии в связи со стоимостью препарата, при этом разделения по группам препаратов не проводилось [25]. Между тем стоимость различных препаратов варьирует в широком диапазоне, и, соответственно, при назначении дорогостоящих препаратов отказ от терапии по финансовой причине будет происходить гораздо чаще, чем при назначении препаратов с низкой стоимостью. В нашем исследовании оценивался вклад этой причины в приверженность к терапии конкретным препаратом – эмпаглифлозином. Частота отказа по финансовой причине составила 16,6%, т.е. препарат имеет среднюю частоту отмены терапии по финансовой причине. При этом пациенты, испытывающие финансовые сложности при покупке препаратов, имели значимо более высокие уровни HbA1c как исходно, так и через 24 нед лечения эмпаглифлозином, а также более высокие уровни ЛПНП и более низкое качество жизни. Полученные результаты свидетельствуют о том, что стоимость лекарственных средств является важным фактором, вносящим вклад в низкую приверженность к лечению.

Сложность соблюдения режима лечения и высокая частота приема препарата в течение суток также определяют приверженность к терапии. В нескольких исследованиях было описано влияние частоты дозирования на соблюдение рекомендаций по лечению [22, 26]. Анализ данных пациентов с фибрилляцией предсердий и артериальной гипертензией показал, что пациенты с однократным суточным приемом препарата имели на 26% более высокие показатели приверженности, чем при приеме препарата 2 раза в сутки [26]. Эти данные свидетельствуют о значительном вкладе режима дозирования в приверженность к лекарственным средствам у пациентов

с сахарным диабетом и другими хроническими заболеваниями. В настоящем исследовании не проводилась оценка частоты приема препарата, так как эмпаглифлозин всегда принимается однократно, и такой режим дозирования может положительно сказываться на соблюдении терапии.

Переносимость и безопасность лекарственных средств также влияют на приверженность к терапии. Влияние нежелательных явлений пероральных сахароснижающих препаратов на приверженность оценивалась в исследовании RECAP-DM [25]. Исследование включало 1 709 пациентов, получавших монотерапию метформином, к которой добавлялись препараты сульфонилмочевины либо тиазолидиндионы. По результатам исследования, пациенты с эпизодами гипогликемии чаще пропускали прием препарата и отказывались от продолжения лечения. Эти пациенты оценивали эффективность, удобство и удовлетворенность лечением значительно ниже, чем пациенты, которые не испытывали гипогликемических состояний. Что касается результатов настоящего исследования, развитие гипогликемических состояний на фоне приема эмпаглифлозина наблюдалось у 8,8% пациентов. Все эти пациенты получали инсулинотерапию, и возникла необходимость коррекции доз инсулина после назначения эмпаглифлозина. Между тем развитие гипогликемических состояний не привело к отмене препарата ни у одного пациента. Более частым побочным эффектом были урогенитальные инфекции, которые наблюдались у 15,7% пациентов. В клинических исследованиях частота генитальных инфекций для эмпаглифлозина составила 5% против 1% в группе плацебо), встречаемость инфекций мочевыводящих путей в группе эмпаглифлозина 10 мг, 25 мг и группе плацебо была сходной (9,8; 10,4 и 9,3% соответственно) [27]. В настоящем исследовании отмечалась более высокая частота урогенитальных инфекций по сравнению с рандомизированными контролируемыми исследованиями. Это может объясняться тем, что только 64,5% лечащих врачей рассказывали пациентам про возможные побочные эффекты и давали рекомендации по их профилактике. Среди пациентов, у которых отказ от продолжения лечения был связан с развитием побочных эффектов, 72,7% самостоятельно отменили терапию в связи с однократным эпизодом урогенитальной инфекции. Между тем отменять терапию ИНГТ2 рекомендуется только в случае рецидивирования урогенитальной инфекции.

Помимо социально-экономических факторов, особенностей терапии и факторов, связанных с лечащими врачами, индивидуальные характеристики пациентов также вносят вклад в низкую привержен-

ность к лечению. Низкий уровень знаний о своем заболевании в ряде работ рассматривается как потенциальный барьер для оптимального соблюдения терапии. Проведенный опрос 405 пациентов с СД2 показал, что люди с высоким уровнем знаний о своем заболевании и сильной уверенностью в необходимости приема сахароснижающих препаратов продемонстрировали значительно большую приверженность к лечению [28]. И наоборот, группа с высоким уровнем обеспокоенности по поводу неблагоприятных последствий лечения была менее приверженной.

По нашим данным, меньше половины пациентов знали о своем уровне гликированного гемоглобина на момент включения в исследование. Стоит отметить, что когнитивный статус пациента также оказывает влияние как на приверженность к лечению, так и на качество жизни. Пациенты без нарушения когнитивных функций имели меньший уровень гликированного гемоглобина по сравнению с пациентами с деменцией легкой степени, а балл по шкале MMSE положительно коррелировал с качеством жизни, оцененным самим пациентом. Депрессия может быть еще одним сопутствующим хроническим состоянием, связанным с уровнем приверженности. Наличие симптомов депрессии было связано с более низкими показателями приверженности в одном из исследований [29], что подтверждают полученные нами результаты. Кроме того, было показано, что уровень тревоги и уровень депрессии в баллах по шкале HADS положительно коррелировали с уровнем гликированного гемоглобина, что может свидетельствовать о влиянии психического статуса на приверженность к лечению.

Существует ряд и других факторов, таких как злоупотребление алкоголем [30], тяжесть сопутствующих заболеваний [31], однако в настоящем исследовании эти вопросы не рассматривались. Нами получены данные по приверженности к терапии ИНГТ2 – эмпаглифлозином в реальной клинической практике. Основными причинами, влияющими на продолжение лечения, оказались финансовые затруднения в приобретении препарата, возникновение побочных эффектов и отсутствие эффективности от терапии. При этом возможность приобретать всю необходимую терапию ассоциировалась как с лучшим гликемическим контролем, так и более высоким качеством жизни. Среди факторов, оказывающих влияние на приверженность к терапии, немаловажное место занимает снижение когнитивных функций. А меры профилактики, направленные на поддержание когнитивного статуса у пациентов с хроническими заболеваниями, включая СД2, являются важными

мерами повышения приверженности к терапии. В то же время полученные данные свидетельствуют о том, что психическое состояние пациента должно приниматься во внимание в контексте приверженности к лечению, и психотерапия может положительно сказаться на соблюдении рекомендованного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Низкая приверженность к лечению является важной проблемой для пациентов с хроническими заболеваниями, такими как сахарный диабет. Понимание факторов, связанных с несоблюдением рекомендаций, может помочь в решении данной проблемы, а повышение уровня приверженности снижает долгосрочные негативные последствия сахарного диабета. Все факторы, влияющие на приверженность, можно поделить на корригируемые (знания, нежелательные явления) и некорригируемые (когнитивный статус, сопутствующие заболевания) в настоящий момент времени. Врачи при выборе терапии должны уделять внимание работе с корригируемыми факторами: проводить обучение и инструктаж пациента, обсуждать финансовые аспекты и нежелательные явления, меры их профилактики и лечения. Широкое внедрение вышеупомянутых и иных опросников может оказать существенную помощь в оценке факторов риска низкой приверженности и разработки, индивидуальных мер по ее повышению. В то же время многие из некорригируемых факторов на момент старта терапии ранее таковыми не являлись. Для улучшения взаимодействия пациента и врача, обучение врачей правилам общения с пациентами, мерам по повышению приверженности пациентов к лечению должно стать обязательным в современном медицинском образовании. Пациенты с сахарным диабетом сталкиваются с множеством барьеров на пути к приверженности к терапии, поэтому необходимо больше данных для систематизации всех факторов, оказывающих влияние на приверженность, с целью разработки практических рекомендаций по улучшению приверженности к лечению.

ЛИТЕРАТУРА

1. International Diabetes Federation, IDF diabetes atlas 2017. URL: http://www.diabetesatlas.org/IDF_Diabetes_Atlas_8e_interactive_EN/
2. Grundy S.M., Benjamin I.J., Burke G.L. et al. Diabetes and cardiovascular disease a statement for health care professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 1999; 100 (10): 1134–1146. DOI: 10.1161/01.CIR.100.10.1134.
3. Patel A., Mac Mahon S., Chalmers J., Neal B. et al. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358 (24): 2560–2572. DOI: 10.1056/NEJMoa0802987.
4. Ismail-Beigi F., Craven T., Banerji M.A., Basile J. et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. *Lancet*. 2010; 376 (9739): 419–430. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60576-4.
5. Holman R.R., Paul S.K., Bethel M.A., Matthews D.R., Neil H.A. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359 (15): 1577–1589. DOI: 10.1056/NEJMoa0806470.
6. Duckworth W., Abraira C., Moritz T., Reda D., Emanuele N., Reaven P.D. et al. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360 (2): 129–139. DOI: 10.1056/NEJMoa0808431.
7. Al-Qazaz H.K., Sulaiman S.A., Hassali M.A. et al. Diabetes knowledge, medication adherence and glycemic control among patients with type 2 diabetes. *Int. J. Clin. Pharm.* 2011; 33 (6): 1028–1035. DOI: 10.1007/s11096-011-9582-2.
8. Hess L.M., Raebel M.A., Conner D.A., Malone D.C. Measurement of adherence in pharmacy administrative databases: a proposal for standard definitions and preferred measures. *Ann. Pharmacother.* 2006; 40 (7–8): 1280–1288. DOI: 10.1345/aph.1H018.
9. World Health Organization. Adherence to long-term therapies. Evidence for action. URL: http://www.who.int/chp/knowledge/publications/adherence_introduction.pdf. Published 2003. (accessed February 8, 2017).
10. Farr A.M., Sheehan J.J., Curkendall S.M. et al. Retrospective analysis of long-term adherence to and persistence with DPP-4 inhibitors in US adults with type 2 diabetes mellitus. *Adv. Ther.* 2014; 31 (12): 1287–1305. DOI: 10.1007/s12325-014-0171-3.
11. Cramer J.A., Benedict A., Muszbek N. et al. The significance of compliance and persistence in the treatment of diabetes, hypertension and dyslipidaemia: a review. *Int. J. Clin. Pract.* 2008; 62 (1): 76–87. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2007.01630x.
12. Vietri J.T., Wlodarczyk C.S., Lorenzo R. et al. Missed doses of oral antihyperglycemic medications in US adults with type 2 diabetes mellitus: prevalence and self-reported reasons. *Curr. Med. Res. Opin.* 2016; 32 (9): 1519–1527. DOI: 10.1080/03007995.2016.1186614.
13. Bonafede M.M., Kalsekar A., Pawaskar M., Ruiz K.M. et al. A retrospective database analysis of insulin use patterns in insulin-naïve patients with type 2 diabetes initiating basal insulin or mixtures. *Patient Prefer Adherence*. 2010; 4: 147–156. DOI: 10.2147/ppa.s10467.
14. Iglay K., Cartier S.E., Rosen V.M. et al. Meta-analysis of studies examining medication adherence, persistence, and discontinuation of oral antihyperglycemic agents in type 2 diabetes. *Curr. Med. Res. Opin.* 2015; 31 (7): 1283–1296. DOI: 10.1185/03007995.2015.1053048.
15. Cramer J.A. A systematic review of adherence with medications for diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27 (5): 1218–1224. DOI: 10.2337/diacare.27.5.1218.
16. Asche C., LaFleur J., Conner C. A review of diabetes treatment adherence and the association with clinical and economic outcomes. *Clin. Ther.* 2011; 33 (1): 74–109. DOI: 10.1016/j.clinthera.2011.01.019.
17. Kirkman M.S., Rowan-Martin M.T., Levin R. et al. Determinants of adherence to diabetes medications: findings from a

- large pharmacy claims database. *Diabetes Care*. 2015; 38 (4): 604–609. DOI: 10.2337 / dc14-2098.
18. Tourkmani A.M. et al. Medication adherence among patients in a chronic disease clinic. *Saudi Med. J.* 2012; 33 (12): 1278–1284.
 19. Curkendall S.M., Thomas N., Bell K.F. et al. Predictors of medication adherence in patients with type 2 diabetes mellitus. *Curr. Med. Res. Opin.* 2013; 29 (10): 1275–1286. DOI: 10.1185 / 03007995.2013.821056.
 20. Williams J., Steers W.N., Ettner S.L., Mangione C.M., Duru O.K. Cost-related nonadherence by medication type among medicare Part D beneficiaries with diabetes. *Med. Care*. 2013; 51 (2): 193–198. DOI: 10.1097/MLR.0b013e318270dc52.
 21. Duberstein P., Meldrum S., Fiscella K. et al. Influences on patients' ratings of physicians: Physicians demographics and personality. *Patient Educ. Couns.* 2007; 65 (2): 270–274. DOI: 10.1016/j.pec.2006.09.007.
 22. Paes A.H., Bakker A., Soe-Agnie C.J. Impact of dosage frequency on patient compliance. *Diabetes Care*. 1997; 20 (10): 1512–1517. DOI: 10.2337/diacare.20/10/1512.
 23. Ratanawongsa N., Karter A.J., Parker M.M. et al. Communication and medication refill adherence: the diabetes study of Northern California. *JAMA Intern. Med.* 2013; 173 (3): 210–218. DOI: 10.1001 / jamainternmed.2013.1216.
 24. Bains S.S., Egede L.E. Associations between health literacy, diabetes knowledge, self-care behaviors, and glycemic control in a low-income population with type 2 diabetes. *Diabetes Technol. Ther.* 2011; 13 (3): 6335–341. DOI: 10.1089 / dia.2010.0160.
 25. Alvarez Guisasola F. et al. Hypoglycaemic symptoms, treatment satisfaction, adherence and their associations with glycaemic goal in patients with type 2 diabetes mellitus: findings from the Real-Life Effectiveness and Care Patterns of Diabetes Management (RECAP-DM) Study. *Diabetes Obes. Metab.* 2008; 10 (Suppl. 11): 8–15. DOI: 10.1111/j.1463-1326.2008.00881.x.
 26. Laliberté F. et al. Impact of daily dosing frequency on adherence to chronic medications among nonvalvular atrial fibrillation patients. *Adv. Ther.* 2012; 29: 675–690. DOI: 10.1007/s12325-012-0040-x
 27. Liakos A., Karagiannis T., Athanasiadou E. et al. Efficacy and safety of empagliflozin for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes. Metab.* 2014; 16 (10): 984–93. DOI: 10.1111/dom.12307.
 28. Sweileh W.M., Zyoud S.H., Abu Nab'a R.J. et al. Influence of patients' disease knowledge and beliefs about medicines on medication adherence: findings from a cross-sectional survey among patients with type 2 diabetes mellitus in Palestine. *BMC Public Health*. 2014; 14: 94. DOI: 10.1186/1471-2458-14-94.
 29. Osborn C.Y., Egede L.E.. The relationship between depressive symptoms and medication nonadherence in type 2 diabetes: the role of social support. *Gen. Hosp. Psychiatry*. 2012; 34 (3): 249–53. DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2012.01.015.
 30. Grodinsky C.A., Golin C.E., Ochtera R.D., Turner B.J. Systematic review: effect of alcohol intake on adherence to outpatient medication regimens for chronic diseases. *J. Stud. Alcohol. Drugs*. 2012; 73 (6): 899–910. DOI: 10.15288/jsad.2012.73.899.
 31. Dailey G., Kim M.S., Lian J.F. Patient compliance and persistence with antihyperglycemic drug regimens: evaluation of a medicaid patient population with type 2 diabetes mellitus. *Clin. Ther.* 2001; 23 (8): 1311–1320. DOI: 10.1016/S0149-2918(01)80110-7.

Сведения об авторах

Лебедев Денис Андреевич, мл. науч. сотрудник, научно-исследовательская лаборатория диабетологии, Институт эндокринологии, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-1808-1331.

Мосикян Анна Альбертовна, мл. науч. сотрудник, научно-исследовательская лаборатория диабетологии, Институт эндокринологии, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-2863-270X.

Бабенко Алина Юрьевна, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, руководитель научно-исследовательской лаборатории диабетологии, Институт эндокринологии, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-0559-697X.

(✉) **Лебедев Денис Андреевич**, doctorlebedev@yandex.ru.

Поступила в редакцию 14.06.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Сравнительная оценка некоторых линейных параметров проксимальных фаланг кисти у детей и подростков мужского пола Таджикистана и Западной Индии в возрастном аспекте

Матюшечкин С.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Установить этнические различия в линейных параметрах длины проксимальных фаланг (ПФ) и ширины диафизов ПФ у детей и подростков мужского пола Таджикистана и Западной Индии. Разработать регрессионные уравнения для определения возраста по размерам ПФ.

Материалы и методы. Исследовано 366 рентгенограмм правой кисти лиц мужского пола Таджикистана (г. Канибадам) и Западной Индии (г. Мумбаи) 6–17 лет. Зависимость возраста от длины ПФ (ДлПФ) и ширины диафиза ПФ (ШПФ) изучалась с помощью парного линейного регрессионного анализа и корреляционного анализа. Влияние возраста на ДлПФ, ШПФ определялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа, критерия Краскела – Уоллиса и последующего post-hoc анализа по возрастам.

Результаты. ДлПФ и ШПФ представителей Таджикистана и Индии коррелируют с возрастом, коэффициент корреляции больше 0,5. В обеих этнических группах коэффициенты корреляции между возрастом и ДлПФ превышали 0,8. Коэффициент корреляции возраста и ШПФ у таджиков колеблется в диапазоне 0,68–0,77, у индийцев – 0,58–0,69. Построены парные линейные регрессионные модели для прогноза возраста по ДлПФ с коэффициентом детерминации R^2 , большим 0,6, за исключением ДлПФ5 для таджиков. ДлПФ5 для таджиков и значения ШПФ для обеих этнических групп показали слабые R^2 (0,35–0,53). Найдено 11 значимых различий между равновозрастными этническими группами по ДлПФ и ШПФ.

Заключение. ДлПФ является лучшим предиктором возраста, чем ширина диафиза. Самым надежным предиктором для обеих национальностей является ДлПФ2. Увеличение параметров ПФ происходит неравномерно с возрастом. Интенсивный рост ПФ наблюдается преимущественно в интервале 12–15 лет. Больше всего значимых отличий ДлПФ и ШПФ между этническими группами найдено в 8 и 15–16 лет, при этом ДлПФ и ШПФ таджиков превышали индийские.

Ключевые слова: кисть, фаланги, идентификация по костям, определение возраста, этнические особенности.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Родители несовершеннолетних подписывали информированное согласие на использование полученных данных в исследовательской работе. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ПСПбГМУ.

Для цитирования: Матюшечкин С.В. Сравнительная оценка некоторых линейных параметров проксимальных фаланг кисти у детей и подростков мужского пола Таджикистана и Западной Индии в возрастном аспекте. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 52–59. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-3-52-59](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-52-59).

Age-specific comparison of some morphological parameters of the proximal phalanges of the hand in male children and adolescents from Tajikistan and Western India

Matyushechkin S.V.

*Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
6/8, Leo Tolstoy Str., Saint-Petersburg, 197022, Russian Federation*

ABSTRACT

The aim of the study was (a) to establish ethnicity-specific differences in such morphological parameters of the proximal phalanges (PP) as the bone length and the width of diaphysis in male children and adolescents from Tajikistan and Western India and (b) to develop regression equations for determining their age based on the size of the PP.

Materials and methods. Three hundred and sixty-two X-ray images of the right hand of male subjects were examined. All subjects originated from Tajikistan and Mumbai, India, and aged from 6 to 17 years. The relationship between the subjects' age and the length of the PP (LPP) and the width of the diaphysis of the PP (WPP) was investigated using a simple linear regression and correlation analysis. The LPP and WPP dependence on age was determined using one-way ANOVA and the Kruskal–Wallis test followed by post-hoc analysis by age groups.

Results. LPP and WPP of the subjects from Tajikistan and India correlated with age, with the correlation coefficient exceeding 0.5. In both ethnic groups, the correlation coefficients for LPP vs. age was greater than 0.8. The correlation coefficient for WPP vs age ranged from 0.68 to 0.77 in Tajiks and from 0.58 to 0.69 in Indians. Simple linear regression models were developed to predict the age from LPP ($R^2 > 0.6$), except for LPP 5 for Tajiks. The LPP 5 values in Tajiks and the WPP values in both ethnic groups showed weak R^2 , which ranged from 0.35 to 0.53. Eleven significant differences were identified between the ethnic groups of the same age with respect to LPP and WPP.

Conclusion. PP length was a better age predictor than the diaphysis width. The most reliable predictor for both ethnic groups was LPP 2. The PP parameters did not change uniformly over time. The PP demonstrated especially intensive growth between 12 and 15 years. The most significant differences in LPP and WPP between two ethnic groups were found for the ages of 8 and 15–16 years, with LPP and WPP in Tajiks exceeding those in Indians.

Key words: hand, phalanges, identification from bones, age estimation, ethnic features.

Conflict of interest. Author declares no actual or potential conflict of interest related to publication of this article.

Source of financing. The author states that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. Parents of minors signed an informed consent for the use of the obtained data in the research work. The study was approved by the local ethical committee of the Pavlov First St.-Petersburg State Medical University.

For citation: Matyushechkin S.V. Age-specific comparison of some morphological parameters of the proximal phalanges of the hand in male children and adolescents from Tajikistan and Western India. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 52–59. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-52-59>.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение костной системы с учетом этно-территориальных особенностей остается одним из актуальных направлений современной анатомии. Необходимость накопления данных о росте костей у лиц разных национальностей, прибывающих из стран с отличающимися климатическими условиями, обусловлена значительно усилившимися, особенно в

последние десятилетия, миграционными процессами. Исследование роста костей у лиц, живущих на территориях с различающимися климатическими условиями и популяционным составом, представляет значительный интерес для морфологов, а также для педиатров, травматологов и судебных медиков [1–3].

В аспекте отождествления личности в случаях техногенных и природных катастроф с массовыми жертвами, а также в криминальных случаях необхо-

димо идентифицировать личность, а именно установить пол, возраст, в том числе и по отдельным костям и их фрагментам. При идентификации сильно поврежденных останков одним из распространенных медико-технических методов является рентгенологическое исследование останков [4]. При рентгенологическом исследовании следует учитывать, что данные о формировании и росте костей у жителей разных стран, а также в разных районах одной страны могут различаться. Причинами этих расхождений могут выступать климатические факторы, расовые особенности, а также состояние окружающей среды и географические факторы, изменяющиеся со временем [5].

В развивающихся странах, например в Индии, оценка возраста является важной задачей в связи с тем, что неграмотное население не осуществляет должным образом регистрацию рождения детей [6]. В странах Южной Азии к 5-ти годам не зарегистрированы до 65% рожденных детей [7]. Регрессионные уравнения для определения возраста по отдельным костям дают значительно лучше приближенные к реальным значениям результаты, если исследование проводилось с учетом популяции [8]. Использование данных линейных параметров костей для отождествления личности может привести к ошибкам в случае, когда используются параметры без учета популяции [9]. Так, например, исследование размеров второй пястной кости у жителей о. Гуам и белых американцев позволило установить различие по длине этой кости в сравниваемых группах [10].

По данным института демографии Национального исследовательского университета «Высшая школа экономики», за период январь–июль 2018 г. наибольший миграционный прирост в обмене с другими странами Российская Федерация получила с Таджикистаном [11]. Вместе с родителями из Таджикистана в Россию выезжают и их дети, которые посещают дошкольные и школьные образовательные учреждения, что актуализирует исследования различных

систем организма таджикских детей с учетом этнических особенностей. С.С. Мирзоев указывает на этническую специфичность таджиков, которая заключается в особенностях их генотипа и фенотипа [12]. Остеологические исследования жителей Таджикистана проводились в 1960-х гг. [13], однако необходимо учитывать значительный хронологический интервал полученных результатов. В доступной литературе отсутствуют работы об особенностях роста проксимальных фаланг кисти (ПФ) у лиц мужского пола Таджикистана, а также возможности определения их возраста по размерам ПФ.

Цель исследования – установить этнические различия в линейных параметрах длины и ширины диафизов ПФ у детей и подростков мужского пола Таджикистана и Западной Индии, а также разработать регрессионные уравнения, позволяющие определить их возраст по размерам ПФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выявления этнических особенностей в линейных параметрах ПФ проводилось сравнение 115 детей и подростков мужского пола в возрасте 6–17 лет таджикской национальности, проживающих в г. Канибадам (Таджикистан), в стране с субтропическом континентальным и умеренным континентальным климатом, а также 251 мальчика и подростка г. Мумбаи (Западная Индия), проживающих в условиях тропического муссонного климатического пояса. Исследование в Таджикистане проводилось в г. Канибадам, где проживает 96% аборигенного таджикского населения вилояти, относящегося к этнической группе таджиков городов и оазисов [14], а также в г. Мумбаи, жители которого представлены индоаравийской этнической группой. Все рентгенологические исследования производились в присутствии автора статьи во время командировок в Индию и Таджикистан. Данные о распределении по возрасту представлены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение обследованных детей и подростков мужского пола по регионам и возрастам												
Регион	Возраст, лет											
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Западная Индия	14	14	10	10	17	20	27	36	25	37	22	19
Таджикистан	5	10	9	8	10	10	11	13	7	15	7	10

Рентгенологическое исследование проводилось в связи с подозрением на переломы, а также у практически здоровых детей с жалобами на боли в суставах кисти. Изучались рентгенограммы правой кисти детей и подростков с отсутствием патологических изменений со стороны костной системы. Родители

несовершеннолетних подписывали информированное согласие на использование полученных данных в исследовательской работе.

При проведении рентгенологического исследования расстояние от анода рентгеновской трубки до пленки составляло 60 см. На рентгенограммах ки-

сти с помощью скользящего циркуля с точностью 0,05 мм измеряли длину ПФ, а также ширину диафиза ПФ (на уровне середины диафиза). Измерение длины каждой ПФ проводилось от точки середины полулунного контура их основания до самого дистального контура головки.

Результаты исследования были подвергнуты статистической обработке. Для определения зависимости возраста обследованных от линейных параметров ПФ проводился регрессионный анализ. Качество регрессии оценивалось через коэффициент детерминации R^2 и значимость по F -критерию, проверялась также нормальность распределения остатков (критерий Колмогорова – Смирнова) и нулевое матожидание остатков (одновыборочный критерий Стьюдента). Оценка связи между возрастом обследованных детей и длиной ПФ, а также шириной диафиза ПФ в случаях нормального распределения проводилась с помощью параметрического коэффициента корреляции r Пирсона, а в случаях, не согласованных с нормальным распределением, использовался непараметрический коэффициент корреляции Спирмена r_s . Значимость коэффициентов корреляции проверялась при помощи критерия Стьюдента. На небольших выборках по длине и ширине диафиза ПФ внутри каждого возраста нормальность проверялась критерием Шапиро – Уилка.

Сравнение длины ПФ и ширины диафизов ПФ по возрастам проводили методом параметрического (однофакторный дисперсионный анализ, ОДА) и непараметрического анализа (критерий Краскела – Уоллиса), в зависимости от нормальности распределения для соответствующей возрастной группы. Дальнейший post-hoc анализ для поиска попарных различий между возрастами проводился с помощью критерия Стьюдента для ОДА и критерия Манна – Уитни для непараметрического случая, когда применялся критерий Краскела – Уоллиса. В обоих случаях множественные сравнения обрабатывались методом Бенджамини – Хохберга (FDR). Сравнение линейных параметров ПФ у детей и подростков одного возраста из Таджикистана и Западной Индии также проводили с помощью критерия Стьюдента для нормальных выборок и критерия Манна – Уитни для выборок, не согласованных с нормальным распределением.

Описательные статистики для нормально распределенных длины и ширины диафиза ПФ приводились в виде $M(SD)$, для распределений, не согласованных с нормальным, в виде $Me(Q_1-Q_3)$, где M – среднее, SD – стандартное отклонение, Me – медиана, Q_1 и Q_3 – 1-й и 3-й квартили соответственно. Для всех критериев проверки гипотез пороговый уровень значимости принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование позволило изучить в возрастном аспекте длину ПФ и ширину диафиза ПФ у лиц мужского пола Таджикистана и Западной Индии. Будем кратко обозначать длину проксимальной фаланги ДлПФХ, а ширину – ШПФХ, где Х – номер пальца кисти. Полученные данные представлены на рис. 1 для Западной Индии и на рис. 2 для Таджикистана. По интерквартильным интервалам можно заметить, что значения линейного параметра длины ПФ у представителей обеих этнических групп имеют меньшую дисперсию, в сравнении с показателями ширины диафиза ПФ.

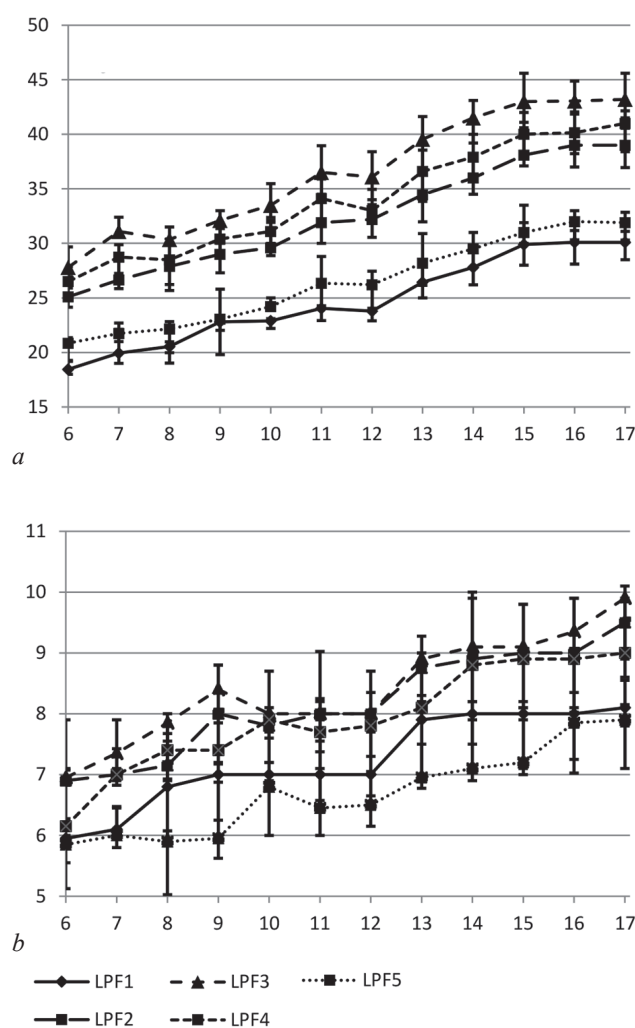


Рис. 1. Динамика линейных параметров проксимальных фаланг кисти у мальчиков и подростков Западной Индии. Здесь и на рис. 2: а – длина проксимальных фаланг (LPF); б – ширина диафиза проксимальных фаланг (WPF), мм. Ось абсцисс – возраст, годы; ось ординат – значение линейных параметров, мм. Линия соответствует медианам, погрешности – 1-му и 3-му квартилям. PF1–5 – проксимальные фаланги 1–5-го пальцев кисти

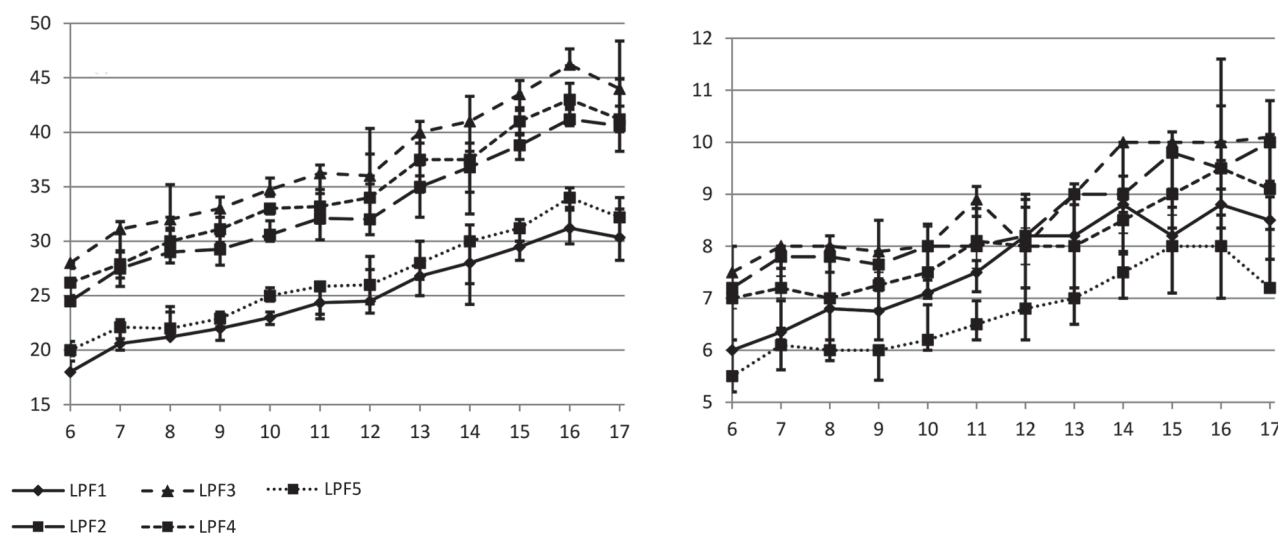


Рис. 2. Динамика линейных параметров проксимальных фаланг кисти у мальчиков и подростков Таджикистана

Значения линейного параметра длины ПФ у представителей обеих этнических групп имеют меньшую дисперсию в сравнении с показателями ширины диафиза ПФ (см. рис. 1, 2).

Увеличение длины и ширины диафиза ПФ происходит неравномерно (все значимые результаты получены с учетом поправки на множественные сравнения методом FDR). Интервалы роста следующие:

– индийцы, длина ПФ. ДлПФ1, ДлПФ2, ДлПФ3, ДлПФ4: 6–7, 12–13 и 14–15 лет; ДлПФ4 также 8–9 лет; ДлПФ5: 10–11, 12–13, 14–15 лет;

– индийцы, ширина диафиза ПФ. ШПФ1–5: 12–13 лет;

– таджики, длина ПФ. ДлПФ1: 14–15 лет; ДлПФ2: 6–7, 7–8, 15–16 лет; ДлПФ3, ДлПФ5: 9–10, 15–16 лет; ДлПФ4: 9–10, 14–15, 15–16 лет;

– таджики, ширина диафиза ПФ – между соседними возрастами значимых отличий нет.

Результаты анализа, проведенного по критерию Краскела – Уоллиса, а также данные дисперсионного анализа показали значимость увеличения изученных линейных параметров ПФ с возрастом, однако post-hoc анализ позволил установить, что статистически значимых отличий по длине ПФ между парами возрастов больше, чем по ширине, у индийцев в среднем на 20,6%, а у таджиков – на 32,9% (табл. 2).

Таблица 2

Результаты анализа изменений ДлПФ и ШПФ и post-hoc анализа по фактору возраста						
Параметр	г. Мумбаи (Индия)			г. Канибадам (Таджикистан)		
	Тест множественный и попарный	p-значение	Количество попарных отличий по возрастам	Тест множественный и попарный	p-значение	Кол-во попарных отличий по возрастам
ДлПФ1	К–У, М–У	<0,001	54	ОДА, Тьюки	<0,001	37
ДлПФ2	К–У, М–У	<0,001	56	К–У, М–У	<0,001	50
ДлПФ3	К–У, М–У	<0,001	55	К–У, М–У	<0,001	50
ДлПФ4	К–У, М–У	<0,001	57	К–У, М–У	<0,001	53
ДлПФ5	К–У, М–У	<0,001	55	К–У, М–У	<0,001	44
ШПФ1	К–У, М–У	<0,001	42	К–У, М–У	<0,001	34
ШПФ2	К–У, М–У	<0,001	43	К–У, М–У	<0,001	37
ШПФ3	К–У, М–У	<0,001	45	ОДА, Тьюки	<0,001	24
ШПФ4	К–У, М–У	<0,001	42	К–У, М–У	<0,001	35
ШПФ5	К–У, М–У	<0,001	48	К–У, М–У	<0,001	27

Примечание. Здесь и в табл. 3: ДлПФ1–5 – длина 1–5-й проксимальных фаланг кисти; ШПФ1–5 – ширина диафиза проксимальных фаланг кисти; К–У – критерий Краскела – Уоллиса; М–У – критерий Манна – Уитни; ОДА – однофакторный дисперсионный анализ.

На основе полученных остеометрических параметров отдельных ПФ кисти проведен корреляционный анализ непараметрическим критерием Спирмена, а также составлены уравнения линейной регрессии,

которые могут быть использованы как один из методов для уточнения возраста лиц мужского пола Таджикистана и Западной Индии. В случаях, когда доступны все кости кисти, лучшим методом для

установления возраста является множественная линейная регрессия, однако в случае, когда приходится иметь дело с отдельными останками, для уравнения регрессии может быть использована одна кость [8]. В результате проведенного корреляционного и

регрессионного анализа были получены регрессионные модели, которые могут быть использованы для установления возраста 6–17-летних мальчиков и подростков г. Мумбаи, а также аборигенного таджикского населения вилояти г. Канибадам (табл. 3).

Таблица 3

Регрессионные модели для определения возраста у 6–17-летних детей и подростков г. Мумбаи и г. Канибадам по ДлПФ и ШПФ кисти					
Параметр	Регрессионная модель	F-критерий, p-значение	Скорректированный R ²	Коэффициент корреляции r _s	Практическая применимость модели*
г. Мумбаи (Индия)					
ДлПФ1	Возраст = $-3,049 + 0,596 \times \text{LPF1}$	<0,001	0,682	0,820	Да
ДлПФ2	Возраст = $-5,538 + 0,529 \times \text{LPF2}$	<0,001	0,718	0,827	Да
ДлПФ3	Возраст = $-5,327 + 0,466 \times \text{LPF3}$	<0,001	0,712	0,822	Да
ДлПФ4	Возраст = $-5,518 + 0,507 \times \text{LPF4}$	<0,001	0,705	0,822	Да
ДлПФ5	Возраст = $-3,681 + 0,583 \times \text{LPF5}$	<0,001	0,659	0,814	Да
г. Канибадам (Таджикистан)					
ДлПФ1	Возраст = $-4,576 + 0,645 \times \text{LPF1}$	<0,001	0,706	0,848	Да
ДлПФ2	Возраст = $-5,401 + 0,516 \times \text{LPF2}$	<0,001	0,745	0,874	Да
ДлПФ3	Возраст = $-3,457 + 0,404 \times \text{LPF3}$	<0,001	0,664	0,879	Да
ДлПФ4	Возраст = $-4,213 + 0,454 \times \text{LPF4}$	<0,001	0,6915	0,879	Да

* все коэффициенты корреляции, представленные в табл. 3, статистически значимы. Все остатки нормально распределены, и их математическое ожидание не отличается от 0.

У мальчиков и юношей Таджикистана и Западной Индии линейный параметр длины ПФ имеет более тесную связь с возрастом в сравнении с шириной диафиза ПФ (см. табл. 3). Все коэффициенты ранговой корреляции возраста и длины превышают 0,8. В то же время коэффициент корреляции для линейного параметра ширины ПФ в исследованных группах колебался от 0,58 до 0,75. Установлено, что девять из десяти коэффициентов корреляции для мальчиков и юношей Таджикистана превышают таковые у индийцев в среднем на 8%.

М.А. Григорьева, Е.С. Анушкина [15] указывают, что даже при наличии неповрежденного объекта выбор оптимальной регрессионной модели сопряжен с определенными трудностями. Наиболее точные результаты на основе математической оценки можно получить, когда исследуемая популяция, насколько это возможно, будет похожа в пропорциях на популяцию использованную при составлении уравнений [5].

Несмотря на то, что многомерные критерии показали значимый рост ПФ в длину и ширину диафиза ПФ с возрастом, а также корреляционный анализ подтвердил эти связи для всех исследуемых линейных параметров, качественные регрессионные модели ($R^2 > 0,6$) удалось построить только для длины ПФ 1–4.

У мальчиков и подростков Западной Индии полученные модели для установления возраста по длине ПФ имели примерно одинаковое качество: коэффициенты детерминации находились в промежутке от 0,66 (ПФ5) до 0,72 (ПФ2). Наилучшая регрессионная модель для определения возраста индийских мальчиков г. Мумбаи получена с регрессором ДлПФ 2 ($p < 0,001$).

Для мальчиков и юношей из Таджикистана линейный параметр ДлПФ2 также оказался наилучшим предиктором возраста. Коэффициент детерминации в соответствующей модели равен 0,75 ($p < 0,001$) и он заметно превышал соответствующие коэффициенты для других ПФ.

При сопоставлении регрессионных моделей у двух изучаемых этнических групп установлено, что в возрастном интервале 6–17 лет рост в длину ПФ быстрее происходил у таджикских мальчиков и юношей, у которых множители при регрессорах в четырех из пяти моделях (ПФ2–4) больше, чем индийских сверстников (см. табл. 3). Рост в ширину диафизов ПФ1–3 у детей и подростков Таджикистана преобладал над таковым у индийских сверстников. В то же время рост в ширину диафизов ПФ4 и ПФ5 быстрее происходил у индийцев г. Мумбаи.

Сравнительный анализ размеров ПФ у мальчиков Западной Индии и Таджикистана позволил выявить ряд различий (табл. 4).

Различия в линейных параметрах ПФ по возрастам между этническими группами, мм					
№	Параметр	Возраст, лет	p-значение	г. Мумбаи (Западная Индия)	г. Канибадам (Таджикистан)
1	ДлПФ1	8	0,005	20,6 (19,0–21,0)	22,2 (1,9)
2	ДлПФ2	8	0,021	27,2 (1,7)	29,4 (2,0)
3	ДлПФ3	8	0,029	30,1 (2,0)	32,6 (2,4)
4	ДлПФ4	8	0,022	28,0 (2,1)	30,5 (2,2)
5	ШПФ1	12	0,020	7,1 (0,9)	8,1 (1,2)
6	ШПФ2	15	0,040	9,0 (8,1–9,8)	9,5 (8,8–10,0)
7	ШПФ4	15	0,027	8,9 (8,1–9,0)	9,2 (0,9)
8	ДлПФ2	16	0,021	38,6 (2,3)	40,9 (1,9)
9	ДлПФ3	16	0,002	43,3 (2,3)	46,6 (1,8)
10	ДлПФ4	16	0,005	40,2 (2,2)	43,2 (2,0)
11	ШПФ4	16	0,023	8,7 (0,9)	9,9 (1,1)

Примечание. ДлПФ1–4 – длина проксимальных фаланг 1–4-го пальцев; ШПФ1–4 – ширина диафиза проксимальных фаланг кисти.

В возрасте 8 лет у таджикских мальчиков ДлПФ1-, 2-, 3-, 4-го пальцев была больше, чем у индийских сверстников. В возрастном диапазоне 9–14 лет достоверные различия в исследованных линейных параметрах ПФ не определялись, за исключением ШПФ1, которая у представителей Таджикистана значимо больше. Анализ рентгенограмм продемонстрировал достоверное преобладание ширины ПФ 1-го и 2-го пальцев у 15-летних таджикских юношей в сравнении с индийцами. В 16 лет длина ПФ2, ПФ3 и ПФ4 пальцев и ширина диафиза 4-го пальца вновь больше у таджиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для установления возраста детей и подростков мужского пола 6–17 лет лучшие результаты получаются, когда исследователь пользуется данными, полученными для конкретной этнической группы. Линейный параметр длины ПФ служит лучшим предиктором для установления возраста таджикских и индийских детей и подростков по размерам ПФ в сравнении с параметром ширины ПФ. Самым надежным предиктором возраста для обеих этнических групп является ДлПФ 2-го пальца кисти. Остеометрическое исследование лиц мужского пола в возрасте 6–17 лет позволило установить, что рост ПФ происходит неравномерно. Интенсивный рост ПФ наблюдается преимущественно в интервале 12–15 лет. Большинство значимых отличий по ДлПФ и ШПФ между этническими группами установлено в возрасте 8 и 15–16 лет, при этом ДлПФ и ШПФ у представителей таджикской этнической группы г. Канибадам превышали аналогичные линейные параметры ПФ индийских сверстников г. Мумбаи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nemade K.S., Kamdi N.Y., Parchand M.P. Ages of Epiphyseal Union Around Wrist Joint – A Radiological Study. *J. Anat. Soc. India*. 2010; 59 (2): 205–210. DOI: 10.1016/S0003-2778(10)80027-9.
2. Kadam S.S., Belagatti S.L., Kulkarni V.G. A study of epiphyseal union of base of first metacarpal bone radiologically for estimation age *Medico-Legal Update*. 2012; 12 (1): 76–77.
3. Shanmugasundaram S., Thangaraj K., Gambhir Singh O. Radiological assessment of age of adolescents from wrist joint: a prospective study of 151 cases. *International Archives of Integrated Med*. 2015; 2 (1): 95–99.
4. Алпатов И.М., Звягин В.Н., Золотенкова Г.В. Возможно-сти оперативного проведения идентификации останков человека при сильном разрушении под воздействием физических факторов. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2002; 45 (4): 35–39.
5. Banerjee K.K., Agarwal B.B.L. Estimation of Возраст from epiphyseal union at the wrist and ankle joints in the capital city of India. *Forensic Science International*. 1998; 98 (1–2): 32–39. DOI: 10.1016/S0379-0738(98)00134-0.
6. Patel D.S., Agarwal H., Shah J.V. Epiphyseal fusion at lower end of radius and ulna valuable tool for age determination. *J. Indian Acad. Forensic Med*. 2011; 33 (2): 125–130.
7. Smith T., Brownlees L. Age assessment practices: a literature review and annotated bibliography Child Protection Section. UNICEF. 2011. URL: http://www.unicef.org/protection/Vозраст_Assessment_Practicis_2010.pdf.
8. Darmawan M.F., Yusuf S.M., Abdul Kadir M.R., Haron H. Возраст estimation based on bone length using 12 regression models of left hand X-ray images for Asian children below 19 years old. *Leg. Med. (Tokyo)*. 2015; 17 (2): 71–78. DOI: 10.1016/j.legalmed.2014.09.006.
9. Zulkifly N.R., Wahab R.A., Layang E., Ismail D., Desa W.N.S.M., Hisham S., Mahat N.A. Estimation of stature from hand and handprint measurements in Iban population in Sarawak, Malaysia and its applications in forensic investigation.

- J. of Forensic and Leg. Med.* 2018; 53: 35–45. DOI: 10.1016/j.jflm.2017.10.011.
10. Plato C.C., Garruto R.M., Yanagihara R.T., Chen K.M., Wood J.L., Gajdusek D.C., Norris A.H. Cortical bone loss and measurements of the second metacarpal bone. Comparisons between adult Guamanian chamorros and American Caucasians. *Amer. J. Phys. Anthropol.* 1982; 59 (4): 461–465. DOI: 10.1002/ajpa.1330590415.
 11. Щербакова Е.М. Миграция, итоги первого полугодия 2018 г. Демоскоп. Weekly. 2018; 783–784: 1–38. URL: <http://demoscope.ru/weekly/2018/0783/barom01.php>.
 12. Мирзоев С.С. Влияние наследственных и средовых факторов на процессы роста и развития костей у таджиков и узбеков. Материалы научной конференции «Современная морфология физической культуре и спорту». Л., 1987: 142–143.
 13. Полушкина Л.Е. Некоторые экспертные критерии определения возраста и их особенности в условиях Таджикистана: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Душанбе, 1966: 12.
 14. Турсунов Н.О. Сложение и пути развития городского и сельского населения Северного Таджикистана. Душанбе: Ирфон, 1976: 302.
 15. Григорьева М.А., Анушкина Е.С. Реконструкция длины тела человека по размерам кисти. *Судебно-медицинская экспертиза.* 2015; 58 (4): 37–43. DOI: 10.17116/sudmed201558437-43.

Сведения об авторе

Матюшечкин Сергей Викторович, канд. биол. наук, доцент, кафедра клинической анатомии и оперативной хирургии им. проф. М.Г. Привеса, ПСПбГМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0001-5150-9366.

(✉) **Матюшечкин Сергей Викторович**, e-mail: svmatush@yandex.ru.

Поступила в редакцию 24.07.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Отдаленные результаты и качество жизни у пациентов с множественными церебральными аневризмами после эндоваскулярного лечения

Олейник А.А.¹, Иванова Н.Е.¹, Горощенко С.А.¹, Олейник Е.А.¹, Иванов А.Ю.²

¹ Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт (РНХИ) им. проф. А.Л. Поленова, Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. В.А. Алмазова Россия, 191014, г. Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 12

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ) Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить результаты лечения больных после эндоваскулярных вмешательств по поводу множественных церебральных аневризм (МНА) в отдаленном послеоперационном периоде с учетом качества жизни пациентов.

Материалы и методы. Проанализированы данные 172 наблюдений с МНА, оперированных эндоваскулярно. Исследование качества жизни производилось с использованием общего опросника The Short Form-36 (SF-36), Международной классификации функционирования (МКФ), шкалы Рэнкина.

Результаты. В отдаленном послеоперационном периоде субарахноидальное кровоизлияние (САК) отмечено в 1,2% случаев. При оценке по шкале SF-36 у больных, перенесших в анамнезе САК, качество жизни снижалось по субшкале «Социальное функционирование» ($p = 0,03$), у больных с псевдотуморозным типом течения – по субшкалам «Роль в функционировании, обусловленное физическим состоянием» (RP) ($p = 0,004$), «Общее состояние здоровья» (GH) ($p = 0,049$), «Социальное функционирование» (SF) ($p = 0,005$), «Психическое здоровье» (MH) ($p = 0,009$). Число оперативных вмешательств >2 также ассоциировано с качеством жизни пациентов ($p < 0,05$). При оценке активности по МКФ выраженность нарушений по домену d4501 – ходьба на близкие расстояния – зависела от перенесенного САК ($p < 0,05$). Осложнения эндоваскулярного лечения оказывали влияние на активность пациентов по доменам d4501 – ходьба на дальние расстояния ($p = 0,03$), d640 – выполнение работы по дому ($p = 0,01$).

Заключение. Уточнить, каковы активность и участие в общественной жизни пациента, позволяет проведение оценки по МКФ. Дополнительную информацию о субъективном восприятии пациента своего состояния позволяет получить шкала SF-36. Учитывая, что качество жизни в отдаленном послеоперационном периоде не у всех пациентов восстанавливается полностью, возникает необходимость в дальнейшем проведении реабилитационных мероприятий, контрольных церебральных ангиографий, а также в усовершенствовании методов хирургического лечения.

Ключевые слова: артериальные аневризмы, множественные церебральные аневризмы, отдаленные результаты, эндоваскулярное лечение, качество жизни, результаты эндоваскулярного лечения.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен этическим комитетом НМИЦ им. В.А. Алмазова (протокол № 30 от 13.02.2017).

Для цитирования: Олейник А.А., Иванова Н.Е., Горощенко С.А., Олейник Е.А., Иванов А.Ю. Отдаленные результаты и качество жизни у пациентов с множественными церебральными аневризмами после эндоваскулярного лечения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 60–66. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-60-66>.

Late results and health-related quality of life in patients after endovascular treatment for multiple intracranial aneurysms

Oleinik A.A.¹, Ivanova N.E.¹, Goroshchenko S.A.¹, Oleinik E.A.¹, Ivanov A.Yu.²

¹ Polenov Neurosurgical Institute, Almazov National Medical Research Centre
12, Mayakovskiy Str., Saint-Petersburg, 191014, Russian Federation

² Saint-Petersburg State Pediatric Medical University
2, Litovskaya Str., Saint-Petersburg, 194100, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the results of endovascular treatment in patients with multiple intracranial aneurysms (MIA) in the late postoperative period according to health-related quality of life (HRQoL) concept.

Materials and methods. 172 cases of patients having undergone endovascular MIA repair were examined. The evaluation of patient health-related quality of life was carried out using the SF-36 (The Short Form (36) Health Survey), the ICF (the International Classification of Functioning), and the modified Rankin Scale (mRS).

Results. The complication of subarachnoid hemorrhage (SAH) appears in approximately 1,2% of cases in the late postoperative period. When assessing the health-related quality of life according to the SF-36 domains in patients with Subarachnoid hemorrhage (SAH), the QoL showed a decrease in “Social Functioning” ($p = 0.03$). In patients with pseudotumor cerebri (PTC) a decrease was seen in “Role-Physical Functioning” (RP) ($p = 0.004$), while “General Health” (GH) ($p = 0.049$), “Social Functioning” (SF) ($p = 0.005$) and “Mental Health” (MH) ($p = 0.009$) subscales also saw decreases.

Having more than two inpatient surgical procedures is also associated with the health-related quality of life of patients ($p < 0.05$). Assessment of activity with ICF showed the *intensity* of irregularities on the d4501 domain – “walking short distance” – depended on the existing SAH ($p < 0.05$). Procedural complications affected the *patient's* daily activities on the domains d4501 — “walking long distance” ($p = 0.03$), and d640 — “doing household chores” ($p = 0.01$).

Conclusion. The assessment with ICF allows the specification of patient activity and participation in public life. The SF-36 scale provides additional information on the patients' subjective perception of their condition. Considering the quality of life in the late postoperative period is not completely restored in all patients, ongoing rehabilitation measures, diagnostic cerebral angiographies and improvements in the surgery techniques are required.

Key words: cerebral aneurysms, multiple aneurysms, postoperative period, long-term results, endovascular treatment, quality of life.

Conflict of interest. The authors declare there are no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study. This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or non-profit sectors.

Conformity with the principles of ethics. All the research participants gave and signed the informed consent to participate in this study. The research protocols obtained ethical approval from the Ethics Committee of Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre”, Ministry of Health, Russia (Protocol No. 30 of 13.02.2017).

For citation: Oleinik A.A., Ivanova N.E., Goroshchenko S.A., Oleinik E.A., Ivanov A.Yu. Late results and health-related quality of life in patients after endovascular treatment for multiple intracranial aneurysms. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 60–66. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-60-66>.

ВВЕДЕНИЕ

Церебральные артериальные аневризмы (АА) в среднем в здоровой взрослой популяции встречаются примерно в 3,2% случаев [1]. Множественные аневризмы (МНА) сосудов головного мозга среди АА встречаются, по данным различных источников, в 2–44,9% случаев [2, 3], в среднем их распространенность составляет 20,1% [4]. Именно АА являются наиболее частой причиной субарахноидального кровоизлияния (САК) [5]. Почти в 30% наблюдений с МНА имеется САК [6]. Летальность от повторного разрыва АА очень высокая и достигает 68–70% [7, 8]. Выбор тактики оперативного лечения у больных с МНА происходит индивидуально с учетом размера, формы и локализации АА, течения болезни, состояния больного. Лечение МНА, как правило, требует комбинированных методик в несколько этапов [9, 10]. По данным различных источников, через 1 год после САК выявляется снижение качества жизни (КЖ) у одной трети выживших [11–13]. Имеются исследования, сравнивающие КЖ больных в зависимости от вида хирургического вмешательства (микрохирургическое или эндоваскулярное) [14], не выявляющие различий, а также сравнивающие до- и послеоперационное КЖ [15].

В то же время в доступной литературе имеется недостаточно данных по проблеме изучения КЖ и особенностей клинических проявлений у пациентов после эндоваскулярного лечения МНА. Наличие нескольких АА, необходимость проведения неоднократных хирургических вмешательств и ангиографического контроля определяют актуальность изучения качества жизни у таких больных [16]. Целью работы является оценка результатов лечения больных после эндоваскулярных вмешательств по поводу МНА в отдаленном послеоперационном периоде с учетом динамики неврологической симптоматики и КЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы данные 172 наблюдений больных с МНА, получавших эндоваскулярное лечение в отделении хирургии сосудов головного и спинного мозга РНХИ им. проф. А.Л. Поленова в период с 2012 по 2018 г. Проведено комплексное изучение катамнеза больных, функциональных результатов и КЖ после эндоваскулярного лечения в отдаленном послеоперационном периоде. Возраст больных составил 26–77 лет, средний возраст ($4,19 \pm 0,83$) лет, объем выборки $n = 172$. Женщин было 81,4% (140/172), мужчин – 18,6% (32/172). Соотношение мужчин и женщин составило 1 : 4,4.

Всего у 172 больных была выявлена 441 АА. Больные с двумя АА составили 62,2% (107/172), с тремя – 25,6% (44/172), с четырьмя – 7,5% (13/172), с пятью – 3,5 (6/172), с шестью – 0,6% (1/172), с семью АА – 0,6% (1/172). По размеру были выявлены следующие виды АА: милиарные (до 3 мм) – 22,7% (100/441), обычного размера (4–15 мм) – 71,7% (316/441), большие (16–25 мм) – 2,0% (9/441), гигантские (>25 мм) – 3,6% (16/441). В анамнезе в 50% наблюдений (86/172) имелось одно или несколько САК, в 5,8% (10/172) АА имели псевдотуморозный тип течения. Всем пациентам было выполнено от 1 до 5 эндоваскулярных операций. Всего 172 больным выполнено 354 эндоваскулярные операции. Одноэтапные операции выполнялись в 30,8% случаев (53/172). Из них в 15,1% (8/53) АА закрыты тотально за один этап; в 41,5% (22 /53) АА «выключена», однако имеется милиарная АА и (или) аневризматическое расширение сосуда, требующие динамического наблюдения; в 37,7% (20/53) больному сделан один этап оперативного вмешательства из планируемого многоэтапного лечения; в 5,7% (3/53) проводится динамическое наблюдение. Многоэтапные операции выполнены в 69,2% случаев (119/172): в 55,5% (66/119) все АА выключены из кровотока, в 44,5% (53/119) выполнены две и более операций, однако планируются повторные операции на других АА (больные находятся на этапе планового выключения АА из кровотока). Оценка результатов происходила в сроки от 6 мес до 2 лет после последнего хирургического вмешательства. Катамнез был уточнен при повторных госпитализациях для контрольной ангиографии или оперативного вмешательства, амбулаторном посещении больного и уточняющей переписке. Больным предлагалось заполнение специально разработанной анкеты. Также оценивались данные стандартного диагностического нейрохирургического комплекса: осмотр неврологом, нейроофтальмологом, терапевтом, магнитно-резонансная томография и магнитно-резонансная ангиография головного мозга, спиральная компьютерная томография головного мозга, спиральная компьютерная ангиография головного мозга, селективная церебральная ангиография, электроэнцефалография.

Исследование КЖ в отдаленном послеоперационном периоде производилось с использованием общего опросника The Short Form-36 (SF-36), Международной классификации функционирования (МКФ), функциональное состояние больных до и после операции оценивалось с помощью шкалы Рэнкина (J. Rankin, 1957). Статистическая обработка материала проведена с помощью программы Statistica for Windows, сопоставление частотных характери-

стик качественных показателей – с помощью параметрических статистических критериев (критерий χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера). Сравнение количественных параметров осуществлялось с использованием непараметрических статистических критериев (U -критерий Манна – Уитни, дисперсионный анализ ANOVA). Оценка изучаемых показателей в динамике после проведенного лечения выполнялась с помощью критерия Вилкоксона. Данные представлены в виде средней и ошибки средней $M \pm m$, минимального и максимального значения выборки $Min-Max$, медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_{25}-Q_{75})$.

Критерием уровня статистической значимости различий была величина $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Осложнения эндоваскулярного лечения встречались в 3,4% случаев (12/354). Ишемические осложнения – в 9 из 12, интраоперационный разрыв АА – в 3 из 12 наблюдений. По данным катамнеза, в отдаленном послеоперационном периоде САК было верифицировано в 1,2% случаев (2/172) – разрыв неоперированной АА; ишемические осложнения (в связи с самостоятельной отменой дезагрегантной терапии) – в 1,2% (2/172), миграция стента – в 0,6% (1/172). По данным контрольных церебральных ангиографий, произведенных в отдаленном послеоперационном периоде (от 6 мес до 2 лет после операции), появление АА *de novo* или увеличение неоперированных АА выявлено в 8,7% случаев (15/172). Рецидив АА или реканализация выявлены в 19,2% наблюдений (33/172) – 9,3% от всех выполненных операций (33/354). В 5,2% (9/172) контрольные ангиографии не проводились (отказ со стороны пациентов).

В отдаленном послеоперационном периоде имела очаговая неврологическая симптоматика: нару-

шение функции черепно-мозговых нервов (ЧМН) – 6,9% (12/172), двигательные нарушения – 5,2% (9/172), нарушение чувствительности – 2,3% (4/172), координаторные нарушения – 2,9% (5/172), речевые нарушения – 2,3% (4/172), зрительные нарушения – 3,5% (6/172), когнитивные нарушения – 10,5% (18/172), эписиндром – 6,4% (11/172). Очаговая неврологическая симптоматика была обусловлена перенесенными САК, псевдотуморозным течением аневризм, наличием интраоперационных осложнений.

В отдаленном послеоперационном периоде функциональное состояние больных по шкале Рэнкин ухудшали перенесенное в анамнезе САК ($p = 0,04$), а также осложнения оперативного вмешательства ($p = 0,001$) (рис. 1).

Качество жизни по субшкалам SF-36 в отдаленном послеоперационном периоде представлено в таблице.

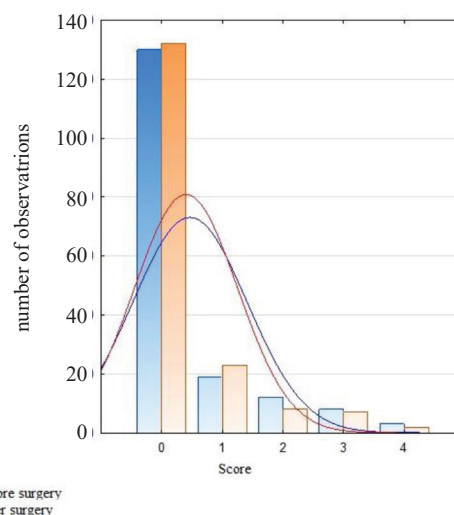


Рис. 1. Динамика оценки повседневной активности по шкале Рэнкин до операции и в отдаленном послеоперационном периоде

Таблица

Качество жизни по субшкалам SF-36 в отдаленном послеоперационном периоде			
Субшкала	$M \pm SD$	$Min-Max$	$Me (Q_{25}-Q_{75})$
Физический компонент здоровья (PH)	$44,91 \pm 10,16$	20,26–0,96	44,81 (38,64–55,05)
Психологический компонент здоровья (MH)	$49,78 \pm 9,76$	20,54–61,53	51,74 (44,82–57,35)
PF	$75,15 \pm 25,86$	0–100	80 (67,5–95)
RP	$66,72 \pm 32,56$	0–100	75 (50–100)
BP	$66,2 \pm 26,17$	0–100	62 (41–100)
GH	$61,78 \pm 19,13$	12–95	67 (45–77)
VT	$60,93 \pm 14,88$	10–80	60 (60–70)
SF	$77,33 \pm 26,77$	0–100	75 (75–100)
RE	$74,42 \pm 29,8$	0–100	66,67 (66,67–100)
MH	$73,07 \pm 18,13$	0–100	76 (66–86)

При анализе КЖ возрастных групп было выявлено снижение у больных пожилого и старческого возраста по сравнению с остальными больными по субшкалам «Физическое функционирование» (PF) ($p = 0,005$), «Общее состояние здоровья» (GH) ($p < 0,045$).

Пол и количество АА не оказывали влияния на КЖ больных в отдаленном послеоперационном периоде ($p > 0,05$). Было выявлено снижение КЖ в группе больных, перенесших в анамнезе САК по субшкале «Социальное функционирование» (SF) ($p = 0,03$). Проведен анализ КЖ по субшкалам SF-36 в зависимости от проявлений АА в предоперационном периоде (САК, псевдотуморозный тип течения, бессимптомно протекающие АА). Выявлено, что у больных в группе с псевдотуморозным типом течения АА показатели были хуже по данным субшкал «Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» (RP) ($p = 0,004$), «Общее состояние здоровья» (GH) ($p = 0,049$), «Социальное функционирование» (SF) ($p = 0,005$), «Психическое здоровье» (MH) ($p = 0,009$).

Наличие цефалгического синдрома снижало КЖ по показателям «Интенсивность боли» (BP) ($p = 0,004$), «Психическое здоровье» (MH) ($p = 0,04$). Имеющиеся в отдаленном послеоперационном периоде речевые нарушения значимо снижали КЖ по субшкале «Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» (RP) ($p = 0,001$), «Общее состояние здоровья» (GH), «Психическое здоровье» (MH) ($p = 0,04$). Зрительные нарушения снижали КЖ по субшкалам «Общее состояние здоровья» (GH), «Психическое здоровье» (MH) ($p = 0,03$). Наличие нарушения функции ЧМН снижало показатели «Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» (RP) ($p < 0,05$), «Общее состояние здоровья» (GH), «Жизненная активность» (VT), «Психическое здоровье» (MH) ($p = 0,005$). Наличие двигательных нарушений снижало показатели «Физическое функционирование» (PF), «Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» (RP) ($p = 0,0001$), «Общее состояние здоровья» (GH) ($p = 0,01$), «Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием» (RE), «Психическое здоровье» (MH) ($p < 0,05$); кроме того, показатель «Физический компонент здоровья» (PH) также был снижен ($p = 0,001$). Чувствительные нарушения снижали КЖ по субшкалам «Физическое функционирование» (PF), «Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» (RP) ($p = 0,01$). Выявлено, что количество этапов оперативных вмешательств также ассоциировано с КЖ пациентов. В группе наблюдений с двумя и более

хирургическими вмешательствами по сравнению с группой наблюдений с одним оперативным вмешательством было выявлено снижение КЖ по субшкалам «Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» (RP), «Социальное функционирование» (SF), «Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием» (RE), «Психическое здоровье» (MH) ($p = 0,04$), «Психологический компонент здоровья» ($p = 0,001$). Наличие осложнений хирургического лечения ухудшали КЖ пациентов по показателям «Жизненная активность» (VT), «Психологический компонент здоровья» ($p < 0,05$).

Оценка имеющихся у больных в отдаленном послеоперационном периоде нарушений по шкале МКФ проводилась по доменам активности и участия (d4500 – ходьба на близкие расстояния, d4501 – ходьба на дальние расстояния, d4600 – передвижение в пределах жилища, d4602 – передвижение вне своего дома и вне других зданий, d5101 – мытье всего тела, d5400 – надевание одежды, d630 – приготовление пищи, d640 – выполнение работы по дому).

Оценка по доменам активности и участия представлена на рис. 2 (реализация), рис. 3 (капаситет). Адаптация больных в отдаленном послеоперационном периоде к имеющимся нарушениям активности видна в разнице по показателям «реализация» и «капаситет». Данные показатели позволяют оценить навыки больного использовать оборудование, а также вовлеченность окружающих в помощь больному. Выраженность нарушений по домену d4501 – ходьба на близкие расстояния зависела от перенесенного САК ($p < 0,05$). Осложнения эндоваскулярного лечения оказывали влияние на активность пациентов по доменам d4501 – ходьба на дальние расстояния ($p = 0,03$), d640 – выполнение работы по дому ($p = 0,01$).

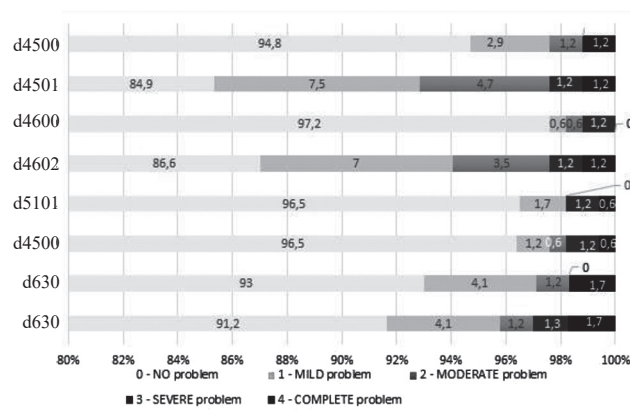


Рис. 2. Оценка активности и участия по шкале МКФ в отдаленном послеоперационном периоде (реализация)

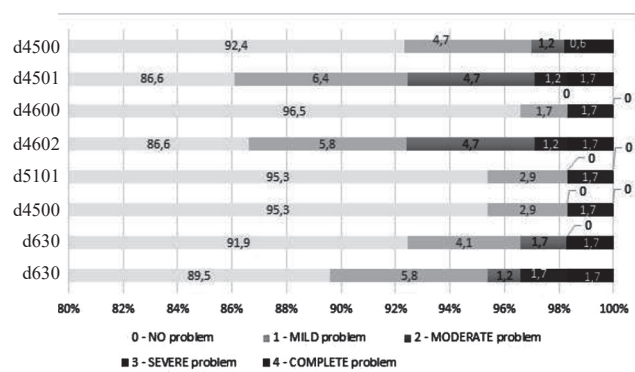


Рис. 3. Оценка активности и участия по шкале МКФ в отдаленном послеоперационном периоде (капситет)

ОБСУЖДЕНИЕ

Качество жизни является важным показателем, позволяющим более полно характеризовать функциональное и психологическое состояние больных после перенесенного САК, осложнений оперативного вмешательства у больных с МНА. В проведенном исследовании уточнены факторы, оказывающие неблагоприятное субъективное восприятие пациентов после эндоваскулярного лечения МНА. Перенесенное САК в анамнезе оказывало влияние только на субшкалу «Социальное функционирование» (SF), что связано с давностью САК, а также успешным проведением реабилитационных мероприятий. Были получены сходные данные о влиянии осложнений оперативных вмешательств на психологический компонент здоровья [17]. В отличие от других исследований [16, 17], нами не выявлено влияния количества аневризм на КЖ, однако установлено, что качество жизни ассоциировано с числом хирургических вмешательств, проведенных на МНА. Это указывает, что необходимость повторных оперативных вмешательств, связанных с рецидивом и (или) реканализацией, появлением новых АА, также оказывает влияние на КЖ. Неврологический дефицит ухудшал КЖ, как и в других исследованиях [18].

Кроме того, нами выявлено, что использование традиционных шкал, включающих оценку КЖ, не всегда позволяет понять, как в реальной жизни функционирует пациент. Уточнить, какова активность и участие в общественной жизни пациента, а также проследить связь с нарушением функций и структур организма позволяет проведение оценки по МКФ. Дополнительную информацию о субъективном восприятии пациента своего состояния позволяет получить анкетирование по шкале SF-36. Все указанные данные дают возможность формировать наиболее полную картину КЖ у больных в отдаленном послеоперационном периоде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Достигнуты хорошие результаты эндоваскулярного лечения множественных аневризм. Качество жизни у больных с МНА зависит от наличия в анамнезе САК, количества перенесенных оперативных вмешательств, осложнений эндоваскулярного лечения, псевдотуморозного течения аневризм. При этом возникает необходимость в дальнейшем проведении реабилитационных мероприятий, а также в усовершенствовании методов хирургического лечения, в проведении контрольных церебральных ангиографий. Учитывая, что КЖ является комплексной оценкой эффективности проведения реабилитационных мероприятий, у больных с МНА оценка этого показателя до и после операции, а также в отдаленном послеоперационном периоде является необходимым критерием оценки функционального состояния больных. Необходимо проведение структурированного скрининга когнитивных жалоб, неврологического дефицита, эмоциональных проблем и уточнение личных факторов. Выявление этих проблем необходимо для адаптации программ реабилитации к индивидуальным потребностям пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vlak M.H., Algra A., Brandenburg R., Rinkel G.J. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*. 2011; 10: 626–636. DOI: 10.1016/S1474-4422(11)70109-0.
2. Wilson F.M., Jaspan T., Holland I.M. Multiple cerebral aneurysms – a reappraisal. *Neuroradiology*. 1989; 31: 232–236. DOI: 10.1007/BF00344349.
3. Juvela S. Risk factors for multiple intracranial aneurysms. *Stroke*. 2000; 31 (2): 392–397. DOI: 10.1161/01.STR.31.2.392.
4. Jabbarli R., Dinger T.F., Darkwah Oppong M., Pierscianek D., Dammann P., Wrede K.H. et al. Risk factors for and clinical consequences of multiple intracranial aneurysms. *Stroke*. 2018; 49 (4): 848–855. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.020342.
5. Muehlschlegel S. Subarachnoid hemorrhage. *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*. 2018; 24 (6): 1623–1657. DOI: 10.1212/CON.0000000000000679.
6. Macdonald R.L., Schweizer T.A. Spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Lancet*. 2017; 389 (10069): 655–666. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30668-7.
7. Хирургия аневризм головного мозга; под ред. В.В. Крылова: в 3 т. М., 2011; 1: 432.
8. Fung C., Mavrikakis E., Filis A., Fischer I., Suresh M., Tortora A., Cornelius J.F., Bostelmann R., Gralla J., Beck J., Raabe A., Khan M.O., Steiger H.J., Petridis A.K. Anatomical evaluation of intracranial aneurysm rupture risk in patients with multiple aneurysms. *Neurosurgical Review*. 2019; 42 (2): 539–547. DOI: 10.1007/s10143-018-0998-1.
9. Хейредин А.С., Элиава Ш.Ш., Яковлев С.Б., Филатов Ю.М., Кафтанов А.Н., Белоусова О.Б., Сазонов И.А., Аруста-

- мян С.Р., Микеладзе К.Г., Бухарин Е.Ю., Дорохов П.С. Тактика хирургического лечения больных с нерезорвавшимися бессимптомными аневризмами церебральных сосудов. *Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко*. 2016; 80 (5): 32–43. DOI: 10.17116/neiro201680532-43.
10. Orning J.L., Shakur S.F., Alaraj A., Behbahani M., Charbel F.T., Aletich V.A., Amin-Hanjani S. Accuracy in identifying the source of subarachnoid hemorrhage in the setting of multiple intracranial aneurysms. *Neurosurgery*. 2018; 83: 62–68. DOI: 10.1093/neuros/nyx339.
 11. Andersen C.R., Fitzgerald E., Delaney A., Finfer S. A systematic review of outcome measures employed in aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH) clinical research. *Neurocritical Care*. 2019; 30 (3): 534–541. DOI: 10.1007/s12028-018-0566-0.
 12. Proust F., Bracard S., Lejeune J.-P., Thines L., Leclerc X., Penchet G., Bergé J., Morandi X., Gauvrit J.-Y., Mourier K., Ricolfi F., Lonjon M., Sedat J., Bataille B., Droineau J., Civit T., Magro E., Pelissou-Guyotat I., Cebula H., Lallouche K., David P., Emery E., Courthéoux P., Vignes J.-R., Bénichou J., Aghakani N., Roche P.-H., Gay E., Bessou P., Guabrilargues J., Irthum B. For the FASHE investigators a randomized controlled study assessing outcome, cognition, autonomy and quality of life in over 70-year-old patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurochirurgie*. 2018; 64 (6): 395–400. DOI: 10.1016/j.neuchi.2018.08.004.
 13. Taufique Z., May T., Meyers E. et al. Predictors of poor quality of life 1 year after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2016; 78 (2): 256–264. DOI: 10.1227/NEU.0000000000001042.
 14. Brilstra E.H., Rinkel G.J.E., van Der Graaf Y., Sluzewski M., Groen R.J., Lo R.T.H., Tulleken C.A.F. Quality of life after treatment of unruptured intracranial aneurysms by neurosurgical clipping or by embolisation with coils: A prospective, observational study. *Cerebrovascular Diseases*. 2004; 17 (1): 44–52. DOI: 10.1159/000073897.
 15. Yamashiro S., Nishi T., Koga K. et al. Improvement of quality of life in patients surgically treated for asymptomatic unruptured intracranial aneurysms. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2007; 78 (5): 497–500. DOI: 10.1136/jnnp.2006.098871.
 16. Dammann P., Wittek P., Darkwah Oppong M., Hütter B.-O., Jabbarli R., Wrede K., Wanke I., Mönninghoff C., Kaier K., Frank B., Müller O., Kleinschnitz C., Forsting M., Sure U. Relative health-related quality of life after treatment of unruptured intracranial aneurysms: long-term outcomes and influencing factors. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2019; 12: 1–12. DOI: 10.1177/1756286419833492.
 17. Pala A., Pawlikowski A., Brand C., Schmitz B., Wirtz C.R., König R., Kapapa T. Quality of life after treatment of unruptured intracranial aneurysms. *World Neurosurgery*. 2019. 121: e54–59. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.09.010.
 18. Passier P.E.C.A., Visser-Meily J.M.A., Rinkel G.J.E., Lindeman E., Post M.W.M. Determinants of health-related quality of life after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A systematic review. *Quality of Life Research*. 2013. 22 (5): 1027–1043. DOI: 10.1007/s11136-012-0236-1.

Вклад авторов

Олейник А.А. – анализ и интерпретация данных. Иванова Н.Е. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Горощенко С.А. – разработка концепции и дизайна. Олейник Е.А. – разработка концепции и дизайна. Иванов А.Ю. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания.

Сведения об авторах

Олейник Анна Анатольевна, врач-невролог, РНХИ им. проф. А.Л. Поленова, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-0848-5706.

Иванова Наталия Евгеньевна, д-р мед. наук, профессор, зав. научным отделом РНХИ им. проф. А.Л. Поленова, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0003-2790-0191.

Горощенко Сергей Анатольевич, канд. мед. наук, врач-нейрохирург, РНХИ им. проф. А.Л. Поленова, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0001-7297-3213.

Олейник Екатерина Анатольевна, врач-невролог, РНХИ им. проф. А.Л. Поленова, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0001-7559-1499.

Иванов Алексей Юрьевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра сердечно-сосудистой хирургии, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0001-5777-2886.

(✉) Олейник Анна Анатольевна, e-mail: doctor.an.an@mail.ru.

Поступила в редакцию 05.08.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Изменение показателей свертывающей системы крови и неспецифических плазменных протеиназ при развитии синдрома ишемии-реперфузии

Писарев А.А.¹, Петренко В.И.¹, Кубышкин А.В.¹, Харченко В.З.¹, Фомочкина И.И.¹, Кузичкин Д.С.²

¹ Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет (КФУ) им. В.И. Вернадского
Россия, Республика Крым, 295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7

² Государственный научный центр Российской Федерации (ГНЦ РФ), Институт медико-биологических проблем (ИМБП) Российской академии наук (РАН)
Россия, 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76а

РЕЗЮМЕ

Цель. Определить общие закономерности патогенетических изменений в свертывающей системе крови, неспецифических протеиназ и их ингибиторов при развитии экспериментального синдрома ишемии-реперфузии.

Материалы и методы. Исследование проведено на 48 половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 180–200 г. Модель синдрома ишемии-реперфузии создавали наложением резиновых жгутов на обе задние конечности на уровне паховой складки сроком на 6 ч. Реваскуляризацию производили через 6, 12 и 24 ч после наложения жгутов. Оценивали состояние внутреннего и внешнего путей свертывания крови, активность неспецифических протеиназ и их ингибиторов.

Результаты. Показатели свертывающей системы крови свидетельствуют о развитии гипокоагуляционных изменений по мере удлинения времени реперфузии. Выявлено повышение значения протромбинового времени (ПВ) на 112,0% ($p = 0,0142$) и увеличение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) на 170,0% ($p = 0,0147$) к 6-му ч реперфузии по сравнению с группой контроля. К 12-м ч реперфузии протромбиновое время возрастало до 174,2% ($p = 0,0389$), АЧТВ – в 4,95 раза ($p = 0,0002$), а растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) – на 121,3% ($p = 0,0300$). Длительность реперфузионного периода до 24 ч характеризовалась сохранением высоких значений ПВ и АЧТВ, РФМК с повышением содержания антитромбина III – на 11,4% ($p = 0,0371$) и снижением протеина С на 71,4% ($p = 0,0071$). Изменение показателей неспецифических протеиназ и их ингибиторов характеризовалось ростом активности трипсиноподобных протеиназ в 2,8 раза ($p < 0,001$) по отношению к контролю, а также снижением антитриптической активности и уровня кислотостабильных ингибиторов в 2,2 раза ($p < 0,001$) с максимумом через 24 ч реперфузии. Выявлена прямая корреляционная связь между показателями, характеризующими дефицит факторов системы свертывания, и снижением антипротеиназного потенциала.

Заключение. На основании результатов исследования показателей системы свертывания крови и неспецифических протеиназ при развитии синдрома ишемии-реперфузии установлено, что нарушения в системе гемостаза характеризуются развитием гипокоагуляции на фоне роста активности трипсиноподобных протеиназ и снижения уровня их ингибиторов. Установленные изменения могут быть связаны с развитием дефицита факторов свертывания и ингибиторов протеиназ и иметь общие механизмы развития.

Ключевые слова: свертывающая система крови, синдром ишемии-реперфузии, неспецифические протеиназы.

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

✉ Кубышкин Анатолий Владимирович, e-mail: kubyshkin_av@mail.ru.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке Программы развития ФГАОУ «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» на 2015–2024 гг. в рамках реализации академической мобильности по проекту «Сеть академической мобильности «Развитие научных исследований в области экспериментальной медицины – РНИЭМ», а также при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований «Механизмы участия провоспалительных и апоптотических факторов в инициации повреждения органов при экстремальных состояниях», проект № 17-415-92010p_a.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комитетом по этике ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» (протокол № 2 от 11.09.2015).

Для цитирования: Писарев А.А., Петренко В.И., Кубышкин А.В., Харченко В.З., Фомочкина И.И., Кузичкин Д.С. Изменение показателей свертывающей системы крови и неспецифических плазменных протеиназ при развитии синдрома ишемии-реперфузии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 67–75. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-67-75>.

Changes in the blood coagulation system and non-specific plasma proteinases in ischemia-reperfusion injury

Pisarev A.A.¹, Petrenko V.I.¹, Kubyshkin A.V.¹, Kharchenko V.Z.¹, Fomochkina I.I.¹, Kuzichkin D.S.²

¹ Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University 5/7, Lenin Boul., Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

² State Scientific Center of the Russian Federation, Institute of Medical and Biological Problems of Russian Academy of Sciences 76a, Khoroshevskoe Highway, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the general patterns of pathogenetic changes in the blood coagulation system and in non-specific proteinases and their inhibitors during the development of experimental ischemia-reperfusion injury.

Materials and methods. The study was conducted on 48 male Wistar rats (180–200 g). We used a model of ischemia-reperfusion injury achieved by applying rubber tourniquets to both hind limbs at the inguinal fold level for 6 hours. Revascularization was performed for 6, 12, or 24 hours following the application of tourniquets, after which we examined the state of the internal and external blood coagulation pathways and the activity of non-specific proteinases and their inhibitors.

Results. Indicators of blood coagulation system change show the development of blood hypocoagulation changes as the reperfusion time increases. By the 6th hour of reperfusion, the prothrombin time (PT) was lengthened by 112.0% ($p = 0.0142$) and the activated partial thromboplastin time (APTT) by 170.0% ($p = 0.0147$) compared with values in the control group. By the 12th reperfusion hour, the PT was lengthened by 174.2% ($p = 0.0389$), and the APTT increased 4.9-fold ($p = 0.0002$). When the reperfusion period was increased to 24 hours, it was characterized by lengthened PT and APTT, accompanied by an increase in antithrombin III by 11.5% ($p = 0.0371$) and a decrease in protein C by 71.4% ($p = 0.0071$). Changes in the non-specific proteinases and their inhibitors were characterized by a 2.8-fold increase in the trypsin-like proteinase activity ($p < 0.001$) relative to the control, as well as a 2.2-fold decrease in antitrypsin activity and acid-stable inhibitors ($p < 0.001$), which reached a maximum after 24 hours of reperfusion. A direct correlation was found between indicators characterizing the deficiency of coagulation system factors and a decrease in antiproteinase potential.

Conclusion. Hemostatic system disorders are characterized by the development of hypocoagulation during ischemia-reperfusion injury as the result of an increase in the trypsin-like proteinase activity and a decrease in the levels of inhibitors. The established changes may be associated with the deficiency of coagulation factors and proteinase inhibitors and share common pathogenic mechanisms.

Key words: blood coagulation, ischemia-reperfusion injury, non-specific proteinases.

Conflict of interest. Authors declare no actual or potential conflict of interest related to publication of this manuscript.

Source of financing. The study was conducted with support of 2015-2024 V.I. Vernadsky Crimean Federal University Development program in line with the realization of “Network of Academic Mobility” project “The Development of Scientific Research in Experimental Medicine” and with the support of Russian Foundation for Basic Research (project № 17-415-92010p_a)

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the ethics committee at V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Protocol No. 2 of 11.09.2015).

For citation: Pisarev A.A., Petrenko V.I., Kubyshekin A.V., Kharchenko V.Z., Fomochkina I.I., Kuzichkin D.S. Changes in the blood coagulation system and non-specific plasma proteinases in ischemia-reperfusion injury. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 67–75. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-67-75>.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения в свертывающей системе крови являются одним из факторов, осложняющих течение различных критических состояний. Наряду с синдромом полиорганной недостаточности и формированием синдрома системного воспалительного ответа, нарушения в свертывающей системе, крайним проявлением которых является формирование синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома) [1], существенно влияют на течение основного, сопутствующего, фонового заболевания, эффективность лечения и летальность пациентов. В последнее время врачи различных специальностей все чаще сталкиваются с формированием синдрома ишемии-реперфузии, который встречается в ангиохирургии, трансплантологии, травматологии, различных областях внутренней медицины (инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения), медицине неотложных состояний [1, 2]. Существенное значение в патогенезе синдрома ишемии-реперфузии имеет формирование полиорганной недостаточности, среди проявлений которой одну из ключевых ролей играют нарушения со стороны свертывающей системы, а также неспецифических протеиназ [2, 3].

Повреждение тканей при реперфузионных расстройствах и связанное с ним развитие воспалительной реакции играют важную роль в патогенезе коагуляционных и сосудисто-тромбоцитарных нарушений, поскольку являются одной из причин возникновения эндотелиальной дисфункции, повышения активности тромбоцитов, активации плазменных факторов свертывания, нарушений функций физиологических антикоагулянтов и подавления фибринолитической активности [4]. Указанные нарушения могут варьировать от субклинических форм (локальное венозное тромбообразование) до формирования тяжелых нарушений гемостаза, вплоть до ДВС-синдрома, характеризующегося массивным системным

тромбообразованием с последующим возникновением эпизодов кровотечения вследствие потребления факторов свертывания [5].

Провоспалительные реакции у пациентов с экстракренными состояниями сопровождаются комплексными гуморальными и клеточными взаимодействиями с активацией многочисленных сигнальных путей, включая генерацию или экспрессию тромбина, комплемента, цитокинов, нейтрофилов, молекул адгезии и множества воспалительных медиаторов. Избыточность воспалительных каскадов при неблагоприятном течении основного заболевания приводит к полиорганной дисфункции, которая может проявляться в виде коагулопатии, дисфункции миокарда, дыхательной, почечной недостаточности и нейрокогнитивных дефектов. Коагуляция и воспаление также тесно взаимосвязаны через сети как гуморальных, так и клеточных компонентов, включая факторы свертывания, неспецифические протеиназы и фибринолитические каскады [6, 7]. Несмотря на значительное количество современных отечественных и зарубежных научных трудов, посвященных изучению состояния свертывающей системы и протеолиза при критических состояниях, многие вопросы патогенеза и, как следствие, лечебной тактики остаются дискуссионными.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования являются определение общих закономерностей патогенетических изменений в свертывающей системе крови, неспецифических протеиназ и их ингибиторов при развитии экспериментального синдрома ишемии-реперфузии и обоснование этиопатогенетических подходов экспериментальной коррекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 48 белых самцах крыс линии Вистар массой 180–200 г. Животных содержали в стандартных идентичных условиях

(«Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», ГОСТ 33215-2014, ст. 5 Конвенции), что необходимо для создания структурной группы. Исследования и эвтаназия выполнялись в строгом соответствии с государственными и международными нормами о гуманном отношении к животным и соблюдением основных положений нормативно-правовых актов [8–10].

Экспериментальные исследования по изучению патогенетических изменений в свертывающей системе крови, неспецифических протеиназ и их ингибиторов проводили на модели синдрома ишемии-реперфузии, который моделировали путем наложения резиновых жгутов на обе задние конечности на уровне паховой складки сроком на 6 ч [3]. Ширина пережатия тканей составила 2–3 мм. Показателями правильности наложения жгута являлись отсутствие отека конечностей и бледность их окраски. Реваскуляризацию производили одномоментно путем рассечения жгутов через 6 ч после их наложения [3]. Посредством простой рандомизации были сформированы следующие экспериментальные группы животных: группа контроля ($n = 15$) – интактные животные; группа реперфузии 6 ч ($n = 12$) – группа 2; группа реперфузии 12 ч ($n = 11$) – группа 3; группа реперфузии 24 ч ($n = 10$) – группа 4. Материалом для исследования служила кровь крыс, которую получали путем выполнения кардиопункции, однократно, объемом 4 мл в одноразовые пробирки вакутейнеры с 0,05 М ЭДТА в течение 10–15 с. Кровь центрифугировали в течение 15 мин при 1 200 g. Эвтаназию животных осуществляли после предварительной наркотизации тиопенталом натрия (40 мг/кг) путем декапитации [11].

Для оценки состояния свертывающей системы определяли следующие показатели: протромбиновое время (ПВ), с; активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), с; концентрация фибриногена (ФБГ), г/л; растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), мг/л, антитромбин III (АТ III), %; пламиноген (ПГ), %; α 2-антиплазмин (АПЛ), %; протеин С (ПС), %. Показатели гемостаза измеряли на автоматическом коагулометре СА 1500 (Sysmex, Япония) с использованием стандартных коммерческих наборов реактивов (Simens, Германия). Концентрацию ФБГ, ПВ и АЧТВ измеряли клоттинговыми методами. Концентрацию АТ III, АПЛ, ПС и ПГ определяли с помощью хромогенных методов. Содержание РФМК оценивали ручным паракоагуляционным методом с использованием наборов реагентов (Технология-Стандарт, Россия).

Для оценки показателей активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов определяли трип-

синоподобную, эластазоподобную и антитриптическую активности (ТПА, ЭПА, АТА), а также уровень кислотостабильных ингибиторов (КСИ). Изучение активности компонентов протеиназ-ингибиторной системы проводили с использованием энзиматических методов на спектрофотометре Biomat 5 (Великобритания) [12, 13]. ТПА определяли по скорости отщепления N-бензоил-L-аргинина от синтетического субстрата этилового эфира N- α -Benzoil-L-arginine ethyl ester hydrochloride (BAEE) (Sigma, США). Исследование ЭПА проводили на основании изучения скорости гидролиза синтетического субстрата Boc-L-alanine-4-nitrophenil ester (Boc-Ala-ONp) (Sigma, США). Определение АТА проводили на основании торможения расщепления трипсином BAEE. Аналогично изучали активность КСИ после предварительной подготовки сыворотки путем прогревания в кислой среде.

Полученные в процессе исследования данные обрабатывались методом математической статистики с использованием сертифицированного компьютерного пакета обработки данных MedStat для работы в среде Windows. Определялись основные статистические характеристики: среднее M , ошибка среднего m и стандартное отклонение s . Все показатели выражены количественно, распределение не отличалось от нормального, согласно критерию Шапиро – Уилка [14]. Для сравнения групповых средних в двух группах использовался t -критерий Стьюдента. Результаты статистической обработки показателей системы гемостаза представлены в виде относительных различий с контрольной группой (%). Для оценки степени взаимосвязей проводился корреляционный анализ с вычислением линейного коэффициента корреляции Пирсона, в качестве программы использована программа Microsoft Excel 2016, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований при анализе свертывающей системы крови крыс с экспериментальным синдромом ишемии-реперфузии выявлена закономерная динамика изменения показателей. Выявленные изменения наблюдаются уже к 6-му ч развития ишемически-реперфузионного повреждения как в показателях внешнего, так и внутреннего пути свертывания крови: повышение значения ПВ – на 112,0% ($p = 0,0142$), удлинение АЧТВ – на 170,0% ($p = 0,0147$) по сравнению с группой контроля (рис. 1). Также при 6-часовой ишемии-реперфузии наблюдалось выраженное снижение уровня АТ III (рис. 2) на 29,6% ($p = 0,0002$), снижение уровня ПГ – на 29,6% ($p = 0,0207$), наряду со снижени-

ем уровня АПЛ крови крыс на 11,7% ($p = 0,0256$) по сравнению с контрольными значениями (рис. 3).

При моделировании синдрома ишемии-реперфузии в течение 12 ч наблюдалось увеличение ПВ на 174,2% ($p = 0,0389$), АЧТВ – в 4,95 раза ($p = 0,0002$)

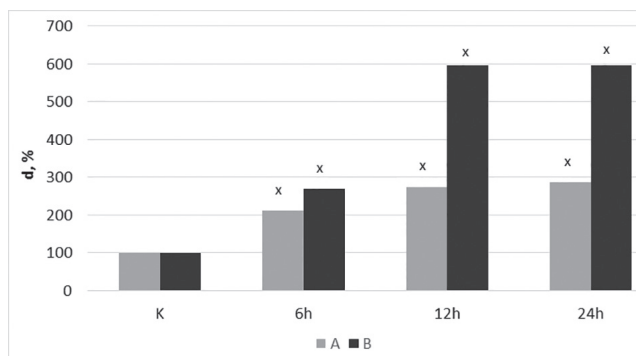


Рис. 1. Протромбиновое время (А) и активированное частичное тромбопластиновое время (В) в группах с различной длительностью (6, 12 и 24 ч) ишемии-реперфузии (d, %) относительно контрольной (К) группы. Здесь и на рис. 2–4: X – различие с контрольной группой (К) по Стьюденту ($p < 0,05$)

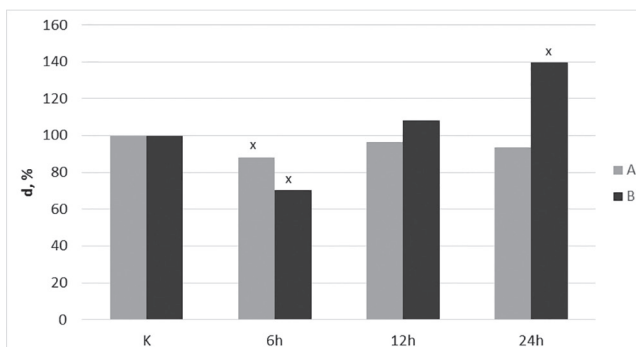


Рис. 3. Уровни плазминогена (А) и антиплазмина (В) в группах с различной длительностью (6, 12 и 24 ч) ишемии-реперфузии (d, %) относительно контрольной (К) группы

Увеличение длительности реперфузионного периода до 24 ч сопровождалось ростом РФМК на 59,6% ($p = 0,0114$), повышением содержания АТ III на 11,5% ($p = 0,0371$), снижением ПС на 71,4% ($p = 0,0071$) (см. рис. 3), увеличением ПГ на 39,8% ($p = 0,0494$), а также максимальным сдвигом следующих показателей: удлинением ПВ на 186,6% ($p = 0,0346$), максимальным ростом АЧТВ – в 4,9 раза ($p = 0,0147$) по сравнению с контрольными величинами.

В целом можно предположить, что в течение 24-часового реперфузионного периода имеет место системное повреждение тканей, которое сопровождается острофазным ответом, представляющим собой реакцию на стрессорное воздействие, на фоне

по сравнению с контрольными показателями. Уровень АТ III при 12-часовой ишемии-реперфузии снизился на 10,4% ($p = 0,0442$). Содержание РФМК увеличилось на 121,3% ($p = 0,0300$) по сравнению с контрольным уровнем (рис. 4).

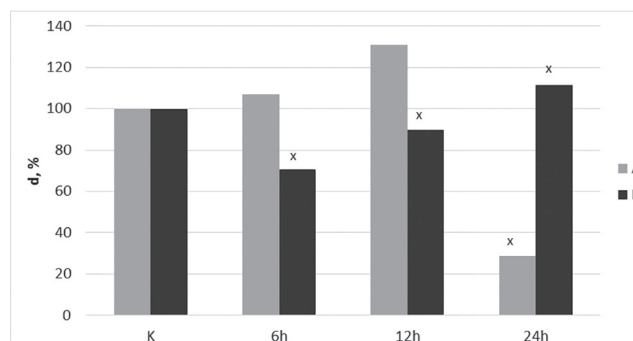


Рис. 2. Уровни протеина С (А) и антитромбина III (В) в группах с различной длительностью (6, 12 и 24 ч) ишемии-реперфузии (d, %) относительно контрольной (К) группы

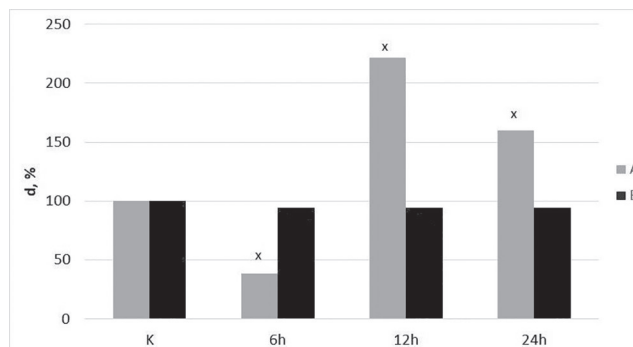


Рис. 4. Уровни растворимых фибрин-мономерных комплексов (А) и фибриногена (В) в группах с различной длительностью (6, 12 и 24 ч) ишемии-реперфузии (d, %) относительно контрольной (К) группы

которого наблюдаются отчетливые признаки развития коагулопатии потребления.

В первые 6 ч наблюдалось снижение активности ПГ. В последующие сроки, вероятно, происходит инактивация плазмина продуктами фибринолиза и (или) не происходит активации ПГ. Свободный АПЛ также расходуется на связывание с плазмином и принимает участие в реакциях ингибирования неспецифических протеиназ [15]. ПГ и АПЛ тоже являются белками острой фазы, и их уровень растет к 24 ч эксперимента на фоне относительно сниженного потребления вследствие гипокоагуляции.

В первые 6 ч уровень АТ III уменьшается, что вызвано ответной реакцией на активацию процесса

свертывания, однако по мере расходования тромбина и других кофакторов для АТ III (Ха, XIa, IXa), плазменный уровень свободного АТ III начинает расти.

В ходе эксперимента наблюдалась несколько отличная динамика изменения уровня ПС. В отличие от АТ и АПЛ, белков-кофакторов, чей уровень уменьшается сразу после связывания с мишенями, протеин С является ферментом. Тромбин-антитромбиновый комплекс разрушается протеолитическими системами печени в течение нескольких минут; время полувыведения ПС из циркуляции – около 6 ч. Таким образом, в ходе ишемии-реперфузии, по всей вероятности, имеет место быстрое истощение функциональных резервов и развитие гипокоагуляции уже к 6-му ч повреждающего воздействия.

Наряду с изучением динамики показателей свертывающей системы крови в ходе проведения эксперимента исследовали характер сдвигов активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови экспериментальных животных в

зависимости от сроков развития синдрома ишемии-реперфузии. Анализ полученных данных показал следующую динамику изменения активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов (табл. 1). Так, через 6 ч после ревааскуляризации конечностей эластазоподобная активность сыворотки крови была ниже контрольных значений в 3,8 раза ($p = 0,0012$), а через 12 ч наблюдалось еще большее понижение, вплоть до значения, которое составило 19,0% от контрольного показателя ($p = 0,0008$). Выраженное снижение ЭПА, по нашему мнению, свидетельствует об активации естественных ингибиторов протеиназ, которые нейтрализуют эластазу, уменьшая ее сывороточную активность в разы. Через 24 ч после развития ишемии-реперфузии наметилась тенденция к росту ЭПА; при этом активность оставалась ниже контрольного параметра в 2 раза ($p = 0,0011$). По-видимому, по истечении 1-х сут после развития ишемии-реперфузии ингибиторный контроль ослабевал, что приводило к повышению протеолитической активности сыворотки крови.

Таблица 1

Изменение протеолитической активности и ингибиторного потенциала крови крыс с моделью ишемически-реперфузионного повреждения в различные сроки наблюдений, $M \pm m$				
Группа	ЭПА, нмоль/мл × мин	ТПА, нмоль/мл × мин	АТА, ИЕ/мл	КСИ, ИЕ/мл
Контроль, $n = 15$	$2,19 \pm 0,14$	$0,26 \pm 0,02$	$34,67 \pm 1,57$	$6,83 \pm 0,30$
Синдром И/Р 6 ч, $n = 12$	$0,57 \pm 0,05$ $p = 0,0012$	$0,50 \pm 0,06$ $p = 0,0006$	$20,61 \pm 1,16$ $p = 0,0009$	$3,18 \pm 0,31$ $p = 0,0009$
Синдром И/Р 12 ч, $n = 11$	$0,41 \pm 0,02$ $p = 0,0008$	$0,73 \pm 0,06$ $p = 0,0011$	$25,76 \pm 1,76$ $p = 0,0743$	$3,39 \pm 0,30$ $p = 0,0012$
Синдром И/Р 24 ч, $n = 10$	$1,10 \pm 0,09$ $p = 0,0011$	$0,46 \pm 0,12$ $p = 0,0472$	$16,02 \pm 0,79$ $p = 0,0004$	$3,08 \pm 0,23$ $p = 0,0007$

Примечание. Здесь и в табл. 2: И/Р – ишемия-реперфузия; ЭПА – эластазоподобная активность; ТПА – трипсиноподобная активность; АТА – антитриптическая активность; КСИ – кислотостабильные ингибиторы; p – статистически значимые корреляционные связи.

Динамика ТПА сыворотки крови при формировании реперфузионного повреждения характеризовалась другими изменениями. Так, через 6 ч после ревааскуляризации конечностей значение ТПА стало на 48,0% выше контрольного ($p = 0,0006$), а через 12 ч показатель, достигнув максимального уровня, превысил показатели контроля в 2,8 раза ($p = 0,0011$), что, по-видимому, связано с поступлением в системный кровоток большого количества протеиназ из ранее ишемизированных тканей. В дальнейшем отмечалась тенденция к снижению исследуемого показателя. Так, через 24 ч после реперфузии ТПА, понизившись на 37,0%, оставалась на 43,0% выше значения в контрольной группе ($p = 0,0472$), что

свидетельствует о запуске компенсаторных механизмов и своевременном повышении ингибиторной активности. Интересные данные, подтверждающие наши предыдущие предположения, были получены при изучении антитриптической активности: через 6 ч после реперфузии отмечалось снижение АТА в 1,7 раза ($p = 0,0009$), а через 12 ч – в 1,4 раза. В дальнейшем снижение изучаемого показателя прогрессировало, и к 24-му ч после реперфузии АТА стала ниже контрольного значения в 2,2 раза ($p = 0,0004$).

Уровень кислотостабильных ингибиторов также в значительной степени зависел от длительности реперфузионного периода. Так, через 6 ч после ре-

васкуляризации уровень КСИ был ниже контрольного значения в 2,2 раза ($p = 0,0009$), через 12 ч – в 2 раза ($p = 0,0012$), через 24 ч – в 2,2 раза ($p = 0,0007$). Описанная динамика уровня КСИ связана с их повышенным потреблением в результате повышения активности протеиназ.

Таким образом, следует отметить повышение активности неспецифических протеиназ крови при формировании реперфузионного повреждения на ранних его этапах, в ответ на которое имеет место

рост ингибиторной активности. При продолжающемся реперфузионном воздействии отмечается тенденция к снижению ингибиторной емкости и увеличивается активность неспецифических протеиназ крови экспериментальных животных.

Для выяснения взаимосвязей между показателями коагулограммы и состоянием системы неспецифических протеиназ и их ингибиторов при экспериментальном синдроме ишемии-реперфузии нами был проведен корреляционный анализ (табл. 2).

Таблица 2

Результаты корреляционного анализа показателей коагулограммы и активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов								
Показатель	ПВ	АЧТВ	ФБГ	РФМК	АПЛ	АТ III	ПС	ПГ
ЭПА	-0,799 $p = 0,002$	-0,869 $p = 0,002$	+0,930 $p = 0,001$	-0,248	+0,670 $p = 0,032$	+0,521 $p = 0,048$	-0,232	+0,153
ТПА	+0,781 $p = 0,003$	+0,820 $p = 0,002$	-0,786 $p = 0,003$	0,594 $p = 0,043$	-0,296	-0,318	+0,358	+0,031
АТА	-0,826 $p = 0,002$	-0,833 $p = 0,002$	+0,867 $p = 0,002$	-0,045	+0,755 $p = 0,006$	-0,003	+0,585 $p = 0,046$	-0,304
КСИ	-0,921 $p = 0,001$	-0,959 $p = 0,001$	+0,997 $p = 0,001$	-0,217	+0,752 $p = 0,005$	+0,248	+0,201	-0,127

Примечание. ПВ – протромбиновое время; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ФБГ – фибриноген; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; АПЛ – $\alpha 2$ -антиплазмин; АТ III – антитромбин III; ПС – протеин С; ПГ – плазминоген. Знак «-» указывает на обратную корреляцию.

Выявлена значимая положительная корреляционная связь между изменениями показателей ТПА и ПВ, АЧТВ, РФМК в крови во время формирования синдрома ишемии-реперфузии в течение 6, 12 и 24 ч ($r = 0,78$; $0,82$ и $0,59$ соответственно): чем больше росла активность данной протеиназы, тем больше увеличивались значения показателей свертывания крови по внешнему (ПВ) и внутреннему пути (АЧТВ), а также все выше поднималась концентрация РФМК в крови экспериментальных животных. При этом для показателей АТА и ПВ с АЧТВ выявлена отрицательная корреляционная связь (коэффициенты корреляции $-0,82$ и $-0,83$ соответственно), т.е. большая антитриптическая активность, преимущественно $\alpha 1$ -ингибитора-протеиназ, соответствовала меньшему уровню вышеуказанных показателей коагулограммы. Кроме того, было установлено, что антитриптическая активность прямо пропорционально коррелирует со значениями ФБГ, АПЛ и ПС (коэффициент корреляции $0,86$; $0,75$ и $0,5$ соответственно), т.е. чем больше ингибиторный потенциал протеиназной системы в виде повышения АТА, тем выше значение данных лабораторных показателей.

Между уровнем КСИ и показателями ПВ и АЧТВ выявлена отрицательная корреляционная зависимость (коэффициент корреляции $-0,92$ и $-0,95$ соот-

ветственно), а также положительная корреляционная связь между показателями КСИ и уровнем ФБГ и АПЛ (коэффициент корреляции $0,99$ и $0,75$ соответственно).

При анализе значений ЭПА при синдроме ишемии-реперфузии и показателей коагулограммы – ПВ и АЧТВ, выявлена отрицательная корреляционная активность (коэффициент корреляции $-0,79$ и $-0,86$ соответственно), а при изучении значений ФБГ, АПЛ, АТ III – положительная корреляционная связь (коэффициент корреляции $0,93$; $0,67$ и $0,52$ соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ динамики показателей свертывающей системы свидетельствует о значительных отличиях и стадийности в реакции системы гемостаза в разные сроки формирования синдрома ишемии-реперфузии. Так, уже при кратковременной, 6-часовой, ишемии-реперфузии наблюдается преобладание гипокоагуляции, что можно объяснить системной активацией плазменных систем в ответ на острое повреждение, на что указывает увеличение РФМК как маркера последствия развивающейся тромбинемии в ответ на острое повреждение. Увеличение длительности течения синдрома ишемии-реперфузии

(до 12 и, особенно, до 24 ч) приводит к дальнейшим сдвигам, свидетельствующим об усугублении гипокоагуляционных расстройств, что, по-видимому, связано с истощением факторов свертывания крови и неадекватным их поступлением в системный кровоток из-за снижения синтетической функции печени в условиях длительной стимуляции и большой функциональной нагрузки.

Аналогичным образом направленные изменения наблюдаются в системе неспецифических протеиназ и их ингибиторов. Анализ динамики показателей протеиназ и их ингибиторов в разные сроки реперфузионного синдрома свидетельствует о выраженной активации неспецифических протеиназ (ТПА) в сыворотке крови экспериментальных животных с моделью ишемии-реперфузии, что связано с непосредственным участием протеолитических ферментов как в гемокоагуляционном каскаде, так и в системном адаптационном ответе организма на массивное повреждение эндотелия. Так, в сроки ишемии-реперфузии 6 ч имеет место компенсаторное повышение ингибиторов протеиназ, на фоне которого уменьшалась протеиназная активность. С увеличением длительности синдрома ишемии-реперфузии (12 и 24 ч) наблюдалось истощение ингибиторного потенциала с ростом протеиназной активности.

Наиболее выраженные изменения как в системе гемостаза, так и в системе неспецифических протеиназ и их ингибиторов выявлены в группе ишемии-реперфузии продолжительностью 24 ч, в которой наблюдался срыв адаптационных возможностей организма в виде истощения факторов свертывания крови и, как следствие, выраженный сдвиг показателей системы гемостаза в сторону гипокоагуляции, а также увеличение протеиназной активности на фоне дефицита ингибиторного потенциала, что может быть предрасполагающим фактором к развитию ДВС-синдрома. Данное предположение находит отклик и в литературных данных, подтверждающих развитие ДВС-синдрома в ответ на системную активацию коагуляционного пути [16]. Внутрисосудистое образование фибрина усиливается дисфункцией природных антикоагулянтных систем, таких как антитромбиновые (АТ III) и белковые системы (ПС), во время активного развития ДВС. В дальнейшем все компоненты коагуляционного и противкоагуляционного каскада истощаются, что приводит к полной несвертываемости крови [17].

Статистически значимые данные корреляционного анализа подтверждают вышеописанные предположения и свидетельствуют о тесной взаимосвязи между изменениями показателей системы свертывания

крови и параметрами протеиназ-ингибиторной системы. По-видимому, изменения состояния системы свертывания крови при синдроме ишемии-реперфузии, а именно, начальная гипокоагуляция с последующим дальнейшим увеличением продолжительности времени свертывания крови (показателей внешнего и внутреннего пути) на сроке 12 и 24 ч, тесно взаимосвязаны и могут быть обусловлены изменениями в протеиназ-ингибиторной системе в виде роста протеолитической активности и уменьшения ингибиторного потенциала. Возможно, именно дефицит ингибиторов совместно с недостатком факторов свертывания крови на фоне сниженной синтетической функции печени на более поздних сроках формирования синдрома ишемии-реперфузии являются ключевыми звеньями патогенеза и возможными целями коррекции данных нарушений не только на фоне реперфузионного повреждения, а также при ДВС-синдроме, приобретенных тромбофилических состояниях и других нарушениях свертывания крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов экспериментального исследования по изучению показателей свертывающей системы крови и неспецифических протеиназ при развитии синдрома ишемии-реперфузии в течение 6, 12 и 24 ч установлено, что нарушения в системе гемостаза характеризуются развитием гипокоагуляции на фоне роста активности трипсиноподобных протеиназ и снижения уровня их ингибиторов. Установленные изменения могут быть связаны с развитием дефицита факторов свертывания и ингибиторов протеиназ и иметь общие механизмы развития, связанные как с их избыточным потреблением в условиях длительной активации коагуляционного каскада, так и, возможно, со снижением синтетической функции печени в условиях длительной функциональной нагрузки гепатоцитов и их гипоксического и реперфузионного повреждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maegele M., Schöchl H., Cohen M.J. An up-date on the coagulopathy of trauma. *Shock*. 2014; 41 (21): 21–25. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000088.
2. Федосов М.И., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В., Бабанин А.А., Пылаева Н.Ю. Патогенетическое значение протеолитических и цитокиновых механизмов при реперфузионном синдроме. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012; 15 (3): 353–357.
3. Харченко В.З., Кубышкин А.В., Анисимова Л.В., Фомочкина И.И., Иванцова Н.Л., Жукова А.А. и др. Ингибиторы протеиназ и антиоксиданты в патогенетической терапии

- органопатологии при реперфузионном синдроме, осложненном кровопотерей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2016; 7 (2): 49–52.
4. Maegle M., Spinella P.C., Schoechl H. The acute coagulopathy of trauma: mechanisms and tools for risk stratification. *Shock*. 2012; 38 (5): 450–458. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31826dbd23.
 5. Oshiro A., Yanagida Y., Gando S., Henzan N., Takahashi I., Makise H. Hemostasis during the early stage of trauma: comparison with disseminated intravascular coagulation. *Critical Care*. 2014; 18: 61–63. DOI: 10.1186/cc13816.
 6. Francis A., Baynosa R. Ischaemia-reperfusion injury and hyperbaric oxygen pathways: a review of cellular mechanisms. *Diving and Hyperbaric Medicine*. 2017; 47 (2): 110–117. DOI: 10.28920/dhm47.2.110-117.
 7. Kalogeris T., Baines C.P., Krenz M., Korthuis R.J. Ischemia-reperfusion. *Comprehensive Physiology*. 2016; 7 (1): 113–170. DOI: 10.1002/cphy.c160006.
 8. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль, 2010: 344.
 9. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. 8-е изд.; пер. с англ. под ред. И.В. Белозерцевой, Д.В. Блинова, М.С. Красильщиковой. М.: ИРБИС, 2017: 336.
 10. Конвенция Совета Европы о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, 1986: 37.
 11. Рекомендации по эвтаназии экспериментальных животных. Документ экспертной группы Европейской комиссии. Ч. 1. 1996; 30: 293–316. Ч. 2. 1997; 31: 1–32.
 12. Оглоблина О.Г., Платонова Л.В., Пасхина Т.С. Измерение активности трипсино- и эластазоподобных протеиназ полиморфноядерных лейкоцитов и уровня их кислотостабильных ингибиторов в бронхиальном секрете человека. М.: Изд-во МГУ, 1984: 14.
 13. Кубышкин А.В., Харченко В.З., Семенец П.Ф., Алиев Л.Л., Фомочкина И.И., Анисимова Л.В. Методы определения активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и биологических жидкостях. Киев: Изд-во КНМУ, 2010: 28.
 14. Hanusz Z., Tarasinska J. Simulation Study on Improved Shapiro – Wilk Tests for Normality. *Communications in Statistics – Simulation and Computation*. 2014; 43 (9): 2093–2105. DOI: 10.1080/03610918.2013.844835.
 15. Iba T., Kidokoro A. High-dose antithrombin therapy for sepsis: mechanisms of action. *Shock*. 2002; 18 (5): 389–394. DOI: 10.1097/00024382-200211000-00001.
 16. Levi M., Toh C.H., Thachil J., Watson H.G. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. *British Journal of Haematology*. 2009; 145: 24–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07600.x.
 17. Sawamura A., Gando S., Hayakawa M., Hoshino H., Kubota N., Sugano M. Effects of antithrombin III in patients with disseminated intravascular coagulation diagnosed by newly developed diagnostic criteria for critical illness. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2009; 15 (5): 561–566. DOI: 10.1177/1076029608323497.

Сведения об авторах

Писарев Анатолий Аркадьевич, аспирант, кафедра общей и клинической патофизиологии, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0002-9204-5198.

Петренко Виталина Игоревна, соискатель, кафедра общей и клинической патофизиологии, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0001-9451-1757.

Кубышкин Анатолий Владимирович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общей и клинической патофизиологии, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0002-1309-4005.

Харченко Владимир Захарович, д-р мед. наук, профессор, кафедра общей и клинической патофизиологии, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0001-5092-4672.

Фомочкина Ирина Ивановна, д-р мед. наук, профессор, кафедра общей и клинической патофизиологии, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-3065-5748.

Кузичкин Дмитрий Сергеевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория медицинской биохимии и нейроэндокринологии, ГНЦ РФ, ИМБП РАН, г. Москва.

(✉) **Кубышкин Анатолий Владимирович**, e-mail: kubyshkin_av@mail.ru.

Поступила в редакцию 01.08.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Роль галектина-1, -3 в механизмах дисрегуляции Т-клеточного звена иммунного ответа при раке толстого кишечника

Полетика В.С.¹, Колобовникова Ю.В.¹, Уразова О.И.^{1,3}, Васильева О.А.¹,
Дмитриева А.И.², Янкович К.И.², Новицкий В.В.^{1,3}, Рябова Л.М.², Грищенко М.Ю.²

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

² Томский областной онкологический диспансер (ТООД)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115

³ Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники (ТУСУР)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 40

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – охарактеризовать особенности субпопуляционного состава и цитокин-секреторной активности Т-лимфоцитов (Th1, Th17 и Treg) во взаимосвязи с концентрацией галектина-1 и галектина-3 в крови у больных раком толстого кишечника.

Материалы и методы. Обследованы 26 пациентов (14 мужчин и 12 женщин, средний возраст $(62,9 \pm 6,7)$ лет) с диагнозом рака толстого кишечника. В группу контроля вошли 17 здоровых доноров (11 мужчин и 6 женщин, средний возраст $(58,2 \pm 3,1)$ лет). Материалом исследования служила цельная периферическая кровь, плазма крови и супернатанты суспензионной культуры мононуклеарных лейкоцитов. Выделенные из крови лимфоциты типировали методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител. Методом иммуноферментного анализа определяли содержание галектина-1 и галектина-3 (в плазме крови) и IFN γ , IL-17A и TGF β (в супернатантах культуры мононуклеарных лейкоцитов *in vitro*). Полученные результаты анализировали статистическими методами.

Результаты. У больных раком толстого кишечника установлено значимое увеличение концентрации галектина-1 и галектина-3 в плазме крови, ассоциированное со снижением содержания CD4⁺T-bet⁺ Th1-лимфоцитов, CD4⁺RORC2⁺ Th17-лимфоцитов в крови и гипосекрецией IL-17 лимфоцитами *in vitro*. Напротив, выявлена положительная корреляция между концентрацией галектинов 1 и 3, содержанием CD4⁺FoxP3⁺Treg клеток в крови и секрецией TGF β мононуклеарными лейкоцитами *in vitro*.

Заключение. При раке толстого кишечника повышенный уровень галектинов 1 и 3 в крови сопряжен с количественным дефицитом и угнетением секреторной активности эффекторных Т-лимфоцитов, и, напротив, активацией иммуносупрессорных функций регуляторных Т-клеток. Полученные результаты указывают на негативную роль галектина-1 и галектина-3 в механизмах регуляции Т-клеточного звена иммунного ответа при раке толстого кишечника.

Ключевые слова: галектины, Т-лимфоциты, Th17, Treg, цитокины, иммуносупрессия, рак толстого кишечника.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (МД-2788.2019.7).

Соответствие принципам этики. Все лица, включенные в исследование, подписали письменное информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 5309 от 22.05.2017).

Для цитирования: Полетика В.С., Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Васильева О.А., Дмитриева А.И., Янкович К.И., Новицкий В.В., Рябова Л.М., Грищенко М.Ю. Роль галектина-1, -3 в механизмах дисрегуляции Т-клеточного звена иммунного ответа при раке толстого кишечника. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 76–82. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-76-82>.

The role of galectin-1 and galectin-3 in the mechanisms of T-cell immune response dysregulation in colon cancer

Poletika V.S.¹, Kolobovnikova Yu.V.¹, Urazova O.I.^{1,3}, Vasileva O.A.¹, Dmitrieva A.I.², Yankovich K.I.², Novitsky V.V.^{1,3}, Ryabova L.M.², Grishchenko M.Yu.²

¹ *Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634055, Russian Federation*

² *Tomsk Regional Oncological Dispensary
115, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation*

³ *Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics
40, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

The aim of the study was to characterize the features of the subpopulation composition and cytokine-secretory activity of T lymphocytes (Th1, Th17 and Treg) in relation to the concentration of galectin-1 and galectin-3 in the blood of patients with colon cancer.

Materials and methods. A total of 26 patients diagnosed with colon cancer were examined. The study material included whole peripheral blood, blood plasma, and supernatants of suspension cultures of mononuclear leukocytes. Lymphocytes isolated from blood were typed by flow cytometry using monoclonal antibodies. The content of galectin-1 and galectin-3 (in blood plasma) and IFN γ , IL-17A, and TGF β (in supernatants of mononuclear leukocyte culture *in vitro*) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The results obtained were analyzed by statistical methods.

Results. In patients with colon cancer, a significant increase in the concentration of galectin-1 and galectin-3 in the blood plasma was found, which was associated with a decrease in the content of CD4⁺T-bet⁺ Th1 lymphocytes, CD4⁺RORC2⁺ Th17 lymphocytes in the blood and *in vitro* hyposecretion of IL-17. At the same time, positive correlations were revealed between the concentration of galectin-1 and galectin-3, the content of CD4⁺FoxP3⁺ Treg cells in the blood, and the secretion of TGF β by mononuclear leukocytes *in vitro*.

Conclusion. In colon cancer, increased levels of galectin-1 and galectin-3 in the blood are associated with quantitative deficiency and inhibited secretory activity of effector T lymphocytes and activation of the immunosuppressive functions of regulatory T cells. These results suggest a negative role of galectin 1 and galectin 3 in the mechanisms of regulation of the T cell immune response in colon cancer.

Key words: galectins, T-lymphocytes, Th17, Treg, cytokines, immunosuppression, colon cancer.

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflict of interest related to the publication of this manuscript.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All individuals included in the study signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 5309 of 22.05.2017).

For citation: Poletika V.S., Kolobovnikova Yu.V., Urazova O.I., Vasileva O.A., Dmitrieva A.I., Yankovich K.I., Novitsky V.V., Ryabova L.M., Grishchenko M.Yu. The role of galectin-1 and galectin-3 in the mechanisms of T-cell immune response dysregulation in colon cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 76–82. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-76-82>.

ВВЕДЕНИЕ

В патогенезе многих злокачественных новообразований существенную роль играет дисрегуляция противоопухолевого иммунного ответа, проявляющаяся дисбалансом эффекторных и регуляторных Т-лимфоцитов, а также изменением их функциональной активности [1–3]. Известен целый ряд механизмов, которые позволяют опухолевым клеткам «программировать» свое микроокружение с целью угнетения противоопухолевого иммунитета [4]. Одним из таких механизмов может быть опухоль-ассоциированная продукция галектинов – галактозид-связывающих белков, реализующих широкий спектр вне- и внутриклеточных функций [5, 6]. Среди представителей данного семейства белков на всех этапах опухолевого процесса (злокачественная трансформация, неоангиогенез, инвазия, метастазирование, регуляция иммунного микроокружения и др.) принимают участие галектин-1 и галектин-3 [7, 8].

В исследованиях *in vitro* установлено, что галектины 1 и 3 способны модулировать клеточно-опосредованный иммунный ответ за счет регуляции дифференцировки и апоптоза эффекторных Т-лимфоцитов-хелперов (Th) 1-го и 17-го типов, а также регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) с иммуносупрессорными свойствами [9–12]. Продукция галектинов 1 и 3 трансформированными клетками и элементами опухолевого микроокружения рассматривается как одна из стратегий подавления противоопухолевого иммунитета, реализуемых злокачественными клетками [13, 14]. Однако детальные молекулярные механизмы влияния галектинов 1 и 3 на клетки иммунной системы при опухолевых заболеваниях остаются до конца не изученными.

Цель исследования – охарактеризовать особенности субпопуляционного состава и цитокин-секреторной активности Т-лимфоцитов (Th1, Th17 и Treg) во взаимосвязи с концентрацией галектина-1 и галектина-3 в крови у больных раком толстого кишечника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в лаборатории клинической и экспериментальной патофизиологии кафедры патофизиологии СибГМУ и на базе патологоанатомического отделения ТООД. В исследование были включены 26 пациентов с диагнозом рака толстого кишечника (14 мужчин и 12 женщин, средний воз-

раст $(62,9 \pm 6,7)$ лет), проходивших лечение в ТООД. В группу контроля вошли 17 здоровых доноров (11 мужчин и 6 женщин, средний возраст $(58,2 \pm 3,1)$ лет). Критерием включения в исследование считали наличие у пациентов злокачественных новообразований толстого кишечника. Критериями исключения были предоперационная терапия, другие опухоли, обострение хронических заболеваний аллергической, аутоиммунной и инфекционной природы, отказ от участия в исследовании. Все пациенты были обследованы и прооперированы до начала проведения специфической лучевой и лекарственной терапии.

Материалом исследования служила цельная периферическая кровь, взятая натощак из локтевой вены, плазма крови, а также супернатанты суспензионной культуры моноклеарных лейкоцитов. Выделение моноклеарных лейкоцитов из цельной крови выполняли на градиенте плотности Ficoll-Paque ($\rho = 1,077$ г/мл). Культивирование моноклеарных лейкоцитов проводили в полной питательной среде RPMI-1640 в CO_2 -инкубаторе в газовой смеси, содержащей 5% углекислого газа при температуре 37°C в течение 48 ч. Измерение концентрации интерферона (IFN) γ , трансформирующего фактора роста (TGF) $\beta 1$ и интерлейкина (IL) 17 в супернатантах культуральных суспензий моноклеарных лейкоцитов, а также галектинов 1 и 3 в плазме крови осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) по инструкциям производителей тест-систем (BosterBio, США; Вектор-Бест, Россия). Оптическую плотность содержимого ячеек планшета регистрировали на фотометре-анализаторе Multiscan EX (Финляндия) при длине волны 450 нм.

Для оценки содержания субпопуляций Т-лимфоцитов CD4+T-bet+ (Th1), CD4+RORC2+ (Th17) и CD4+FoxP3+ (Treg) в периферической крови определяли экспрессию поверхностного рецептора CD4 и внутриклеточных транскрипционных факторов T-bet, RORC2 и FoxP3 в моноклеарных лейкоцитах периферической крови методом проточной лазерной цитофлуориметрии, используя моноклональные антитела, меченные флуоресцентными метками (PerCP-Cy5.5, Alexa Fluor 488, PE, APC; BD Biosciences, США; RnD Systems, США). Лизис эритроцитов выполняли с использованием лизирующего раствора BD Pharm Lyse (BD Biosciences, США). Для

фиксации и пермеабиллизации клеток с целью внутриядерного окрашивания применяли набор буферов Human FoxP3 Buffer Set (BD Biosciences, США). Для отмывки и ресуспендирования клеток использовали Stain Buffer (BSA) (BD Biosciences, США).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программы Statistica for Windows Version 12.0 (StatSoft Inc., США). Количественные признаки в группах сравнения представляли в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей $Me (Q_1-Q_3)$. Достоверность различий независимых выборок оценивали с использованием непараметрического U -критерия Манна – Уитни. Корреляционный анализ осуществляли с применением теста ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дисбаланс экспрессии галектинов в опухолевой ткани и их концентрации в периферической крови характерен для многих злокачественных новообразований и часто коррелирует со степенью прогрессии опухоли [15–17]. По данным литературы, высокий плазменный уровень галектина-1 у пациентов с колоректальным раком ассоциируется с высокой агрессивностью опухоли, поздними стадиями опухолевого процесса и неблагоприятным прогнозом болезни [18]. Касательно галектина-3, одни авторы отмечают положительную корреляцию уровня экспрессии данного лектина опухолевыми клетками со стадией заболевания и наличием метастазов [19, 20], другие, напротив, констатируют снижение экспрессии галектина-3 на более поздних стадиях опухолевого процесса [21, 22].

По результатам проведенного нами иммуноферментного анализа установлено значимое увеличение концентрации галектина-1 и галектина-3 в плазме крови у пациентов с раком толстого кишечника по сравнению со значениями соответствующих показателей у здоровых доноров (табл. 1).

Таблица 1

Содержание галектина-1, -3 в плазме крови у больных раком толстого кишечника, нг/мл, $Me (Q_1-Q_3)$		
Показатель	Больные раком толстого кишечника	Здоровые доноры
Галектин-1	16,17 (15,31–17,10) $p = 0,0031$	13,74 (12,23–14,79)
Галектин-3	3,28 (2,30–5,71) $p = 0,0055$	1,56 (1,19–2,17)

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых доноров.

Высокий плазменный уровень галектинов 1 и 3 является, по-видимому, результатом избыточной их экспрессии опухолевыми клетками и элементами микроокружения опухоли, что в свою очередь может инициировать дисбаланс отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов в реализации противоопухолевого иммунитета при раке толстого кишечника.

Ключевыми клетками противоопухолевой резистентности являются CD4+Th1-лимфоциты, которые за счет секреции IFN γ активируют цитотоксические CD8+ клетки, а также стимулируют презентацию макрофагами опухоли-ассоциированных антигенов [23, 24]. CD4+ Th17-лимфоциты, продуцирующие маркерный провоспалительный цитокин IL-17A, с одной стороны, повышают рекрутирование в очаг опухоли цитотоксических лимфоцитов и нейтрофилов, а с другой – индуцируют опухолевый неоангиогенез и формирование метастазов [25, 26]. Регуляторные Т-лимфоциты путем секреции иммуносупрессорных цитокинов IL-10 и TGF β также способны подавлять противоопухолевый иммунный ответ [2, 27].

В результате исследования субпопуляционного состава хелперных Т-лимфоцитов периферической крови у больных раком толстого кишечника нами было зарегистрировано достоверное снижение относительного содержания CD4+T-bet+ Th1- и CD4+RORC2+ Th17-лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями у здоровых доноров. Процентное содержание CD4+FoxP3+ Treg-лимфоцитов в крови при раке толстого кишечника, напротив, превышало соответствующий показатель в контрольной группе (табл. 2).

Таблица 2

Относительное содержание Th1-, Th17- и Treg-лимфоцитов в периферической крови у больных раком толстого кишечника, % от количества CD4+, $Me (Q_1-Q_3)$		
Показатель	Больные раком толстого кишечника	Здоровые доноры
Th1 (CD4+ T-bet+)	0,82 (0,24–0,94) $p = 0,0454$	1,24 (0,48–2,43)
Th17 (CD4+ RORC2+)	1,44 (0,19–2,13) $p = 0,0051$	3,51 (1,56–4,79)
Treg (CD4+ FoxP3+)	1,19 (0,8–1,48) $p = 0,0114$	0,55 (0,23–1,2)

Влияние галектинов 1 и 3 на отдельные субпопуляции хелперных Т-лимфоцитов может быть обусловлено гетерогенностью поверхностных гликанов, ответственных за связывание определенных галектинов, а также экспрессией на клеточной поверхности гликопротеинов, опосредующих резистентность к действию лектинов [28, 29]. Примечательно, что галектин-1 и галектин-3 способны оказывать

модулирующее влияние не только на пролиферацию и апоптоз отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов, но и на их цитокин-секреторную активность.

По результатам проведенного нами исследования установлено достоверное снижение базальной секреции IL-17 лимфоцитами крови *in vitro* у больных раком толстого кишечника по сравнению с соответствующим показателем у здоровых доноров. Базальная секреция TGFβ1 лимфоцитами крови *in vitro* у обследованных пациентов, напротив, в 1,3 раза превышала таковую в группе контроля. Что касается IFNγ, то существенного изменения его базальной секреции *in vitro* у больных раком толстого кишечника относительно контрольных значений нами не зарегистрировано (табл. 3).

Таблица 3

Базальная секреция цитокинов в культуре <i>in vitro</i> мононуклеарных лейкоцитов у больных раком толстого кишечника, нг/мл, Me (Q ₁ –Q ₃)		
Показатель	Больные раком толстого кишечника	Здоровые доноры
IFNγ	1,286 (0,100–3,571)	1,429 (0,100–2,857)
IL-17	0,116 (0,100–0,425) <i>p</i> = 0,0058	0,657 (0,108–0,889)
TGFβ1	835,8 (534,3–1949,0) <i>p</i> = 0,0484	628,6 (471,4–777,2)

Для выявления взаимосвязей между концентрацией галектинов 1 и 3 в плазме крови и нарушением структурно-функционального баланса CD4⁺ Т-лимфоцитов был проведен корреляционный анализ. У больных раком толстого кишечника установлены отрицательные корреляции между плазменной концентрацией галектина-1 и относительным содержанием CD4⁺T-bet⁺ Th1-лимфоцитов ($r = -0,56$; $p = 0,0353$), CD4⁺RORC2⁺ Th17-лимфоцитов ($r = -0,59$; $p = 0,0334$) и *in vitro* секрецией IL-17 ($r = -0,63$; $p = 0,0013$). Вместе с тем обнаруживалась положительная корреляция плазменного уровня галектина-1 с содержанием CD4⁺FoxP3⁺Treg клеток ($r = 0,55$; $p = 0,0346$) и базальной секрецией TGFβ1 ($r = 0,48$; $p = 0,0198$). Сходные результаты были получены в экспериментальном исследовании *in vitro*, проведенном и О.А. Васильевой и соавт. (2015). На примере лимфоцитов здоровых доноров авторы доказали негативное влияние рекомбинантного галектина-1 на Th1- и Th17-опосредованные реакции иммунного ответа при одновременном увеличении в крови иммуносупрессорной популяции Treg-лимфоцитов [28]. В свою очередь, F. Cedeno-Laurent и соавт. (2012) продемонстрировали способность галектина-1, продуцируемого злокачественно трансформи-

рованными Т-лимфоцитами крови, индуцировать апоптоз Th1-клеток и, как следствие, доминирование Th2-зависимых реакций иммунного ответа и снижение эффективности механизмов противоопухолевой резистентности у больных с Т-клеточной лимфомой кожи [10].

Что касается галектина-3, то в литературе описан его дозозависимый эффект в отношении активации дифференцировки и функциональной активности Th17-лимфоцитов при угнетении созревания и функций Th1- и Treg-клеток [30]. Данный тезис отчасти согласуется с результатами нашего исследования, демонстрирующими отрицательную корреляцию между концентрацией галектина-3 и относительным числом CD4⁺T-bet⁺Th1 лимфоцитов в крови ($r = -0,81$; $p = 0,0004$). При этом нами установлена положительная связь между плазменным уровнем галектина-3 и базальной секрецией TGFβ1 лимфоцитами периферической крови ($r = 0,70$; $p = 0,0001$). Способность галектина-3 участвовать в регуляции TGFβ1-ассоциированных сигнальных путей подтверждается исследованиями А.С. MacKinnon и соавт. (2012), в которых показано, что специфическое ингибирование галектина-3 подавляет TGFβ1-зависимую активацию β-катенина *in vitro* и *in vivo* [31]. Полученные нами результаты подтверждают способность галектинов 1 и 3 модулировать функциональную активность эффекторных и регуляторных Т-лимфоцитов при злокачественных новообразованиях толстого кишечника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных раком толстого кишечника повышение концентрации галектина-1 и галектина-3 сопряжено с дисбалансом субпопуляций хелперных Т-лимфоцитов в крови, сопровождается угнетением Th1- и Th17-зависимых реакций противоопухолевого иммунного ответа при одновременной активации Treg-лимфоцитов с иммуносупрессорными свойствами. Опухоль-ассоциированная продукция галектинов 1 и 3 при раке толстого кишечника может быть одним из механизмов ускользания опухолевых клеток из-под иммунологического надзора. Вышеизложенное указывает на негативную роль галектинов 1 и 3 в механизмах регуляции Т-клеточного звена иммунного ответа при раке толстого кишечника.

Детальное изучение иммуотропных эффектов галектина-1 и -3 в отношении отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов актуально с позиций прогноза течения и исходов опухолевого процесса и коррекции активности лектинов при злокачественных новообразованиях толстого кишечника.

ЛИТЕРАТУРА

- Vesely M.D., Kershaw M.H., Schreiber R.D., Smyth M.J. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Ann. Rev. Immunol.* 2011; 29: 235–271. DOI: 10.1146/annurev-immunol-031210-101324.
- Tosolini M., Kirilovsky A., Mlecnik B., Fredriksen T., Mauger S., Bindea G., Berger A., Bruneval P., Fridman W.H., Pagès F., Galon J. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, TH2, Treg, TH17) in patients with colorectal cancer. *Cancer Res.* 2011; 71 (4): 1263–1271. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2907.
- Noguchi A., Kaneko T., Naitoh K., Masashi S., Iwai K., Maekawa R., Kamigaki T., Goto S. Impaired and imbalanced cellular immunological status assessed in advanced cancer patients and restoration of the T cell immune status by adoptive T-cell immunotherapy. *International Immunopharmacology.* 2014; 18 (1): 90–97. DOI:10.1016/j.intimp.2013.11.009.
- Smyth M.J., Dunn G.P., Schreiber R.D. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv. Immunol.* 2006; 90: 1–50. DOI: 10.1016/S0065-2776(06)90001-7.
- Chang W., Tsai M., Kuo P., Hung J. Role of galectins in lung cancer. *Oncol. Lett.* 2017; 14 (5): 5077–5084. DOI: 10.3892/ol.2017.6882.
- Orozco C.A., Martinez-Bosch N., Guerrero P.E., Vinaixa J., Dalotto-Moreno T., Iglesias M., Moreno M., Djurec M., Poirier F., Gabius H.J., Fernandez-Zapico M.E., Hwang R.F., Guerra C., Rabinovich G.A., Navarro P. Targeting galectin-1 inhibits pancreatic cancer progression by modulating tumor-stroma cross-talk. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2018; 115 (16): 3769–3778. DOI: 10.1073/pnas.1722434115.
- Chou F., Chen H., Kuo C., Sytwu H. Role of galectins in tumors and in clinical immunotherapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 (2): 430. DOI: 10.3390/ijms19020430.
- Колобовникова Ю.В., Дмитриева А.И., Янкович К.И., Васильева О.А., Пурлик И.Л., Новицкий В.В., Уразова О.И., Хардинова С.А. Галектин-1-опосредованная экспрессия белков-регуляторов клеточного цикла и ростовых факторов при раке желудка. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017; 16 (4): 165–172. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-165-172.
- Cedeno-Laurent F., Opperman M., Barthel S.R., Kuchroo V.K., Dimitroff C.J. Galectin-1 triggers an immunoregulatory signature in Th cells functionally defined by IL-10 expression. *J. Immunol.* 2012; 188 (7): 3127–3137. DOI: 10.4049/jimmunol.1103433.
- Cedeno-Laurent F., Watanabe R., Teague J.E., Kupper T.S., Clark R.A., Dimitroff C.J. Galectin-1 inhibits the viability, proliferation, and Th1 cytokine production of nonmalignant T cells in patients with leukemic cutaneous T-cell lymphoma. *Blood.* 2012; 119 (15): 3534–3538. DOI: 10.1182/blood-2011-12-396457.
- Fermin L.A., Chen H.Y., Wan L., Wu S.Y., Yu J.S., Huang A.C., Miaw S.C., Hsu D.K., Wu-Hsieh B.A., Liu F.T. Galectin-3 modulates Th17 responses by regulating dendritic cell cytokines. *Am. J. Pathol.* 2013; 183 (4): 1209–1222. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.06.017.
- Radosavljevic G., Jovanovic I., Majstorovic I., Mitrovic M., Lisnic V.J., Arsenijevic N., Jonjic S., Lukic M.L. Deletion of galectin-3 in the host attenuates metastasis of murine melanoma by modulating tumor adhesion and NK cell activity. *Clin. Exp. Metastasis.* 2011; 28 (5): 451–462. DOI: 10.1007/s10585-011-9383-y.
- Kovács-Sólyom F., Blaskó A., Fajka-Boja R., Katona R.L., Végh L., Novák J., Szebeni G.J., Krenács L., Uher F., Tubak V., Kiss R., Monostori E. Mechanism of tumor cell-induced T-cell apoptosis mediated by galectin-1. *Immunol. Lett.* 2010; 127 (2): 108–118. DOI: 10.1016/j.imlet.2009.10.003.
- Rabinovich G.A., Conejo-García J.R. Shaping the immune landscape in cancer by galectin-driven regulatory pathways. *J. Mol. Biol.* 2016; 428 (16): 3266–3281. DOI: 10.1016/j.jmb.2016.03.021.
- Van den Brûle F., Califice S., Castronovo V. Expression of galectins in cancer: a critical review. *Glycoconj. J.* 2002; 19 (7-9): 537–542. DOI: 10.1023/B:GLYC.0000014083.48508.6a.
- Thijssen V.L., Heusschen R., Caers J., Griffioen A.W. Galectin expression in cancer diagnosis and prognosis: A systematic review. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1855 (2): 235–247. DOI: 10.1016/j.bbcan.2015.03.003.
- Колобовникова Ю.В., Дмитриева А.И., Янкович К.И., Васильева О.А., Пурлик И.Л., Полетика В.С., Новицкий В.В., Уразова О.И. Экспрессия галектинов-1, 3 при раке желудка и толстой кишки с тканевой эозинофилией. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2018; 165 (2): 220–223.
- Wu K.L., Chen H.H., Pen C.T., Yeh W.L., Huang E.Y., Hsiao C.C., Yang K.D. Circulating galectin-1 and 90k/mac-2bp correlated with the tumor stages of patients with colorectal cancer. *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 306964. DOI: 10.1155/2015/306964.
- Hittelet A., Legendre H., Nagy N., Bronckart Y., Pector J.C., Salmon I., Yeaton P., Gabius H.J., Kiss R., Camby I. Upregulation of galectins-1 and -3 in human colon cancer and their role in regulating cell migration. *Int. J. Cancer.* 2003; 103 (3): 370–379. DOI: 10.1002/ijc.10843.
- Endo K., Kohnoe S., Tsujita E., Watanabe A., Nakashima H., Baba H., Maehara Y. Galectin-3 expression is a potent prognostic marker in colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2005; 25 (4): 3117–3121.
- Okada K., Shimura T., Suehiro T., Mochiki E., Kuwano H. Reduced galectin-3 expression is an indicator of unfavorable prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res.* 2006; 26 (2B): 1369–1376.
- Tsuboi K., Shimura T., Masuda N., Ide M., Tsutsumi S., Yamaguchi S., Asao T., Kuwano H. Galectin-3 expression in colorectal cancer: relation to invasion and metastasis. *Anticancer Res.* 2007; 27 (4B): 2289–2296.
- Kennedy R., Celis E. Multiple roles for CD4+ T cells in anti-tumor immune responses. *Immunological Reviews.* 2008; 222 (1): 129–144. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00616.x.
- Ling A., Lundberg I.V., Eklöf V., Wikberg M.L., Öberg Å., Edin S., Palmqvist R. The infiltration, and prognostic importance, of Th1 lymphocytes vary in molecular subgroups of colorectal cancer. *J. Pathol. Clin. Res.* 2016; 2 (1): 21–31. DOI: 10.1002/cjp2.31.

25. De Simone V., Pallone F., Monteleone G., Stolfi C. Role of TH17 cytokines in the control of colorectal cancer. *Oncotarget*. 2013; 2 (12): e26617. DOI: 10.4161/onc.26617.
26. Amicarella F., Muraro M.G., Hirt C., Cremonesi E., Padovan E., Mele V., Governa V., Han J., Huber X., Droeser R.A., Zuber M., Adamina M., Bolli M., Rosso R., Lugli A., Zlobec I., Terracciano L., Tornillo L., Zajac P., Eppenger-Castori S., Trapani F., Oertli D., Iezzi G. Dual role of tumour-infiltrating T helper 17 cells in human colorectal cancer. *Gut*. 2017; 66 (4): 692–704. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310016.
27. Bonertz A., Weitz J., Pietsch D.H., Rahbari N.N., Schlude C., Ge Y., Juenger S., Vlodavsky I., Khazaie K., Jaeger D., Reissfelder C., Antolovic D., Aigner M., Koch M., Beckhove P. Antigen-specific Tregs control T cell responses against a limited repertoire of tumor antigens in patients with colorectal carcinoma. *J. Clin. Invest.* 2009; 119 (11): 3311–3321. DOI: 10.1172/JCI39608.
28. Васильева О.А., Прохоренко Т.С., Зима А.П., Новицкий В.В. Влияние галектинов на дифференцировку и функциональную активность Th-лимфоцитов *in vitro*. *Медицинская иммунология*. 2015; 17 (5): 14.
29. Toscano M.A., Bianco G.A., Ilarregui J.M., Croci D.O., Correale J., Hernandez J.D., Zwirner N.W., Poirier F., Riley E.M., Baum L.G., Rabinovich G.A. Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death. *Nat. Immunol.* 2007; 8 (8): 825–834. DOI: 10.1038/ni1482.
30. Васильева О.А., Якушина В.Д., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Таширева Л.А., Старикова Е.Г., Зима А.П., Прохоренко Т.С., Краснова Ю.В., Небесная И.С. Регуляция экспрессии генов транскрипционных факторов дифференцировки Т-лимфоцитов CD4+ галектином-3 *in vitro*. *Молекулярная биология*. 2013; 47 (6): 1004–1010. DOI: 10.7868/S0026898413060165.
31. MacKinnon A.C., Gibbons M.A., Farnworth S.L., Leffler H., Nilsson U.J., Delaine T., Simpson A.J., Forbes S.J., Hirani N., Gaudie J., Sethi T. Regulation of Transforming Growth Factor- β 1-driven Lung Fibrosis by Galectin-3. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 185 (5): 537–546. DOI: 10.1164/rccm.201106-0965OC.

Вклад авторов

Янкович К.И., Дмитриева А.И., Рябова Л.М., Грищенко М.Ю. – проведение исследований, анализ и интерпретация данных. Колобовникова Ю.В., Полетика В.С., Васильева О.А. – разработка концепции и дизайна исследования, обоснование цели, основных положений и заключения рукописи. Уразова О.И., Новицкий В.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации.

Сведения об авторах

Полетика Вадим Сергеевич, аспирант, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2005-305X.

Колобовникова Юлия Владимировна, д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7156-2471.

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ; профессор, кафедра комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем, ТУСУР, г. Томск. ORCID 0000-0002-9457-8879.

Васильева Ольга Александровна, канд. мед. наук, доцент, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2882-4533.

Дмитриева Алла Ивановна, д-р мед. наук, врач клинко-диагностической лаборатории, ТООД, г. Томск. ORCID 0000-0002-5247-9872.

Янкович Кристина Игоревна, врач клинко-диагностической лаборатории, ТООД, г. Томск. ORCID 0000-0001-8893-0939.

Новицкий Вячеслав Викторович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, кафедра патофизиологии, СибГМУ; профессор, кафедра комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем, ТУСУР, г. Томск. ORCID 0000-0002-9577-8370.

Рябова Лилия Михайловна, канд. мед. наук, зав. амбулаторно-поликлиническим отделением, ТООД, г. Томск. ORCID 0000-0002-7888-2483.

Грищенко Максим Юрьевич, канд. мед. наук, зав. онкологическим отделением, ТООД, г. Томск. ORCID 0000-0002-0961-7336.

(✉) Полетика Вадим Сергеевич, e-mail: vpoletika@yandex.ru.

Поступила в редакцию 24.04.2020

Подписана в печать 16.06.2020

Изменение активности лизосомальных цистеиновых протеаз плазмы, моноядерных и полиморфноядерных лейкоцитов крови при болезни Альцгеймера

Сорокина М.Г., Фомина М.А., Петров Д.С., Короткова Н.В.

Рязанский государственный медицинский университет (РязГМУ) им. акад. И.П. Павлова
Россия, 390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить уровень активности лизосомальных цистеиновых протеиназ (катепсинов Н, В, L) в плазме крови и фракционированных лейкоцитах (полиморфноядерных и моноядерных) пациентов с болезнью Альцгеймера в сравнении с аналогичными показателями у лиц, не имеющих признаков нейродегенерации, как возможный маркер развития и диагностики болезни Альцгеймера.

Материалы и методы. Проведено спектрофлуориметрическое исследование уровня активности катепсинов В, L, Н в плазме крови и фракционированных лейкоцитах 22 пациентов с диагнозом «Болезнь Альцгеймера» в сравнении с аналогичными показателями 22 пациентов, сопоставимых по полу, возрасту и сопутствующим заболеваниям с пациентами группы наблюдения, но не имеющих признаков нейродегенерации.

Результаты. В плазме крови статистически значимо повышена активность всех трех ферментов, в наибольшей степени – активности катепсина Н. В гомогенатах фракционированных лейкоцитов также отмечается статистически значимое повышение активности катепсинов Н, В, L, при этом как в полиморфноядерных, так и в моноядерных лейкоцитах в наибольшей степени изменяется активность катепсина В, наименьшей – катепсина L. Учитывая имеющиеся данные о повышении активности катепсина В в цереброспинальной жидкости пациентов с болезнью Альцгеймера, можно предположить взаимосвязь между состоянием активности лизосомальных протеиназ в центральной нервной системе и периферических клетках крови.

Заключение. Болезнь Альцгеймера ассоциирована с нарастанием активности цистеиновых катепсинов в плазме, полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитах периферической крови, что может рассматриваться как один из возможных маркеров развития и диагностики заболевания.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, нейродегенерация, протеолиз, цистеиновые катепсины, плазма крови, полиморфноядерные лейкоциты, моноядерные лейкоциты.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом РязГМУ им. акад. И.П. Павлова (протокол № 6 от 6.11.2018).

Для цитирования: Сорокина М.Г., Фомина М.А., Петров Д.С., Короткова Н.В. Изменение активности лизосомальных цистеиновых протеаз плазмы, моноядерных и полиморфноядерных лейкоцитов крови при болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 83–88. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-3-83-88](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-83-88).

Changes in the activity of lysosomal cysteine proteases of plasma mononuclear and polymorphonuclear blood leukocytes in Alzheimer's disease

Sorokina M.G., Fomina M.A., Petrov D.S., Korotkova N.V.

Ryazan State Medical University

9, Vysokovolt'naya Str., Ryazan, 390026, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the level of activity of lysosomal cysteine proteases (cathepsins H, B, L) in blood plasma and fractionated leukocytes (polymorphonuclear and mononuclear) in patients with Alzheimer's disease in comparison with similar indicators in persons without signs of neurodegeneration as a possible marker of Alzheimer's disease development and diagnosis.

Materials and methods. The spectrofluorimetric study of cathepsins B, L, H activity level in plasma and fractionated leukocytes was conducted in 22 patients diagnosed with Alzheimer's disease in comparison with the same indicators in 22 patients matched by sex, age and associated diseases with patients of the observation group, but having no signs of neurodegeneration.

Results. The activity of all three enzymes, and especially cathepsin H, increased significantly in blood plasma. A significant increase is also noted in the activity of cathepsins H, B, and L in homogenates of fractionated leukocytes. At the same time, in both polymorphonuclear and mononuclear leukocytes the greatest degree of changes is demonstrated by the activity of cathepsin B, and the least is the activity of cathepsin L. Given the available data on an increased cathepsin B activity in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease, we can assume a correlation between the state of lysosomal proteases activity in the Central nervous system and in the peripheral blood cells.

Conclusion. Alzheimer's disease is associated with increased activity of cysteine cathepsins in plasma, polymorphonuclear and mononuclear leukocytes of peripheral blood, which can be considered as one of the possible markers of development and diagnosis of the disease.

Key words: Alzheimer's disease, neurodegeneration, proteolysis, cysteine cathepsins, blood plasma, polymorphonuclear leukocytes, mononuclear leukocytes.

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study protocol was approved by the local ethics committee of Ryazan State Medical University (Protocol No. 6 of 6.11.2018).

For citation: Sorokina M.G., Fomina M.A., Petrov D.S., Korotkova N.V. Changes in the activity of lysosomal cysteine proteases of plasma mononuclear and polymorphonuclear blood leukocytes in Alzheimer's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 83–88. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-83-88>.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно во всем мире растет доля лиц пожилого возраста, что в свою очередь приводит к росту числа больных нейродегенеративными заболеваниями, среди которых лидирующие позиции как по распространенности, так и по экономическим затратам занимает болезнь Альцгеймера (БА). Важной и нерешенной проблемой является поздняя диагностика и, соответственно, позднее начало лечения, уже на стадиях клинически выраженной деменции. Поэтому актуальным остается вопрос о поиске методов диагностики БА на самых ранних (додементной и асимптоматической)

стадиях развития нейродегенеративного процесса, которые, по данным ряда исследований, опережают формирование клинически выраженной деменции на 15–20 лет. Для применения таких превентивных стратегий в отношении БА необходимо вести поиск периферических биомаркеров, в легко доступных для исследований средах (сыворотка крови, слюна, моча). Учитывая многофакторный характер нейродегенерации при БА, более оправданным считают создание мультимодальной диагностической панели [1–3]. Одним из возможных биомаркеров БА, вероятно, может выступать изменение активности лизосомальных ферментов различных клеток.

Корректное функционирование лизосом особенно важно для нейронов, поскольку они не могут снижать содержание накопленных токсичных молекул и агрегатов путем разрушения клеток [2]. Нарушение лизосомальной функции играет важную роль в дегенерации нейронов и патогенезе многочисленных нейродегенеративных заболеваний [4]. В последние годы появляются сведения, указывающие на участие лизосомальных протеиназ в патогенезе БА [2, 3], хотя данные весьма разрозненны и не всегда однозначны. Однако не вызывает сомнения, что протеолитические ферменты представляют собой весьма чувствительный маркер клеточного «неблагополучия», а сведения об уровне активности данных ферментов могут быть использованы для ранней диагностики и определения степени тяжести ряда патологических состояний [5].

На данный момент доказанным является утверждение, что ключевую роль в патогенезе БА играет белок-предшественник амилоида (amyloid precursor protein, APP). Полноразмерный APP принадлежит к семейству трансмембранных белков I типа, и предположительно, участвует в регуляции белкового транспорта [6]. Наиболее изучена внеклеточная область, включающая нескольких доменов: E1 (состоит из двух субдоменов – фактора-подобного домена роста и медь-связывающего домена) и E2, которые связаны кислотным доменом AcD. APP может подвергаться различным видам протеолитической обработки [4, 5]. Последовательное расщепление белка альфа- и гамма-секретазой приводит к формированию пептидов р3 (неамилоидогенный путь). В случае альтернативного процессинга с помощью бета- и гамма-секретазы образуется полипептид, состоящий из 40–43 аминокислотных остатков (β-амилоид), нерастворимый в воде, агрегирующий с образованием полимеров, откладывающихся в виде бляшек [7].

APP является предметом обширной протеолитической обработки, поэтому теории о влиянии лизосомальных протеаз на возникновение БА, возможности диагностического исследования активности катепсинов в качестве маркера, применения их ингибиторов или индукторов в лечении заболевания разрабатываются давно [8]. Катепсин В – один из белков, участвующий в регуляции количества Аβ пептидов, однако его роль в патогенезе БА требует дальнейших исследований. Как это ни парадоксально, с одной стороны, обладая бета-секретазной активностью, он может участвовать в образовании Аβ пептидов, а с другой – в процессах их деградации [6].

Доказано, что сульфгидрильная группа цистеина (Cys32) катепсина В расщепляет Аβ пептид с карбоксильного конца в месте расположения остатка глутаминовой кислоты (Glu11), а снижение продукции и активности катепсина В инициирует накопление Аβ пептидов [9].

Известно, что цистеиновые катепсины В и L участвуют в деградации не только амилоидных пептидов, но и С-концевых фрагментов APP и бета-секретазы (BACE1), а также влияют на метаболизм холестерина в нейронах. Снижение активности данных катепсинов или их ингибирование ведет к лизосомальной недостаточности, нарушению синтеза белков NPC1 и ABCA1, участвующих в высвобождении холестерина, нарушению деградации ключевых белков БА [4].

В недавнем исследовании показано, что катепсин В может ускорить метаболизм Аβ пептидов через лизосомальные пути и уменьшить дефицит памяти, связанный с БА. Гиппокампальные инъекции аденоассоциированного вируса, продуцирующего катепсин В, уменьшали уровни Аβ, увеличивали Lamp1 и улучшали обучение и память [10].

В то же время известно, что существуют пироглутамат-амилоид-β-пептиды (pGlu-Aβ), которые являются особенно пагубными формами амилоид-β-пептидов, присутствующих в мозге при БА. Пептиды pGlu-Aβ представляют собой N-концевые усеченные формы полноразмерных Аβ пептидов, в которых N-концевой глутамат циклизуется до пироглутамата с образованием pGlu-Aβ (3–40/42). Выключение гена катепсина В приводит к снижению уровня pGlu-Aβ, а применение ингибитора данного фермента (экспериментальный препарат E64d) демонстрировало уменьшение дефицита памяти у экспериментальных животных [11].

Имеются обширные доказательства того, что накопление мононуклеарных фагоцитов, в том числе микроглиальных клеток, моноцитов и макрофагов в местах осаждения β-амилоидов в головном мозге, является важной патологической характеристикой БА, а концентрация этих клеток, сгруппированных вокруг отложений Аβ, в несколько раз выше, чем в соседних областях мозга [12]. Так как гематоэнцефалический барьер проницаем для моноядерных (МЯЛ) и полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ), можно предположить, что изменения метаболизма данных клеток могут косвенно указывать на патологические изменения в тканях головного мозга, а также являться периферическим маркером нейродегенеративного процесса.

Целью исследования является изучение уровня активности лизосомальных цистеиновых протеиназ (катепсинов Н, В и L) в плазме крови и фракционированных лейкоцитах (ПМЯЛ и МЯЛ) пациентов с болезнью Альцгеймера и сравнение с аналогичными показателями у лиц, не имеющих признаков

нейродегенерации, как возможного маркера развития и диагностики болезни Альцгеймера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве клинического материала для исследования использовались плазма крови и фракционированные лейкоциты (ПМЯЛ и МЯЛ), полученные от 22 пациентов с болезнью Альцгеймера, находившихся на стационарном лечении и диспансерном наблюдении в ГБУ РО «Областная клиническая психиатрическая больница имени Н.Н. Баженова». Все пациенты, включенные в группу наблюдения, имеют диагноз, подтвержденный клинически и инструментально-лабораторными методами, согласно современным критериям диагностики. В качестве группы сравнения использовались плазма крови и фракционированные лейкоциты, полученные от 22 пациентов той же больницы, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами группы наблюдения, но не имевших клинических признаков деменции и нейродегенерации.

Работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Забор крови проводился однократно натощак из локтевой вены в количестве 10 мл, в качестве антикоагулянта использовался гепарин. Разделение лейкоцитов на фракции проводилось методом изопикнического центрифугирования [13]. Подсчет выделенных из образцов лейкоцитов осуществлялся в камере Горяева с помощью бинокулярного микроскопа Р-15 «Биолам» (Россия).

Полученные осадки отмытых лейкоцитов довели до концентрации 106 клеток/мл дистиллированной водой, содержащей 0,1%-й раствор тритона Х-100, и подвергали трехкратному замораживанию и оттаиванию для разрушения плазматических и лизосомальных мембран. Полученные лизаты использовались для определения активности изучаемых ферментов [14–16].

Активность катепсинов L, B и H изучали спектрофлуориметрическим методом по A.J. Barrett и H. Kirschke [17] с измерением флуоресцирующего продукта реакции – 7-амидо-4-метилкумарина, образующегося при расщеплении специфических флюорогенных субстратов: Na-карбобензоксиг-л-фенилаланил-аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (N-CBZ-Phe-Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, США) для катепсина L, аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, США) для катепсина H, Na-карбобензоксиг-аргинин-аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (NaCBZ-Arg-Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, США).

Активность катепсинов в плазме крови рассчитывалась в нкат/мл, для лейкоцитов – в нкат/10⁶ клеток. Для статистической обработки результатов применялись программы Microsoft Excel и Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения выборки оценивалась по критерию Шапиро – Уилка. Сравнение групп проводилось с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни, статистически значимым принимался результат при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей $Me (Q_1-Q_3)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В плазме крови пациентов с болезнью Альцгеймера активность катепсинов H, B, L оказалась статистически значимо повышена по сравнению с пациентами, не имеющими признаков нейродегенерации. Среди изучаемых ферментов наиболее существенно повышена активность катепсина H (увеличение в 22 раза относительно группы сравнения), в то время как активность катепсина B повышена в 2,8, а катепсина L – в 1,9 раза (рис. 1).

У ПМЯЛ активность катепсинов B и H повышена в 5 и 5,4 раза соответственно, активность катепсина L – в 2 раза (рис. 2).

У МЯЛ отмечается следующая закономерность: наиболее выражено изменение активности катепсина B – повышение в 5 раз относительно группы сравнения, в 3,5 раза повышена активность катепсина H, и в 1,7 раза катепсина L (рис. 3).

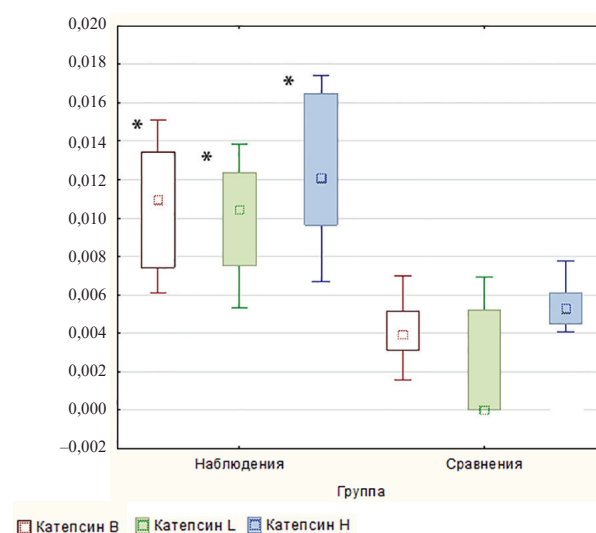


Рис. 1. Активность катепсинов плазмы крови пациентов с болезнью Альцгеймера (группа наблюдения) и пациентов без признаков нейродегенерации (группа сравнения), нкат/мл, $Me (Q_1-Q_3)$

* здесь и на рис. 2, 3 отмечены статистически значимые данные

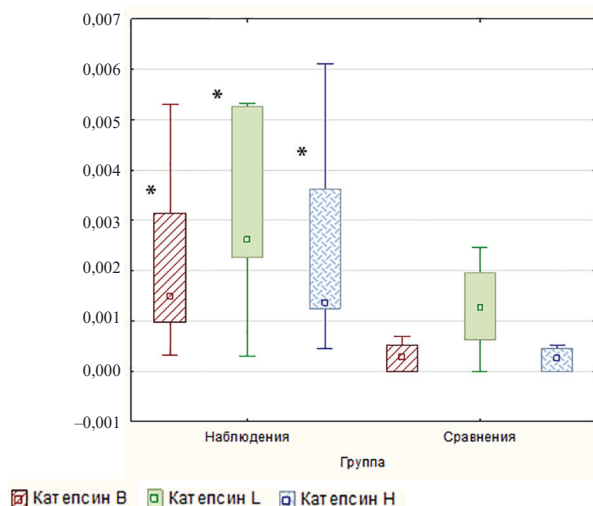


Рис. 2. Активность катепсинов полиморфноядерных лейкоцитов пациентов с болезнью Альцгеймера (группа наблюдения) и пациентов без признаков нейродегенерации (группа сравнения), нкат/10⁶ клеток, *Me* (Q_1 – Q_3)

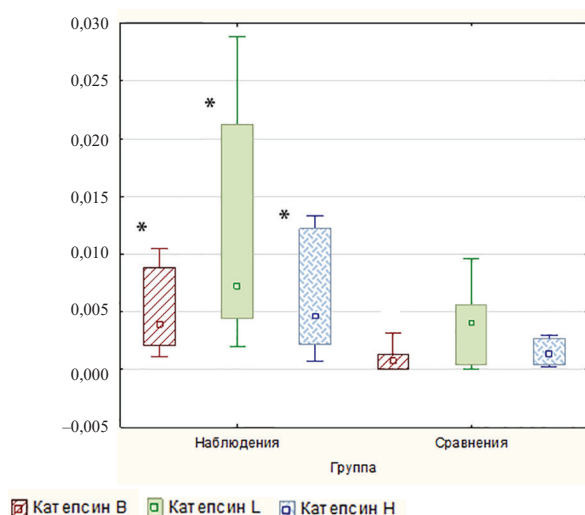


Рис. 3. Активность катепсинов моноядерных лейкоцитов пациентов с болезнью Альцгеймера (группа наблюдения) и пациентов без признаков нейродегенерации (группа сравнения), нкат/10⁶ клеток, *Me* (Q_1 – Q_3)

Вызывает интерес существенное повышение активности катепсина Н в плазме крови пациентов с БА. Катепсин Н является аминопептидазой, обладающей эндопептидазной активностью. Возможно, повышение активности является относительным, так как снижение активности катепсинов В и L коррелирует с накоплением Аβ [10]. Однако повышение активности катепсина Н можно объяснить участием данного фермента в метаболизме модифицированных липопротеинов низкой плотности, в состав которых входит апопротеин Е (АпоЕ). Доказано участие белка АпоЕ как в формировании амилоидных бляшек, так и в метаболизме АРР. Изоформа АпоЕ4 наиболее подвержена расщеплению протеазами, а образующийся при этом

С-терминальный фрагмент молекулы обладает выраженными нейротоксическими свойствами [6]. Повышение активности катепсина В можно объяснить его способностью проникать через гематоэнцефалический барьер [8], а также активным участием данного фермента в метаболизме АРР.

Полученные результаты позволяют предположить вовлеченность лизосомальных протеаз лейкоцитов в нейродегенеративный процесс, что согласуется с данными литературы об участии этих форменных элементов крови в данной патологии.

В фракционированных лейкоцитах наблюдается однонаправленная тенденция: преимущественное повышение активности катепсинов В и Н на фоне незначительного повышения активности катепсина L. В специфических гранулах нейтрофилов содержится более 20 различных видов протеаз, а на мембранах клеток находится огромное число рецепторов (для различных интерлейкинов, факторов системы комплемента и других биологически активных молекул), определяющих их функциональную активность. ПМЯЛ содержат большое количество лизосом, к нарушению целостности лизосомальной мембраны могут приводить различные факторы, в том числе гипоксия, окислительный стресс, сниженный синтез инсулина [18]. Многочисленные исследования последних лет доказывают связь между инсулинорезистентностью тканей головного мозга и нейродегенеративными процессами [19]. Разрушение лизосомальных мембран ПМЯЛ и выход катепсинов В и Н в цитоплазму можно считать патогенетически значимым фактором при БА и развитии нейродегенерации. Учитывая повышенную концентрацию данных клеток вокруг Аβ и способность лейкоцитов проникать через гематоэнцефалический барьер, изменение уровня активности катепсинов лейкоцитов крови является важным биомаркером нейродегенеративного процесса.

В литературных источниках есть упоминания о повышении активности катепсина В в спинномозговой жидкости пациентов с БА [20], что позволяет предположить взаимосвязь между состоянием активности лизосомальных цистеиновых протеиназ в центральной нервной системе и периферических клетках крови, а значит, изучаемый показатель можно рассматривать как возможный маркер диагностики БА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера ассоциирована с нарастанием активности цистеиновых катепсинов в плазме, полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитах периферической крови, что может рассматриваться как один из возможных маркеров развития и диагностики заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилова С.И. Предементная стадия болезни Альцгеймера: современные подходы к диагностике и фармакотерапии. *Доктор.Ру*. 2017; 8 (137): 44–49.
2. Бачинская Н.Ю. Болезнь Альцгеймера. *Журнал неврологии им. Б.М. Маньковского*. 2013; 1: 88–102.
3. Соколик В.В. Болезнь Альцгеймера: генетическая предрасположенность, биохимические механизмы и психические проявления. *Украинский вестник психоневрологии*. 2007; 3 (52): 101–105.
4. Cermak S., Kosicek M., Mladenovic-Djordjevic A. et al. Loss of cathepsin B and L leads to lysosomal dysfunction, NPC-like cholesterol sequestration and accumulation of the key Alzheimer's proteins. *PLoS One*. 2016; 11 (11): e0167428. DOI: 10.1371/journal.pone.0167428.
5. Фурман Ю.В., Смагин М.Ю. Некоторые функции протеолитических ферментов в норме и при патологии. *Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания*. 2017; 4 (13): 3–4.
6. Андреева Т.В., Лукив У.Дж., Рогаев Е.И. Биологические основы амилоидоза при болезни Альцгеймера. *Биохимия*. 2017; 2 (82): 226–246. [
7. Мальцев А.В., Довидченко Н.В., Утешев В.К. Интенсивный синтез белка в нейронах и фосфорилирование белка предшественника бета-амилоида и тау-белка являются пусковыми факторами амилоидоза нейронов и болезни Альцгеймера. *Биомедицинская химия*. 2013; 2 (59): 144–170. DOI: 10.18097/pbmc20135902144.
8. Stoka V., Turk V., Turk B. Lysosomal cathepsins and their regulation in aging and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*. 2016; 32: 22–37. DOI: 10.1016/j.arr.2016.04.010.
9. Dhanavade M.J., Parulekar R.S., Kamble S.A. Molecular modeling approach to explore the role of cathepsin B from *Hordeum vulgare* in the degradation of A β peptides. *Molecular bioSystems*. 2016; 1(12): 162–178. DOI: 10.1039/C5MB00718F.
10. Embury C.M., Dyavarshetty B., Lu Y. Cathepsin B improves β -Amyloidosis and learning and memory in models of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2017; 2 (12): 340–352. DOI: 10.1007 / s11481-016-9721-6.
11. Toneff T., Kindy M., Hook V. Brain pyroglutamate amyloid- β is produced by cathepsin protease inhibitor E64d, representing a potential Alzheimer's disease therapeutic. *J. Alzheimers Dis.* 2014; 41: 129–149. DOI: 10.3233/JAD-131370.
12. Gold M., El Khoury J. β -amyloid, microglia, and the inflammasome in Alzheimer's disease. *Seminars in Immunopathology*. 2015; 6 (37): 607–611. DOI: 10.1007/s00281-015-0518-0.
13. Новиков Д.К., Новикова В.И. Клеточные методы иммунодиагностики. Минск: Беларусь, 1979: 222.
14. Короткова Н.В., Фомина М.А. Лизосомальные цистеиновые катепсины L и H плазмы и лейкоцитов крови при заболеваниях вен нижних конечностей: общие тенденции изменения активности и факторов регуляции. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; 6: 1052.
15. Фомина М.А., Кудлаева А.М., Рябков А.Н. Влияние L-карнитина in vitro на активность лизосомальных цистеиновых протеиназ и состояние лизосомальных мембран. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2017; 1 (25): 14–20. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2017114-20.
16. Фомина Н.В., Фомина М.А. Оценка связи активности лизосомальных цистеиновых протеиназ плазмы крови и показателей эндотелиальной дисфункции у пациентов с заболеваниями вен нижних конечностей. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2014; 1: 60–67.
17. Barrett A.J., Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L. *Methods in Enzymol.* 1981; 80: 535–561. DOI: 0.1016/s0076-6879(81)80043-2.
18. Цыганкова О.В., Рютина Л.А., Бондарева З.Г. Лизосомальные ферменты. Новый взгляд на фундаментальные материи с позиций кардиолога. *Цитокины и воспаление*. 2009; 8 (4): 11–17.
19. Горина Я.В., Салмина А.Б., Кувачева Н.В., Комлева Ю.К., Федюкович Л.В., Успенская Ю.А., Морозова Г.А., Демко И.В., Петрова М.М. Нейровоспаление и инсулинорезистентность при болезни Альцгеймера. *Сибирское медицинское обозрение*. 2014; 4 (88): 11–19.
20. Tasegian A., Paciotti S., Ceccarini M.R. Origin of α -mannosidase in cerebrospinal fluid. 20th ESGLD Workshop and Graduated Course. Naples, 2015; 121.

Благодарности

Авторы выражают признательность за помощь в организации и проведении исследования ректору РязГМУ Р.Е. Калинин, а также проректору по научной работе и инновационному развитию РязГМУ И.А. Сучкову.

Сведения об авторах

Сорокина Мария Германовна, ассистент, кафедра биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0002-9719-036X.

Фомина Мария Алексеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0001-5550-0625.

Петров Дмитрий Сергеевич, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой психиатрии и психотерапии, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0002-7869-8643.

Короткова Наталья Васильевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0001-7974-2450.

(✉) **Сорокина Мария Германовна**, e-mail: mariyanaaber@yandex.ru.

Поступила в редакцию 27.05.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Применение модифицированного метода вакуум-терапии при лечении инфицированных постстернотомных ран

Чарышкин А.Л.¹, Гурьянов А.А.^{1,2}

¹ Ульяновский государственный университет (УлГУ)
Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42

² Ульяновская областная клиническая больница (УОКБ)
Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. Третьего Интернационала, 7

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Раневая стернальная инфекция является грозным осложнением, требующим длительного и сложного лечения.

Цель исследования. Оценка результатов применения модифицированного метода вакуум-терапии при лечении гнойно-септических осложнений постстернотомных ран.

Материалы и методы. Все пациенты с инфекционными осложнениями постстернотомных ран (n = 25, средний возраст 56,6 лет) разделены на две группы. В 1-ю группу вошли 12 пациентов, у которых использовался классический метод вакуум-терапии. Во 2-й группе для лечения 13 пациентов применялся модифицированный метод вакуум-терапии.

Результаты. В 1-й группе у 1 (8,3%) больного наблюдался остеомиелит грудины, выполнена частичная резекция костных пластин, у 1 (8,3%) возникли стерно-кутальные свищи, что потребовало длительного лечения, у 1 (8,3%) вследствие травматизации левого венозного брахиоцефального ствола на фоне прямого контакта полиуретанового наполнителя со стенкой сосуда – кровотечение. Кровотечение удалось ликвидировать, ушив поврежденный участок сосудистой стенки п-образными швами с использованием прокладок из политетрафторэтилена. Во 2-й группе осложнений подобного характера не наблюдалось. Применение модифицированного метода вакуум-терапии позволяет эффективно эвакуировать геморрагическое отделяемое раневой поверхности, уменьшить степень контаминации патогеном прилежащих тканей, исключает риск возникновения кровотечения.

Заключение. Применение модифицированного метода вакуум-терапии в сочетании с эффективными алгоритмами лечения гнойно-септических осложнений постстернотомных ран позволяют избежать фатальных осложнений и добиться хороших клинических результатов.

Ключевые слова: срединная стернотомия, стернальная инфекция, послеоперационный медиастинит, вакуум-терапия, реостеосинтез грудины.

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 дали информированное письменное согласие. Исследование одобрено решением локального этического комитета Ульяновского государственного университета.

✉ Чарышкин Алексей Леонидович, e-mail: charyshkin@yandex.ru.

Для цитирования: Чарышкин А.Л., Гурьянов А.А. Применение модифицированного метода вакуум-терапии при лечении инфицированных постстернотомных ран. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 89–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-89-94>.

Modified method of vacuum therapy in the treatment of infected post-sternotomy wounds

Charyshkin A.L.¹, Guryanov A.A.^{1,2}

¹ Ulyanovsk State University

42, Lev Tolstoy Str., Ulyanovsk, 432017, Russian Federation

² Ulyanovsk Regional Clinical Hospital

7, Tretogo Internatsionala Str., Ulyanovsk, 432017, Russian Federation

ABSTRACT

Sternal wound infections are a terrible complication that require long and complex treatment.

The aim of the study was to evaluate the results of using the modified method of vacuum therapy to treat purulent-septic complications of post-sternotomy wounds in clinical practice.

Materials and methods. According to the applied method of vacuum therapy, all patients with infectious complications of post-sternotomy wounds were divided into two groups (n = 25, average age 56.6 years). The classical vacuum therapy was used in the first group consisting of 12 patients. In the second group, 13 patients were treated with the help of the modified method of vacuum therapy.

Results. In the first group, 1 patient (8.3%) experienced osteomyelitis of the sternum, following a partial resection of bone plates; 1 patient (8.3%) developed sternal fistulas, which required long-term treatment; 1 patient (8.3%) had bleeding due to the injury of the left brachiocephalic venous trunk because of the direct contact of the polyurethane pad with the blood vessel wall. The bleeding was eliminated by fixing the damaged area of the vascular wall with U-shaped sutures using polytetrafluoroethylene pads. In the second group, no complications of this nature were observed. The modified method of vacuum therapy allows for the effective evacuation of the hemorrhagic discharge of the wound surface, the reduction of the degree of pathogen contamination in the adjacent tissues, and the elimination of bleeding risk.

Conclusion. The modified method of vacuum therapy in combination with effective algorithms for treating purulent-septic complications of post-sternotomy wounds allows physicians to avoid fatal complications and achieve good clinical results.

Key words: median sternotomy, sternal infection, postoperative mediastinitis, vacuum therapy, reosteosynthesis of the sternum.

Conflict of interest. Authors declare no obvious or potential conflict of interest related to publication of this manuscript.

Source of financing. The authors state that there is 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 Ulyanovsk State University.

For citation: Charyshkin A.L., Guryanov A.A. Modified method of vacuum therapy in the treatment of infected post-sternotomy wounds. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 89–94. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-89-94>.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно в России выполняется более 57 тыс. операций на открытом сердце по поводу кардиальной патологии [1]. При этом сохраняется тенденция к увеличению общего числа кардиохирургических вмешательств за счет развития крупных медицинских центров и создания новых кардиохирургических отделений. Несмотря на распространение малоинвазивных и интервенционных технологий, операции на открытом сердце с использованием срединной стернотомии в качестве хирургического доступа остаются одним из основных методов лечения.

Активное использование стернотомии в качестве доступа обусловлено тем, что этот способ относительно прост и эффективен, так как обеспечивает визуализацию всех основных кардиальных структур и магистральных сосудов. Однако, несмотря на преимущества срединной стернотомии, основными недостатками доступа являются степень травматизации и риски инфекционных осложнений. С целью профилактики гнойно-септических осложнений после стернотомии были разработаны и внедрены в клиническую практику методические рекомендации по элиминации стеральной инфекции [2] и др. Несмотря на это, частота случаев инфекционных осложнений после срединной стернотомии остается достаточно высокой и варьирует от 0,25 до 10% [3].

Одним из наиболее эффективных методов лечения послеоперационных стерномедиастинитов на данный момент является вакуум-терапия. Однако сложная архитектура постстернотомных ран, неоднородность тканей и распространение устойчивых к антибиотикам и антисептикам штаммов бактерий не позволяют добиться полного очищения раневой полости в 100% случаев.

Цель исследования – оценить результаты применения в клинической практике модифицированного метода вакуум-терапии при лечении гнойно-септических осложнений постстернотомных ран.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С января 2015 г. по декабрь 2018 г. в условиях отделения кардиохирургии и нарушений ритма сердца ГУЗ «Ульяновская областная клиническая больница» выполнено 379 операций на открытом сердце с использованием срединной стернотомии в качестве хирургического доступа. У 10 (2,65%) пациентов послеоперационный период осложнился кровотечением на фоне коагулопатии. В трех (0,8%) случаях послеоперационный период был осложнен острым инфарктом миокарда. Гнойно-септические осложнения раневой поверхности различной степени тя-

жести развились у 25 (6,6 %) пациентов от общего числа прооперированных.

Больные с инфекционными осложнениями стеральной раны разделены на две группы в соответствии с методом вакуум-терапии, используемым для лечения. В обеих группах пациенты сопоставимы по полу и возрасту. Средний возраст составил 56,6 лет. Число больных пожилого возраста (старше 60 лет) составило 10 (40%) человек (таблица). В 1-ю группу (группа сравнения) вошли 12 пациентов, у которых был использован стандартный подход вакуум-терапии при лечении гнойно-септических осложнений стеральной раны. Во 2-ю (основную) группу включены 13 пациентов, у которых применялся усовершенствованный метод вакуум-терапии (патент РФ № 183866, авт. Чарышкин А.Л., Гурьянов А.А.) (рис. 1).

Т а б л и ц а

Распределение пациентов по возрасту, n (%)		
Возраст, лет	1-я группа, n = 12	2-я группа, n = 13
18–39	1 (8,3%)	0 (0%)
40–59	7 (58,4%)	7 (53,8%)
60–74	4 (33,3%)	6 (46,2%)

Примечание. Количество пациентов – n.



Рис. 1. Общий вид модифицированной системы

Разработанная вакуум-система осуществляет эффективное вакуумное дренирование ран с помощью устройства, которое состоит из герметичной раневой повязки. Она соединена с контейнером для сбора раневого отделяемого и источником вакуума, создающего попеременное отрицательное давление посредством порта вакуум-провода. Предварительно вакуум-провод располагают в толще пористой губки на всем ее протяжении (рис. 2 а, б). В местах соприкосновения губки с потенциально опасными участками раны (стенка аорты, миокард, коронарные шунты, левая плечеголовная

вена и др.) полиуретановый наполнитель укрывают пленкой из синтетического материала, которую перфорируют инъекционной иглой 21G на всем протяжении, нанося 6–9 отверстий на 1 см² (рис. 3).

Расположение вакуум-провода в толще пористой губки, а также особая структура трубки обеспечива-



Рис. 2. Установка дренажа в губку

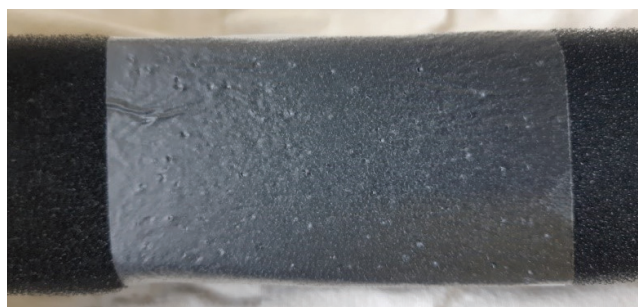


Рис. 3. Перфорированная защитная пленка

ют равномерное, более эффективное дренирование раны. Укрытие пористой губки пленкой из синтетического материала защищает ее от прорастания грануляционной тканью, и при извлечении губки исключается риск возникновения кровотечения, а также предотвращается прямое воздействие вакуума на опасные участки раны. Перфорированная поверхность пленки сохраняет адгезивные свойства губки.

Для определения характера, распространенности и локализации патологического процесса в послеоперационном периоде пациентам проводились компьютерная томография органов грудной клетки с 3D-реконструкцией; ультразвуковое исследование мягких тканей; посев раневого отделяемого на флору, чувствительность к антибиотикам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В 1-й и 2-й группах пациентов соблюдалась одинаковая этапность лечения. Первоначально определялась степень распространенности инфекции. При локализации инфекции в пределах кожи и подкожно-жировой клетчатки (8 (66,6%) пациентов в 1-й группе; 8 (61,5%) во 2-й группе), выполнялось разведение мягких тканей до грудины. Удалялись лигатуры с кожи и подкожно-жировой клетчатки, оценивалась состоятельность стернальных швов и вовлеченность в воспалительный процесс грудины и загрудинного пространства. При условии, что стернальные швы состоятельны, а грудина и ретростернальное пространство интактны, рана обрабатывалась растворами антисептиков и устанавливалась вакуумная система.

В случае, если отмечалась несостоятельность стернальных швов, выраженный диастаз створок грудины и распространенность инфекции на переднее средостение (4 (33,4%) пациента в 1-й группе; 5 (38,5%) во 2-й группе), выполнялось удаление проволочных лигатур и разведение створок грудины. После рана обрабатывалась растворами антисептиков и устанавливалась вакуумная система. Удаление стернальных швов в данных условиях является обязательной процедурой, так как в противном случае они способствуют разрушению створок грудины при дыхании и кашле. Кроме того, фрагменты проволочного шва являются угрозой повреждения близлежащих структур, таких как легкие, сердце и магистральные сосуды [4].

При использовании вакуумных систем в условиях отделения кардиохирургии применялись как стандартный, так и модифицированный методы. В модифицированной системе в качестве дренажа для эвакуации продукции из раны использовался четырехканальная силиконовая трубка, располагавшаяся в толще полиуретанового наполнителя на всем протяжении раны. Учитывая размер раневой поверхности, сложную структуру раны и неоднородность тканей, такое расположение дренажа позволило максимально эффективно эвакуировать раневое отделяемое и создавать равномерное разрежение во всех участках раневой полости. Учитывая то, что достаточно часто полиуретановый наполнитель соприкасается с такими поверхностями, как стенка аорты, миокард, область швов, маммарокоронарными и аортокоронарными графтами, а также их анастомозами, существует риск повреждения этих структур от прямого воздействия вакуума. Немаловажен тот факт, что при длительном контакте тканей с полиуретановой губкой, последняя плотно срастается с ними, что крайне опасно при дальнейшем удалении

губки из раны (рис. 4), так как это может повлечь за собой повреждение вышеобозначенных структур.



Рис. 4. Прорастание губки в прилежащие ткани

И в 1-й, и во 2-й группе продолжительность вакуумной терапии составляла 48–72 ч, после чего система удалялась, а раневая полость тщательно обрабатывалась растворами антисептиков и вновь устанавливалась вакуумная система. Данный алгоритм действий повторялся до тех пор, пока не достигались очищение раневой полости и снижение уровня контаминации инфекционным агентом до допустимых параметров – менее 10^3 КОЕ [5]. В качестве антисептиков применялись 3%-й раствор перекиси водорода, 10%-й раствор бетадина, 1%-й раствор диоксидина, банеоцин.

При достижении оптимального состояния раны дальнейшая тактика определялась в соответствии с размером и локализацией дефекта. При условии, что инфекционный процесс был ограничен мягкими тканями, выполнялось закрытие раны викриловой нитью № 1 через все слои швами по МакМиллану – Донати. В случае вовлечения в патологический процесс ретростерального пространства и необходимости выполнения реостеосинтеза грудины тактика закрытия дефекта в группах несколько отличалась.

Хорошая реваскуляризация грануляционной ткани и створок грудины способствует кровотечению различной степени выраженности при выполнении реостеосинтеза грудины и повторного закрытия послеоперационной раны. Для снижения рисков повторного развития гнойно-септических осложнений после реостеосинтеза грудины и сведения мягких тканей в 1-й группе у пациентов с глубокой стеральной инфекцией применялся метод проточно-промывного дренирования, а во 2-й группе – метод поэтапного закрытия раны с использованием вакуум-терапии.

Суть метода поэтапного закрытия раны заключалась в том, что на первом этапе выполнялся реостеосинтез грудины и ушивание мягких тканей верхней

половины послеоперационной раны. В нижней части раны устанавливалась система отрицательного давления. Вакуум-терапия выполнялась на протяжении 3 сут, после чего осуществлялось закрытие дефекта нижнего сегмента раны.

Данный метод позволял эффективно эвакуировать геморрагическое отделяемое раневой поверхности, не допуская образования обширных гематом, приводящих в дальнейшем к рецидиву инфекционных осложнений. Кроме того, применение вакуум-терапии в таком виде позволяет уменьшить степень контаминации патогеном прилежащих тканей, снижает риски рецидивов. За период использования данной тактики в условиях нашего отделения не было ни одного случая, потребовавшего дополнительных мер хирургического гемостаза.

По итогам лечения в первой группе пациентов в одном (8,3%) случае наблюдался остеомиелит грудины, что в дальнейшем потребовало частичной резекции костных пластин. Еще в 1 (8,3%) случае в отдаленном послеоперационном периоде отмечались стерно-кутальные свищи, что потребовало в дальнейшем длительного лечения. У 1 (8,3%) пациента отмечалась кровотечение вследствие травматизации левого венозного брахиоцефального ствола на фоне прямого контакта полиуретанового наполнителя со стенкой сосуда. Кровотечение удалось ликвидировать, ушив поврежденный участок сосудистой стенки п-образными швами с использованием прокладок из политетрафторэтилена. Во 2-й группе осложнений подобного рода не наблюдалось. Летальность как в 1-й, так и 2-й группе отсутствовала.

ОБСУЖДЕНИЕ

Использование вакуум-терапии при лечении инфицированных постстернотомных ран, по мнению многих авторов, является эффективным методом, позволяющим добиться хороших результатов. Однако, как показывает опыт использования подобных систем, не всегда удается достичь полного очищения раны. Большие размеры раневой полости, ее сложная и неоднородная структура, а также устойчивость инфекционного агента крайне осложняют задачу.

Для увеличения эффективности работы вакуум системы в условиях нашего стационара применялся нестандартный способ расположения эвакуирующего дренажа по отношению к полиуретановому наполнителю. При этом использовался силиконовый дренаж, имеющий четырехканальную структуру и расположенный в толще, губки равноудаленно от всех участков раны, что, на наш взгляд, обеспечило более эффективную элиминацию инфекционного агента и раневого отделяемого.

Одной из проблем использования вакуум-терапии при лечении глубокой стеральной инфекции является риск повреждения таких структур, как стенки магистральных сосудов, миокард, коронарные шунты вследствие прямого воздействия вакуума, либо комбинированного влияния на ткани инфекции и отрицательного давления [6–8]. С целью предотвращения проблем подобного рода в условиях нашей клиники применялось покрытие полиуретанового наполнителя синтетическим материалом, при этом сохранялись адгезивные свойства губки за счет перфорации покрытия.

Раннее выявление гнойно-септических осложнений постстернотомной раны позволяет своевременно прибегнуть к активной хирургической тактике, тем самым предотвратить распространение инфекции и не дать вовлечь в патологический процесс более глубокие структуры [9, 10]. Это способствует эффективному лечению в дальнейшем с применением менее агрессивной хирургической тактики. При наличии несостоятельности стеральных швов и определении диастаза створок грудины у пациентов, имеющих стерномедиастинит, необходимо обязательное удаление стеральных швов и полное разведение постстернотомной раны. Это позволяет адекватно санировать ретростеральное пространство, а также избежать дальнейшего разрушения створок грудины и повреждения близлежащих органов фрагментами проволоки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование модифицированной структуры вакуум-системы позволяет обеспечить более эффективную эвакуацию экссудата и создать равномерное разрежение во всех участках раневой полости. Покрытие полиуретанового наполнителя пленкой в местах контакта с наиболее опасными областями позволяет избежать таких грозных осложнений, как повреждение миокарда, стенок крупных сосудов, коронарных шунтов. Поэтапное закрытие раны с использованием вакуум-терапии снижает риски рецидивов септических осложнений, так как позволяет избежать образования гематом в мягких тканях и

дополнительно снижает степень контаминации раны до ее полного закрытия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г. Сердечно-сосудистая хирургия. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; 2013: 162.
2. Vogt P.R., Darrall A., Berdat P.A., Santoro G., Schmidlin D., Khubulava G.G. et al. Reduction of sternal wound infections with a refined surgical technique and single shot systemic and sternal spongiosa topical antibiotic prophylaxis compared to 24 hours systemic antibiotics. *American Journal of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2019; 2 (2): 1036.
3. Morgante A., Romeo F. Deep sternal wound infections: a severe complication after cardiac surgery. *G. Chir.* 2017; 38 (1): 33–36. DOI: 10.11138/gchir / 2017.38.1.033.
4. Arndt H K., Andreas L., Frank I., Anton M. Tremendous bleeding complication after vacuum-assisted sternal closure. *J. Cardiothorac. Surg.* 2011; 6: 16. DOI: 10.1186/1749-8090-6-16.
5. Корымасов Е.А., Пушкин С.Ю., Беньян А.С., Медведчиков-Ардия М.А. Стратегия и тактика хирургического лечения инфекционных осложнений после стернотомии. Раны и раневые инфекции. *Журнал им. проф. Б.М. Костюченка*. 2015; 2 (4): 15–25. DOI: 10.17650/2408-9613-2015-2-4-15-25.
6. Onnen G., Artashes N., Jürgen H., Roland H. Infectious erosion of aorta ascendens during vacuum-assisted therapy of mediastinitis. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*. 2010; 11(4): 494–495. DOI: 10.1510/icvts.2010.238105.
7. Рузматов Т.М., Эфендиев В.У., Бобошко А.В., Малахов Е.С., Несмачный А.С., Разумахин Р.А., Карева Ю.Е., Чернявский А.М. Вакуумная терапия послеоперационного стерномедиастинита. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2015; (8): 14–17. DOI: 10.17116/hirurgia2015814-17.
8. Корымасов Е.А., Беньян А.С., Медведчиков-Ардия М.А. Опасное осложнение вакуум-терапии в лечении инфекционных осложнений после стернотомии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2018; (3): 50–52. DOI: 10.17116/hirurgia20183250-52.
9. Леднев П.В., Белов Ю.В., Стоногин А.В., Лысенко А.В., Салагаев Г.И. Послеоперационный стерномедиастинит. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2018; (4): 84–89. DOI: 10.17116/hirurgia2018484-89.
10. Чернявский А.М., Таркова А.Р., Рузматов Т.М., Морозов С.В., Григорьев И.А. Инфекции в кардиохирургии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2016; (5): 64–68. DOI: 10.17116/hirurgia2016564-68.

Сведения об авторах

Чарышкин Алексей Леонидович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской хирургии, УлГУ, г. Ульяновск. ORCID 0000-0003-3978-1847.

Гурьянов Антон Александрович, аспирант, кафедра факультетской хирургии, УлГУ; кардиохирург, УОКБ, г. Ульяновск. ORCID 0000-0002-6842-2168.

(✉) **Чарышкин Алексей Леонидович**, e-mail: charyshkin@yandex.ru.

Поступила в редакцию 11.06.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Некоторые аспекты комплексной реабилитации пациентов с приобретенными дефектами и деформациями орофарингеальной зоны

Уклонская Д.В.¹, Косова Е.В.², Неклюдова М.В.², Решетов Д.Н.^{2,3}, Уклонская А.А.³

¹ Центральная клиническая больница (ЦКБ) «РЖД-Медицина»
Россия, 129128, г. Москва, ул. Будайская, 2

² Лечебно-реабилитационный центр (ЛРЦ)
Россия, 125367, г. Москва, Ивановское шоссе, 3

³ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (МГМСУ)
им. А.И. Евдокимова
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

РЕЗЮМЕ

Цель: оценка особенностей нарушений процесса приема пищи и поиск путей оптимизации процесса реабилитации пациентов с приобретенными дефектами и деформациями орофарингеальной зоны.

Материалы и методы. В исследование были включены 86 пациентов хирургического стационара с дефектами и деформациями орофарингеальной зоны: 59 мужчин и 27 женщин. Степень дисфагии оценивалась с помощью клинических шкал: Volume Viscosity Swallow Test (V-VST), Swallowing Disability Scale (SDS). Реабилитационные мероприятия по нормализации глотания проводились в экспериментальной группе (I), которую составили 42 пациента. Группа контроля (II), не включенная в восстановительное воздействие, состояла из 40 пациентов. Группы были уравновешены по тяжести дефекта, полу и возрасту. Проведен сравнительный анализ выраженности нарушений акта глотания до и после восстановительного воздействия и оценка его эффективности.

Результаты. Данные исследования степени дисфагии по шкале SDS по выборке в целом ($n = 82$) позволяют говорить о наличии зависимости степени проявления нарушения от места и объема анатомического дефекта. Причем сопоставительный анализ позволяет утверждать, что именно наличие комбинированного дефекта усугубляет тяжесть дисфагии. Поэтапно проводимое в контрольной группе логопедическое воздействие, нацеленное на преодоление расстройств глотания, включало в себя адаптивные, компенсаторные и восстановительные стратегии, применяемые в различных комбинациях в зависимости от локализации дефекта и тяжести дисфагии. Результаты сопоставления данных повторной оценки тяжести дисфагии у двух групп пациентов (I и II) показали, что проведенные реабилитационные мероприятия оказали положительное влияние.

Заключение. Таким образом, можно утверждать, что логопедическое воздействие, которое относится к немедикаментозным, неинвазивным методам реабилитации, позволяет успешно нормализовать процесс приема пищи, способствует профилактике кахексии-анорексии и дегидратации, что важно для успешного течения послеоперационного периода, а также улучшения качества жизни пациентов.

Ключевые слова: дисфагия, нарушения глотания, орофарингеальная зона, логопедическое воздействие, реабилитация, послеоперационные дефекты и деформации орофарингеальной области.

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

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

✉ Уклонская Дарья Викторовна, e-mail: d_uklonskaya@mail.ru.

Соответствие принципам этики. С каждым из пациентов была проведена первичная беседа, информирующая о целях, задачах, методах и приемах педагогического воздействия по нормализации процесса приема пищи. Все пациенты подписали информированное согласие.

Для цитирования: Уклонская Д.В., Косова Е.В., Неклюдова М.В., Решетов Д.Н., Уклонская А.А. Некоторые аспекты комплексной реабилитации пациентов с приобретенными дефектами и деформациями орорингальной зоны. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 95–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-95-100>.

Some aspects of complex rehabilitation of patients with acquired defects and deformities of the oropharyngeal area

Uklonskaya D.V.¹, Kosova E.V.², Neklyudova M.V.², Reshetov D.N.^{2,3}, Uklonskaya A.A.³

¹ Central Clinical Hospital «RZD-Medicine»

2, Budayskaya Str., Moscow, 129128, Russian Federation

² Medical Rehabilitation Center

3, Ivankovskoe Highway, Moscow, 125367, Russian Federation

³ Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov

20/1, Delegatskaya Str., Moscow, 127473, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the features of disturbed food intake and find ways to optimize rehabilitation and resocialization processes for patients with acquired defects and deformities of the oropharyngeal zone.

Materials and methods. The study included 86 patients of a surgical hospital with defects and deformities of the oropharyngeal zone: 59 men and 27 women. The degree of dysphagia was assessed using clinical scales: volume-viscosity swallow test (V-VST) and swallowing disability scale (SDS). Rehabilitation measures to normalize swallowing were performed in the experimental group (I), which consisted of 42 patients. The control group (II) consisted of 40 patients and was not included in the restorative effect. The groups were balanced according to the severity of the disorder, sex and age. Comparative analysis of the severity of impaired swallowing before and after rehabilitation and evaluation of its effectiveness were conducted.

Results. Data from the study of the dysphagia degree on the SDS scale for the whole sample ($n = 82$) suggest that the degree of disorder manifestation depends on the location and extent of anatomical defect. Moreover, comparative analysis suggests that the presence of a combined defect exacerbates the severity of dysphagia. Step-by-step speech therapy in the control group aimed at overcoming swallowing disorders included adaptive, compensatory and restorative strategies used in various combinations depending on the location of the defect and the severity of dysphagia. The comparison of the repeated assessment data on dysphagia severity in two groups of patients (I and II) showed that the rehabilitation measures had a positive impact.

Conclusion. Thus, we can state that speech therapy, which is a non-drug and non-invasive rehabilitation method, allows patients to successfully normalize eating process, helps in preventing cachexia-anorexia and dehydration, which is important for a successful postoperative period, as well as for improving the life quality of patients.

Key words: dysphagia, swallowing disorders, oropharyngeal zone, speech therapy, rehabilitation, postoperative defects and deformities of the oropharyngeal region.

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Source of financing. The authors claim no sources of funding for the research.

Conformity with the principles of ethics. An initial conversation was conducted with each patient, informing them about the purpose, tasks, methods and techniques of pedagogical impact on the eating process normalization. All patients signed an informed consent to participate in the study.

For citation: Uklonskaya D.V., Kosova E.V., Neklyudova M.V., Reshetov D.N., Uklonskaya A.A. Some aspects of complex rehabilitation of patients with acquired defects and deformities of the oropharyngeal area. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 95–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-95-100>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время большинство специалистов поддерживает мнение о том, что нарушение питания повышает риск развития постоперационных осложнений, а адекватная и своевременная коррекция дает возможность снизить их частоту после хирургического вмешательства, а также повысить переносимость лечения и качество жизни больных [1]. У пациентов с синдромом кахексии-анорексии ухудшаются общие результаты лечения, причем пропорционально степени истощения организма. Сегодня для специалистов очевидно, что нутритивная поддержка является необходимой частью сопроводительной терапии при лечении больных, в том числе и хирургического профиля [2–5]. В рамках междисциплинарного подхода этот факт является убедительным доказательством необходимости участия в процессе реабилитации врача-диетолога [6]. Однако существуют категории пациентов с различного рода расстройствами процесса приема пищи, например, обусловленными структурными или нейрогенными нарушениями в области головы и шеи [7–9]. В этих случаях значительно осложняется процесс реабилитации, что требует особых подходов к восстановлению нарушенных функций и включения в состав мультидисциплинарной бригады специалиста по нивелированию дисфагии.

Процесс приема пищи – важная составляющая не только качества жизни, но и социальной интеграции. В этом контексте уместно упомянуть не только крайне сложный контингент детей с врожденными расщелинами губы и нёба, но и приобретенные дефекты и деформации орофарингеальной зоны в результате различного рода травм либо после лечения новообразований этой области. Поскольку это анатомические области, имеющие важное значение для осуществления жевания, глотания, дыхания и речи, то неизбежно возникающие расстройства вышеуказанных функций значительно усугубляют истощение организма и осложняют процесс лечения и реабилитации [10].

Острее всего этот вопрос стоит после хирургического лечения новообразований орофарингеальной зоны. По данным G.Nitenberg, B. Raynard, недостаточность питания выявляется у 40–80% пациентов с опухолями головы и шеи [11]. Алиментарные нарушения являют собой основную причину развивающихся осложнений или усиливают их. Наши наблюдения позволяют утверждать, что 64,7% пациентов после операций на орофарингеальной зоне отмечали значительную потерю веса (более 10 кг в течение 3 мес после операции).

Согласно утверждению J. Logemann, акт глотания подразумевает несколько последовательных стадий: помещение пищи в ротовую полость (орально-подготовительная фаза), прохождение ее через полость рта (орально-трансферная фаза), транспорт через глотку до крико-фарингеального сфинктера (фарингеальная фаза), процесс преодоления глоточно-пищеводного соустья и попадания пищи в пищевод (эзофагальная фаза) [12]. Таким образом, анатомические дефекты орофарингеальной зоны с большой долей вероятности приводят к так называемым доглотательным нарушениям, возникающим до срабатывания глотательного рефлекса. Следствием возникших нарушений глотания будет формирование недостаточности питания и дегидратация. Так, по данным С.А. Кравцова, Н.В. Кириллова, Т.В. Коршуновой, одной из основных причин развития нутритивной недостаточности являются пострезекционные дефекты органов орофарингеальной зоны [2].

К сожалению, информации по патогенезу и коррекции данных нарушений в специальной литературе недостаточно, что и объясняет слабую осведомленность в специфике работы с рассматриваемой патологией. Традиционно нивелирование расстройств приема пищи в блоке с мероприятиями по коррекции речевых нарушений находится в компетенции логопеда, но эта составляющая в междисциплинарной реабилитационной программе на данном этапе не является четко представленной.

Цель нашей работы – оценка особенностей нарушений процесса приема пищи и поиск путей оптимизации процесса реабилитации пациентов с приобретенными дефектами и деформациями орофарингеальной зоны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Многоцентровое, параллельное исследование проводилось с 2017 по 2019 г. на базе ФГАУ «ЛРЦ» Минздрава России и ЧУЗ «ЦКБ «РЖД-Медицина». Исследование было открытым, нерандомизированным, продольным, панельным, контролируемым.

Проведено обследование 86 пациентов хирургического стационара с послеоперационными дефектами и деформациями орофарингеальной зоны: 59 мужчин и 27 женщин. Критерием вхождения являлось нарушение доглотательной фазы приема пищи. В дальнейшем из исследования были исключены 4 человека по причине прогрессирования основного заболевания.

В экспериментальную группу (I) были включены 42 пациента (26 мужчин, 16 женщин). Данные пациенты прошли полный курс логопедического воздействия

по коррекции дисфагии длительностью 2,5–3 мес. Группу контроля (II) составили 40 пациентов (29 мужчин и 11 женщин) с аналогичными нарушениями глотания, не имеющих возможности в силу разного рода объективных и субъективных обстоятельств пройти полный курс реабилитационных мероприятий по нивелированию дисфагии. Группы были уравновешены по тяжести дефекта, полу и возрасту. С контрольной группой были проведены обследование акта приема пищи и консультирование. Повторный блок исследования акта глотания проводился в обеих группах пациентов при плановой госпитализации через 3 мес.

Обследование и ведение пациентов проводилось междисциплинарной группой специалистов. Всем наблюдаемым пациентам в рамках послеоперационного обследования речевого статуса после удаления назогастрального зонда совместно с хирургом проводилась оценка процесса приема пищи при помощи тестирования процесса глотания пищи и жидкостей различных консистенций (Volume Viscosity Swallow Test (V-VST) [7], а также оценка глотания по Шкале несостоятельности глотания (Swallowing Disability Scale, SDS) для оценки степени дисфагии и определения типа диеты для пациента [7]. Согласно этой шкале, оценка в 0 баллов расценивалась как отсутствие дисфагии, 1 балл – легкая дисфагия, 2 балла – средне-легкая, 3 балла – средняя, 4 балла – средне-тяжелая дисфагия, 5 баллов – тяжелая дисфагия, 6 баллов – афагия, отсутствие возможности принимать пищу перорально и необходимость постановки назогастрального зонда или гастростомии. Также визуально оценивалось, в какой фазе глотательного цикла наблюдаются наиболее выраженные нарушения.

При выявлении дисфагии в рамках логопедического воздействия проводилась дифференцированная по стадии и степени выраженности работа по нивелированию нарушений приема пищи, включающая в себя использование компенсаторных, адаптивных и восстановительных стратегий.

Для обработки полученных данных использовался статистический пакет IBM SPSS Statistics 22.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов с приобретенными нарушениями процесса приема пищи, обусловленными «доглотательными» расстройствами, трудности наблюдаются в орально-подготовительной, орально-трансферной фазе акта глотания либо в их сочетании. Фаза нарушения определяется местом и объемом анатомического дефекта. Количество пациентов с тем или иным нарушением доглотательной фазы представлено в таблице. Видно, что группы I и II сопоставимы по частоте встречаемости различных нарушений.

Таблица

Локализация нарушений акта приема пищи (фазы доглотательного цикла), n (%)			
Фаза	Группа I, n = 42	Группа II, n = 40	Общая выборка, n = 82
Орально-подготовительная (1-я подгруппа)	7 (16,7%)	9 (22,5%)	16 (20%)
Орально-трансферная (2-я подгруппа)	20 (47,6%)	18 (45%)	38 (46%)
Комбинированная (3-я подгруппа)	15 (35,7%)	13 (32,5%)	28 (34%)

Примечание. Количество пациентов – n.

Данные о степени дисфагии по шкале SDS [7] по выборке в целом ($n = 82$) позволяют говорить о наличии зависимости степени проявления нарушения от места и объема анатомического дефекта. U-критерий Манна – Уитни для независимых выборок значим при сопоставлении подгрупп 1 и 3 ($p < 0,0001$), а также 2 и 3 ($p < 0,0001$) и не значим при сопоставлении подгрупп 1 и 2 ($p < 0,249$). Это говорит о том, что именно наличие комбинированного дефекта усугубляет тяжесть дисфагии. На рис. 1 видны различия по частоте встречаемости разной степени тяжести дисфагии у пациентов с нарушением различных фаз доглотательного цикла.

Эти данные учитывались при определении стратегии реабилитационных мероприятий.

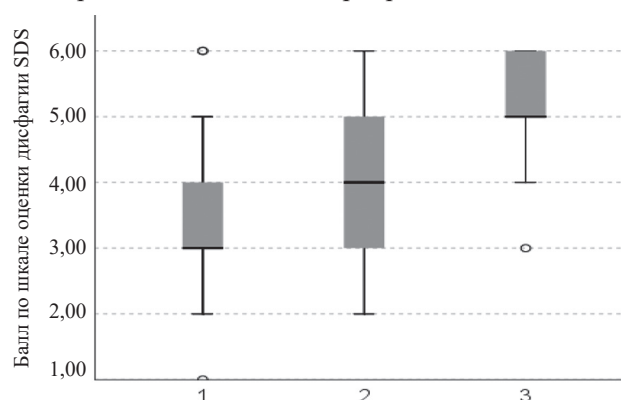


Рис. 1. Тяжесть дисфагии при нарушении различных фаз доглотательного цикла

Далее с пациентами группы I проводился курс логопедических занятий, направленный на нормализацию процесса приема пищи. Логопедическое воздействие начиналось в стационаре, где занятия осуществлялись ежедневно в течение 7–10 дней, далее продолжалось амбулаторно, в среднем 2–3 раза в неделю на протяжении 2 мес. По окончании курса по нормализации акта глотания через 3 мес вновь проводилась оценка процесса приема пищи.

Содержанием логопедического воздействия по коррекции дисфагии является коррекционно-педагогическая работа в следующих направлениях: обучение гигиеническому уходу за полостью рта; статическая

и динамическая (активная и пассивная) гимнастика, направленная на нормализацию глотания, восстановление функциональной активности сохранных мышц, участвующих в акте глотания (жевательных, мимических мышц, мышц языка), а также стимуляцию чувствительности слизистых оболочек полости рта; при необходимости «растормаживание» акта глотания; дифференцированный (активирующий/расслабляющий) массаж лица, щек с внешней и внутренней стороны, массаж языка и мягкого нёба, шеи и плечевого пояса (с осторожностью, после обсуждения с хирургом-онкологом); восстановление координации между глотанием, дыханием и фонацией.

При нивелировании нарушений процесса приема пищи периферического генеза методами педагогического воздействия мы соблюдали следующие этапы:

1. Подготовительный – установление контакта, оценка степени проявления нарушений глотания, тренировка физиологически обусловленного фонационного дыхания, пассивная и активная артикуляционная гимнастика, рекомендации по питанию (консистенция пищи) и беседы, направленные на оказание поддержки и формирование мотивации пациента к реабилитации.

2. Этап активных тренировок – восстановление функциональной активности мышц, участвующих в акте глотания с помощью статической и динамической артикуляционной гимнастики, формирование навыка «безопасного глотания» с использованием адаптивных и компенсаторных технологий.

3. Закрепление восстановленных навыков и формирование устойчивого стереотипа «безопасного» глотания (координация глотания, фонации и дыхания).

С позиций коррекционного воздействия, восстановление функции глотания возможно за счет восстановления двигательной функции сохранных анатомических структур. При наличии значительного анатомического дефекта тканей языка и дна полости рта могут быть отмечены выраженные трудности или даже отсутствие возможности эффективного перемещения (миграции) болюса к зеву (в зону ротоглотки) для последующего глотка. В этом случае в послеоперационном периоде пациенты нередко предъявляют жалобы на скопление пищи во рту или невозможность ее проглатывания. В связи с этим особую актуальность в реабилитации функции глотания приобретает использование постуральных техник и подбор текстур для проглатывания.

С одной стороны, текстура болюса должна быть умеренно вязкой (твердой), чтобы сохранные нервно-мышечные зоны «успели» отреагировать на болюс и активизировались для акта глотания. С другой стороны, эта текстура должна быть достаточно жидкой (текучей), чтобы при запрокидывании головы назад

болюс мог самостоятельно механически перемещаться к зеву для проглатывания, что приобретает особую актуальность в случае обширных резекций языка. Оптимальная для осуществления транспорта через ротовую полость консистенция пищи подбиралась индивидуально для каждого пациента эмпирическим путем.

Поскольку процесс заживления раны в данном случае может быть весьма длительным по времени, и зачастую существует ряд объективных причин, препятствующих осуществлению питания через естественные пути, то важной составляющей логопедического воздействия является информирование не только медицинского персонала, но и пациента, а также его близкого окружения о правилах и особенностях приема пищи в послеоперационном периоде, которые необходимо соблюдать при подобного рода расстройствах глотания. После удаления назогастрального зонда прием пищи следует осуществлять в положениях сидя, полусидя или лежа на боку с приподнятым подбородком – в этом случае проявления аспирации менее вероятны. В тяжелых случаях, когда проглатывание пищи полностью невозможно, для питания пациент продолжает использовать назогастральный зонд, а далее питание может осуществляться через гастростому.

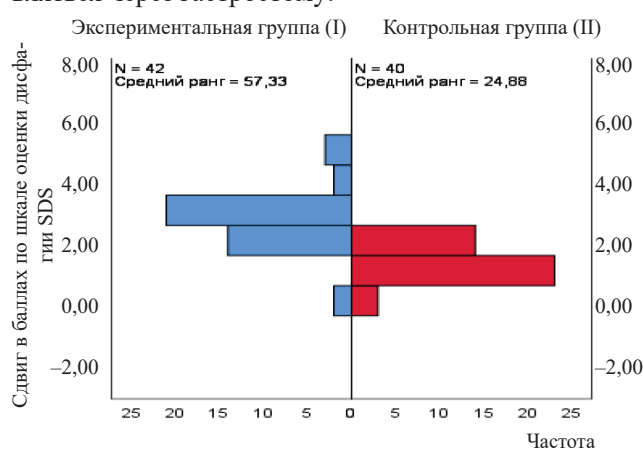


Рис. 2. Сдвиг по шкале SDS в двух группах пациентов, баллы

По окончании курса по нормализации акта глотания вновь проведена оценка процесса приема пищи.

Результаты сопоставления данных повторной оценки тяжести дисфагии у двух групп пациентов (I и II) показали, что проведенные в группе I реабилитационные мероприятия оказали положительное влияние. Различия в сдвиге по шкале SDS [7] (разница в баллах между первой и второй оценкой степени дисфагии) между группами оказались значимыми (U-критерий Манна – Уитни, $p < 0,0001$). На рис. 2 можно увидеть частоту степени улучшения (на 0, 1, 2, 3, 4, 5 баллов) в двух группах (I – прошедших реабилитационный курс; II – не прошедших курс).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с приобретенными анатомическими дефектами и деформациями орофарингеальной зоны наблюдаются нарушения акта приема пищи на доглотательном уровне, проявляющиеся расстройствами во время орально-подготовительной или орально-трансферной фазы, либо в сочетании этих фаз, требующими незамедлительных мероприятий по нормализации. Причем наличие комбинированного дефекта усугубляет тяжесть дисфагии. Поскольку процесс приема пищи – витальная функция, преодоление нарушений питания в послеоперационном периоде является неотъемлемой частью логопедической коррекции приобретенных нарушений глотания. Коррекционное воздействие, которое относится к немедикаментозным, неинвазивным методам реабилитации, включает в себя использование компенсаторных, адаптивных и восстановительных стратегий. Это позволяет успешно нормализовать процесс приема пищи, способствует профилактике кахексии-анорексии и дегидратации, что важно для успешного течения послеоперационного периода, а также улучшения качества жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лёзер К., Аденде Я., Хюбнер Ю. Питание в современной онкологии. Бремен: UNI-MED, 2013: 128.
2. Кравцов С.А., Кириллов Н.В., Коршунова Т.В. Алгоритм проведения нутритивной поддержки у больных со злокачественными новообразованиями орофарингеальной зоны. *Опухоли головы и шеи*. 2016; 6 (2): 26–34. DOI: 10.17650/2222-1468-2016-6-2-26-34.
3. Мудунов А.М., Удинцов Д.Б. Нутритивная поддержка больных при хирургическом лечении плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. *Опухоли головы и шеи*. 2017; 7 (3): 47–52. DOI: 10.17650/2222-1468-2017-7-3-47-52.
4. Осипова Н.А., Решетов И.В., Соколов В.В., Панкратова М.А., Филюшин М.М., Долгополова Т.В., Севрюков Ф.Е. Энтеральная нутритивная поддержка в хирургии опухолей головы и шеи. *Онкохирургия*. 2010; 2 (4): 22–25.
5. Удинцов Д.Б. Коррекция нутритивной недостаточности у больных плоскоклеточным раком орофарингеальной зоны. *Опухоли головы и шеи*. 2015; 5 (3): 13–15. DOI: 10.17650/2222-1468-2015-5-3-13-15.
6. Elia M. Screening for malnutrition: A multidisciplinary responsibility. Development and use of the Malnutrition Universal Screening Tool (MUST) for adult. Maidenhead: British Association for Parenteral and Enteral Nutrition, 2003.
7. Гунтрам В., Икенштейн и др. Диагностика и лечение нейрогенной дисфагии. Бремен–Лондон–Бостон: UNI-MED Verlag AG.
8. Бруно Е. Практическое пособие по диагностике и реабилитации нарушенного глотания (на основе исследований и практики в США); под ред. И.А. Авдюниной. М., 2015: 61.
9. Авдюнина И.А. Нарушения глотания при заболеваниях нервной системы. В кн.: Реабилитация неврологических больных; под ред. А.С. Кадыкова, Л.А. Черниковой, Н.В. Шахпороновой. 2008: 393–445.
10. Левченко И.Ю., Агаева В.Е. Современные возможности комплексной реабилитации детей с врожденными расщелинами губы и нёба. *Педиатрия*. 2017; 96 (5): 217–221. DOI: 10.24110/0031-403X-2017-96-5-217-221.
11. Nitenberg G., Raynard B. Nutritional support of the cancer patient: issues and dilemmas. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2000; 34 (3): 137. DOI: 10.1016/s1040-8428(00)00048-2.
12. Logemann J.A. Evaluation and treatment of swallowing disorders. Austin, Tex: PRO-ED, 1998: 406.

Вклад авторов

Уклонская Д.В., Косова Е.В. – разработка концепции и дизайна исследования, проведение исследования, анализ и интерпретация данных, написание и обоснование рукописи. Неклюдова М.В., Решетов Д.Н. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Уклонская А.А. – анализ современных зарубежных источников по теме исследования, составление базы данных, статистическая обработка.

Сведения об авторах

Уклонская Дарья Викторовна, канд. пед. наук, доцент, логопед, онкологическое отделение № 2 (опухолей головы и шеи), ЦКБ «РЖД-Медицина», г. Москва. ORCID 0000-0002-2911-7224.

Косова Евгения Владимировна, логопед, отделение онкологии хирургического профиля № 1 (опухолей головы и шеи), ЛРЦ, г. Москва. ORCID 0000-0001-7700-2993.

Неклюдова Марина Викторовна, канд. мед. наук, зав. отделением онкологии хирургического профиля № 1 (опухолей головы и шеи), ЛРЦ, г. Москва. ORCID 0000-0001-7700-2993.0000-0003-4224-2975.

Решетов Дмитрий Николаевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра онкологии и лучевой терапии, МГМСУ им. А.И. Евдокимова; зав. онкологическим отделением № 2 (опухолей головы и шеи), ЦКБ «РЖД-Медицина», г. Москва. ORCID 0000-0002-9072-0655.

Уклонская Арина Александровна, студентка 6-го курса, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва. ORCID 0000-0003-3344-6773.

(✉) **Уклонская Дарья Викторовна**, e-mail: d_uklonskaya@mail.ru.

Поступила в редакцию 07.04.2020

Подписана в печать 16.06.2020

Особенности функциональной аннотации генов предрасположенности к ревматоидному артриту при использовании Cytoscape

Часовских Н.Ю.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить функциональную аннотацию генов, ассоциированных с ревматоидным артритом, при разных параметрах инструмента ClueGO Cytoscape.

Материалы и методы. Гены предрасположенности к ревматоидному артриту были извлечены из публичной базы данных GWAS (каталог ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с заболеваниями). Генная онтология (Gene Ontology, GO) – функциональная аннотация генов была произведена с помощью алгоритма, реализованного в Cytoscape ClueGO.

Результаты. Рассмотрены особенности выполнения функциональной аннотации с помощью плагина ClueGO при разных условиях формирования функциональных групп. В зависимости от исходных параметров, задаваемых в плагине, группировка терминов согласно генной онтологии осуществляется с различной долей обобщения. Меньшее минимальное число генов в группе позволяет сформировать большее число групп, что дает возможность получить более детальную функциональную характеристику.

Заключение. Полученные варианты результатов функциональной аннотации могут быть востребованы для дальнейших исследований генетических механизмов ревматоидного артрита.

Ключевые слова: функциональная аннотация генов, ревматоидный артрит, GWAS, Cytoscape.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Часовских Н.Ю. Особенности функциональной аннотации генов предрасположенности к ревматоидному артриту при использовании Cytoscape. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 101–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-101-104>.

Features of functional annotation of rheumatoid arthritis susceptibility genes by Cytoscape

Chasovskikh N.Yu.

Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the functional annotation of genes associated with rheumatoid arthritis with different parameters of the ClueGO Cytoscape tool.

Materials and methods. Genes of susceptibility to rheumatoid arthritis were extracted from publicly available database GWAS (catalog of associations of single nucleotide polymorphisms with diseases). The Gene Ontology (GO), the functional annotation of genes, was performed using Cytoscape ClueGO. The features of the functional annotation using the plugin ClueGO Cytoscape were analyzed.

Results. Depending on the initial parameters specified in the plugin, the grouping of terms according to the gene ontology was carried out with a different degree of generalization. A smaller minimum number of genes in a group allows to form a larger number of groups, which makes it possible to obtain more detailed functional characteristics.

Conclusion. The results obtained with different grouping options can be useful for further studies of genetic mechanisms of rheumatoid arthritis.

Key words: functional annotation of genes, rheumatoid arthritis, GWAS, Cytoscape.

Conflict of interest. The author declares no obvious or potential conflict of interest related to publication of this manuscript.

Source of financing. The author states that there is no funding for the study.

For citation: Chasovskikh N.Yu. Features of functional annotation of rheumatoid arthritis susceptibility genes by Cytoscape. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 101–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-101-104>.

ВВЕДЕНИЕ

Нарастание объемов геномных и протеомных исследований привело к необходимости аккумуляции их результатов в специализированных базах данных, в том числе на общедоступных онлайн-ресурсах. Огромную роль в систематизации, описании таких данных играет разработанная единая универсальная иерархичная система терминологии – генная онтология (Gene Ontology, GO) [1]. Она позволяет охарактеризовать данные по следующим разделам: биологические процессы, молекулярные функции, клеточные компоненты [2], в соответствии с которыми производится аннотация генов (белков). Чтобы возможности классификации GO были применимы к конкретному набору данных, существуют специализированные инструменты, особое место среди них занимает ClueGO Cytoscape [3], так как позволяет работать одновременно с несколькими списками данных и с сетями.

Возможность описания результатов исследований в терминах генной онтологии играет важную роль в осуществлении функциональной характеристики тысяч генов (например, при микрочипировании). Это позволяет оценивать возможный вклад изучаемых генов в реализацию физиологического ответа или этиопатогенез заболеваний, сгруппировав их соответствующим образом. Особое значение подобный подход имеет для изучения генетических факторов мультифакторных (комплексных) патологий [4], в частности ревматоидного артрита, относительно которого подобных исследований (основанных на результатах полногеномного поиска) не проводилось.

Цель данной работы – оценить функциональную аннотацию генов, ассоциированных с ревматоидным артритом, при разных параметрах инструмента ClueGO Cytoscape.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гены предрасположенности к ревматоидному артриту были получены с помощью анализа данных информационного ресурса, содержащего результаты полногеномных исследований GWAS [5] – ассоциаций между однонуклеотидными полиморфизмами и заболеваниями.

Для проведения функционального анализа в плагине ClueGO Cytoscape version 3.2.1 были выбраны типы онтологий, соответствующие сервису генной онтологии Gene Ontology. ClueGO позволяет обновлять данную информацию, поскольку информационный ресурс Gene Ontology является постоянно пополняемым [6].

Оценка функционального сходства генов осуществлялась с помощью гипергеометрического теста, при этом определялась принадлежность генов к конкретным функциям в терминах генной онтологии. Дополнительно плагин позволяет корректировать минимальное число (%) генов, используемых для формирования групп – по умолчанию 3 и 4 соответственно. Также на положительной шкале от 0 до 1 устанавливался уровень каппа-статистики, отражающей функциональные связи между генами (0,4). В случае тестирования большого числа гипотез ClueGO позволяет применять коррекцию для P (вероятности ошибки первого рода) методами Бонферрони и Беньямини – Хохберга [7]. При этом в таблице результатов представлены оба значения P для каждого термина.

Функциональные группы создавались путем итеративного слияния первоначально определенных групп на основе заранее установленного порогового значения каппа. При выборе «ведущего» термина в каждой группе программа предлагает ориентироваться (опционально) на их статистическую значимость, число или процент генов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием информационного ресурса GWAS был сформирован список из 94 генов, ассоциированных с ревматоидным артритом: *ACOXL*, *AIRE*, *ALS2CR12*, *ANAPC4*, *ANO8*, *ANXA3*, *APOM*, *ARHGEF3*, *ARID5B*, *BAG6*, *BLK*, *BTNL2*, *C1orf159*, *C2*, *C5orf30*, *CBFB*, *CCL21*, *CCR6*, *CD226*, *CD247*, *CD40*, *CDK5RAP2*, *CDK6*, *CLYBL*, *CMKLR1*, *CTTNBP2*, *DDA1*, *DPP4*, *EOMES*, *FADS2*, *FAM107A*, *FAM98B*, *GATA3*, *GATSL3*, *GCHI*, *GRM5*, *GUCY1B2*, *HNRNPA1*, *IFI16*, *IL2RA*, *IL2RB*, *IL6R*, *IRF5*, *JAZF1*, *KIAA1109*, *KIF5A*, *LLGL1*, *MECP2*, *MMEL1*, *MOV10L1*, *MTF1*, *MTG1*, *MTM1*, *NFKBIE*, *OS9*, *PDE2A*, *PDGFA*, *PHF19*, *PHTF1*, *PLCL2*, *PLD4*, *PPIL4*, *PPM1D*, *PPME1*, *PRKCH*, *PTPN2*, *PTPN22*, *RABEP1*, *RAD51B*, *RASGRP1*, *REL*, *RPP14*, *RTKN2*, *SFTPD*, *SPTBN2*, *STAG1*, *STAT4*, *SUOX*, *SYNGR1*, *TEC*, *TIMMDC1*, *TNFAIP3*, *TNPO3*, *TRHDE*, *TYK2*, *UBASH3A*, *UBE2F*, *VTN1*, *WDFY4*, *WNT10B*, *YDJC*, *ZBTB12*, *ZNF133*, *ZNF774*.

Для классификации генов были использованы следующие типы онтологий: GO_ImmuneSystemProcess (процесс иммунной системы), GO_MolecularFunction (молекулярная функция), GO_CellularComponent (клеточный компонент), GO_BiologicalProcess (биологический процесс). Минимальный уровень GO Level равнялся 3, максимальный – 8.

Проведенный далее функциональный анализ генов (при заданном значении минимального числа генов в группах 2, $p < 0,05$) выявил восемь групп генов в соответствии с терминами генной онтологии:

- 1) регуляция продукции интерлейкина (IL)-2 (включает 22 функций);
- 2) сигнальный путь IL-2 (15 функций);
- 3) антиген рецептор-опосредованный сигнальный путь (12 функций);
- 4) продукция IL-12 (пять функций);
- 5) позитивная регуляция G2/M перехода митотического цикла клеток (две функции);
- 6) регуляция нейрональной синаптической пластичности (две функции);
- 7) позитивная регуляция цитотоксичности, связанная с натуральными киллерами (две функции);
- 8) регуляция процессов респираторной системы (две функции).

Кроме того, было выявлено шесть функций, не подвергшихся объединению:

- сигнальный путь IL-6;
- хемотаксис дендритных клеток;
- нейромускульный контроль положения тела;
- негативная регуляция врожденного иммунного ответа;
- ответ на мурамилдипептид;
- регуляция активации тромбоцитов.

Для того чтобы определить наиболее информативные с точки зрения биологической интерпретации результаты, был проведен функциональный анализ генов, ассоциированных с ревматоидным артритом при другом уровне минимального числа генов в группах (три гена), $p < 0,05$.

В результате группировки генов было получено пять групп:

- 1) сигнальный путь IL-2 (включает 16 функций);
- 2) рецептор антиген-опосредованный сигнальный путь (12 функций);
- 3) негативная регуляция активации клеток (11 функций);
- 4) продукция IL-12 (три функции);
- 5) регуляция нейрональной синаптической пластичности (две функции).

Четыре функции были представлены отдельными терминами (без объединения):

- негативная регуляция врожденного иммунного ответа;
- дыхательный газовый обмен;
- регуляция метилирования гистонов;
- сигнальный путь рецептора тромбоцитарного фактора роста.

Полученные результаты свидетельствуют, что в зависимости от исходных параметров, задаваемых в плагине ClueGO Cytoscape, группировка терминов генной онтологии, соотнесенных с генами, осуществляется с различной долей обобщения. Так, в первом случае (при минимальном числе генов в группе 2) было сформировано большее число групп по сравнению с таковым во втором варианте анализа (при минимуме генов в группах 3), что позволило получить более детальную функциональную характеристику. При этом для некоторых функций, выявленных про обоих вариантах исследования, число генов в группах было меньше в первом случае по сравнению со вторым. Так, для продукции IL-12 соответствующее число генов равнялось пяти (*CD40*, *CMKLR1*, *IRF5*, *NFKB1*, *REL*) и шести (*CD40*, *CMKLR1*, *IRF5*, *NFKB1*, *REL*, *TRAF3*). Для сигнального пути IL-2 аналогичные показатели составили 14 (*BPI*, *BTNL2*, *CCL21*, *CCR6*, *CMKLR1*, *GATA3*, *IL2RA*, *IL2RB*, *IL6R*, *NFKB1*, *PDGFA*, *PTGIS*, *PTPN2*, *PTPN22*) и 19 (*BPI*, *BTNL2*, *CCL21*, *CCR6*, *CMKLR1*, *GATA3*, *IL2RA*, *IL2RB*, *IL6R*, *NFKB1*, *PDGFA*, *PTGIS*, *PTPN2*, *PTPN22*, *RORA*, *SFTPD*, *TNFAIP3*, *UBASH3A*, *VTN1*) генов соответственно. При этом для функций антигена рецептор-опосредованного сигнального пути и регуляции нейрональной синаптической пластичности число генов при обоих вариантах исследования оставалось одинаковым.

При детализированной функциональной аннотации в первом варианте исследования выявлена

представленность генов предрасположенности к ревматоидному артриту в следующих функциях регуляции иммунного ответа: сигнальном пути IL-6, который является ключевым цитокином, ответственным за аутоиммунное воспаление [8, 9]; регуляции хемотаксиса дендритных клеток; ответе на мурамилдипептид (элемент клеточной стенки бактерий, активирующий системы как врожденного, так и приобретенного иммунитета). Также определена принадлежность генов функциям позитивной регуляции G2/M перехода митотического цикла клеток, нейромускульного контроля положения тела.

Укрупненные функциональные группы, полученные во втором случае, отражают общую картину, характерную для предыдущего результата: выявлено участие генов в сигнальном пути IL-2 и IL-12. Известно, что IL-2 важен для процесса развития иммунного ответа, так как осуществляет стимулирование клеток-киллеров [10]. IL-12 обладает выраженными провоспалительными свойствами, повышает активность натуральных киллеров, дендритных клеток, по совокупности действий осуществляя связь между врожденным и приобретенным иммунитетом [10–12]. Помимо этого, функциональная группа регуляции нейрональной синаптической пластичности свидетельствует о возможном влиянии генов на процесс нейрональной обработки синаптического сигнала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что при ревматоидном артрите гены предрасположенности влияют не только на реализацию иммунного ответа, опосредованную сигналингом провоспалительных цитокинов (IL-2, -6, -12) и регуляцией иммунцитов, а также на функции нервной системы, в частности обработку синаптического сигнала, нейромускульный контроль положения тела.

Для исследования возможных механизмов заболеваний или физиологических процессов могут быть важны детали относительно участия отдельных сигнальных путей и клеточных реакций. Для этого целесообразно изменять минимальное число генов, объединяемых в функциональную группу в сторону уменьшения (по сравнению со значением, установленным в плагине по умолчанию). Вместе с тем укрупненные группы функциональных характеристик

генов демонстрируют большую наглядность при выявления общих тенденций биологических процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Blake A., Christie K.R., Dolan M.E. Gene Ontology Consortium: going forward. *Nucleic Acids Research*. 2015; 43 (1): 1049–1056. DOI: 10.1093/nar/gku1179.
2. Ashburner M., Ball C., Blake J., Botstein D., Butler H., Cherry J.M., Davis A.P., Dolinski K., Dwight S.S., Eppig J.T., Harris M.A., Hill D.P., Issel-Tarver L., Kasarskis A., Lewis S., Matese J.C., Richardson J.E., Ringwald M., Rubin G.M., Sherlock G. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat. Genet.* 2000; 25 (1): 25–29. DOI: 10.1093/nar/gku1179.
3. Bindea G., Mlecnik B., Hackl H., Charoentong P., Tosolini M., Kirilovsky A., Fridman W.H., Pagès F., Trajanoski Z., Galon J. ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics*. 2009; 25 (8): 1091–1093. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp101.
4. Hindorf L.A., Sethupathy P., Junkins H.A., Ramos E.M., Mehta J.P., Collins F.S., Manolio T.A. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *PNAS*. 2009; 106 (23): 9362–9367. DOI: 10.1073/pnas.0903103106.
5. Welter D., MacArthur J., Morales J., Burdett T., Hall P., Junkins H., Klemm A., Flicek P., Manolio T., Hindorf L., Parkinson H. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. *Nucleic Acids Research*. 2014; 42 (1): 1001–1006. DOI: 10.1093/nar/gkt1229.
6. A catalog of published genome-wide association studies. URL: <http://www.genome.gov/gwastudies/>
7. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. R. Statist. Soc. B*. 1995; 57 (1): 289–300. DOI: 10.2307/2346101.
8. Удачкина Е.В., Новикова Д.С., Попкова Т.В., Насонов Е.Л. Роль интерлейкина 6 в развитии атеросклероза при ревматоидном артрите. *Современная ревматология*. 2013; 7 (3): 25–32.
9. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014; 6 (10): a016295. DOI: 10.1101/cshperspect.a016295.
10. Ross S.H., Cantrell D.A. Signaling and function of interleukin-2 in T lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.* 2018; (36): 411–433. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042617-053352.
11. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Диатроптова М.А., Насонов Е.Л. Роль цитокинов в патогенезе ревматоидного артрита. *Научно-практическая ревматология*. 2010; 48 (2): 71–82.
12. Vignali D.A., Kuchroo V.K. IL-12 family cytokines: immunological playmakers. *Nat. Immunol.* 2012; 13 (8): 722–728. DOI: 10.1038/ni.2366.

Сведения об авторе

Часовских Наталья Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6077-0347.

(✉) Часовских Наталья Юрьевна, e-mail: natakch@mail.ru.

Поступила в редакцию 01.04.2020

Подписана в печать 16.06.2020

Содержание гипоксия-индуцируемых факторов и медиаторов иммуносупрессии в крови при заболеваниях, ассоциированных с гипоксией

Чумакова С.П.¹, Уразова О.И.^{1,3}, Винс М.В.¹, Шипулин В.М.^{1,2}, Пряхин А.С.²,
Букреева Е.Б.¹, Буланова А.А.¹, Кошель А.П.^{1,4}, Новицкий В.В.^{1,3}

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

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

³ Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники (ТУСУР)
634050, г. Томск, пр. Ленина, 40

⁴ Городская клиническая больница (ГКБ) № 3 им. Б.И. Альперовича
Россия, 634045, г. Томск, ул. Нахимова, 3

РЕЗЮМЕ

Цель. Выявить общие закономерности и особенности изменений содержания гипоксия-индуцируемых факторов-1 и -2 в ассоциации с дисбалансом цитокинов (интерлейкина (IL)-10, IL-13, галектина-2 и -9, интерферона γ (IFN γ)) в крови при заболеваниях, ассоциированных с гипоксией.

Материалы и методы. Обследованы 25 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) с сердечной недостаточностью II–III по NYHA; 16 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) вне обострения; 16 больных с инфильтративным туберкулезом легких (ТЛ) до проведения противотуберкулезной терапии; 18 относительно здоровых доноров. В плазме крови определяли концентрацию HIF-1 α , HIF-2 α , IL-10 и -13, галектина-2 и -9, IFN γ методом иммуноферментного анализа.

Результаты. При заболеваниях, ассоциированных с хронической гипоксией (у больных ИБС, ХОБЛ, ТЛ), обнаруживаются положительные результаты определения HIF-1 α в крови ($24,00 \pm 8,54$; $75,00 \pm 10,83$; $43,75 \pm 12,40\%$ больных соответственно при «нулевых» значениях показателя у здоровых доноров) на фоне нормальной плазменной концентрации HIF-1 α , а также признаки иммуносупрессии. Иммунологическая недостаточность при ИБС и ТЛ обусловлена дефицитом IFN γ и галектина-2 в ассоциации с избытком галектина-9 (у больных ИБС $1,10 [0,52; 2,60]$ пг/мл; $p = 0,038$) или IL-13 (у пациентов с ТЛ $0,81 [0,79; 1,40]$ пг/мл; $p = 0,043$), а у больных ХОБЛ – профицитом галектина-9 и IL-13 ($8,50 [3,96; 15,00]$ пг/мл; $p = 0,001$ и $2,62 [1,20; 7,58]$ пг/мл; $p = 0,002$ соответственно) при нормальной концентрации IFN γ и галектина-2. Содержание IL-10 в крови проявляет тенденцию к увеличению при ИБС и ХОБЛ.

Заключение. У больных ИБС, ХОБЛ и ТЛ хроническая гипоксия ассоциирована с иммуносупрессией, опосредованной дисбалансом IL-10, IL-13, IFN γ , галектина-2 и -9, в крови и секрецией HIF-2 α , который обладает свойством стимулировать дифференциацию M2-макрофагов, синтезирующих провоспалительные цитокины.

Ключевые слова: гипоксия, гипоксия-индуцируемый фактор (HIF), ишемическая болезнь сердца, хроническая обструктивная болезнь легких, туберкулез, интерлейкины, галектины, иммуносупрессия.

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 18-015-00160.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 5046 от 28.11.2016).

Для цитирования: Чумакова С.П., Уразова О.И., Винс М.В., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Кошель А.П., Новицкий В.В. Содержание гипоксия-индуцируемых факторов и медиаторов иммуносупрессии в крови при заболеваниях, ассоциированных с гипоксией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 105–112. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-105-112>.

The content of hypoxia-inducible factors and mediators of immunosuppression in the blood in diseases associated with hypoxia

Chumakova S.P.¹, Urazova O.I.^{1,3}, Vins M.V.¹, Shipulin V.M.^{1,2}, Pryakhin A.S.², Bukreeva E.B.¹, Bulanova A. A.¹, Koshel A.P.^{1,4}, Novitsky V.V.^{1,3}

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634055, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

³ Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics
40, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

⁴ City Clinical Hospital № 3 named after B.I. Alperovich
3, Nakhimova Str., Tomsk, 634045, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the study was to identify general patterns and features of changes in the content of hypoxia-inducible factors-1 and -2 in association with an imbalance of cytokines (IL-10, IL-13, galectin-2 and -9, IFN-gamma) in the blood in diseases associated with hypoxia.

Materials and methods. We examined 25 patients with coronary heart disease (CHD) with heart failure II-III according to NYHA, 16 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) without exacerbation, 16 patients with infiltrative pulmonary tuberculosis (TB) before anti-TB therapy, and 18 relatively healthy donors. Plasma concentrations of HIF-1alpha, HIF-2alpha, IL-10, IL-13, galectins-2 and -9, and IFN-gamma were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results. Positive outcomes of quantity determination of HIF-2alpha in the blood ($24.00 \pm 8.54\%$, $75.00 \pm 10.83\%$, $43.75 \pm 12.40\%$ of patients, respectively, against «zero» values in healthy donors) and also signs of immunosuppression at normal plasma concentrations of HIF-1alpha were determined in diseases associated with chronic hypoxia (in patients with CHD, COPD, TB). Immunological insufficiency in CHD and TB is caused by a deficiency of IFN-gamma and galectin-2 in association with an excess of galectin-9 (in patients with CHD $1.10 [0.52; 2.60]$ pg/ml $p = 0.038$) or IL-13 (in patients with TB $0.81 [0.79; 1.40]$ pg/ml, $p = 0.043$), and in patients with COPD it is caused by a surplus of galectin-9 and IL-13 ($8.50 [3.96; 15.00]$ pg/ml, $p = 0.001$ and $2.62 [1.20; 7.58]$ pg/ml, $p = 0.002$, respectively) at normal concentrations of IFN-gamma and galectin-2. The content of IL-10 in the blood tends to increase in CHD and COPD.

Conclusion. In patients with CHD, COPD and TB, chronic hypoxia is associated with immunosuppression mediated by an imbalance of IL-10, IL-13, IFN-gamma, galectins (2 and 9) in the blood and the secretion of HIF-2alpha, which has the property to stimulate the differentiation of M2-macrophages synthesizing anti-inflammatory cytokines.

Key words: hypoxia, hypoxia-inducible factor (HIF), coronary heart disease, chronic obstructive pulmonary disease, tuberculosis, interleukin, galectin, immunosuppression.

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflicts of interests related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the Russian Foundation of Basic Research, project No. 18-015-00160.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed informed consent to participate in the study. The study was approved by the local ethics committee of the Siberian State Medical University (Protocol No. 5046 of 28.11.2016).

For citation: Chumakova S.P., Urazova O.I., Vins M.V., Shipulin V.M., Pryakhin A.S., Bukreeva E.B., Bulanova A.A., Koshel A.P., Novitsky V.V. The content of hypoxia-inducible factors and mediators of immunosuppression in the blood in diseases associated with hypoxia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 105–112. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-105-112>.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие увеличилось количество публикаций, посвященных изучению механизмов внутриклеточного сигналинга и процессов межклеточной кооперации при адаптации клеток к гипоксии. При этом большинство источников литературы по данной теме содержит информацию о нарастающем в условиях кислородной недостаточности образовании гипоксия-индуцируемого фактора-1 (HIF-1) [1–4]. Интерес ученых к оценке этого фактора при гипоксии, с одной стороны, обусловлен универсальностью данной реакции (гипоксия относится к типовым патологическим процессам) и, с другой стороны, тем, что кислород-зависимая субъединица HIF-1 α синтезируется в любой ядродержащей клетке организма. После ее взаимодействия с конститутивной субъединицей HIF β образуется транскрипционный фактор HIF-1, который перемещается в ядро клетки и активирует экспрессию генов ферментов гликолиза, антиапоптотических факторов и провоспалительных цитокинов, реализуя стресс-реакцию, включающую быструю адаптацию клетки к условиям дефицита кислорода, ее защиту от гибели и воспалительный ответ [1]. В связи с этим закономерно формируется представление, что гипоксия индуцирует воспаление и активацию иммунокомпетентных клеток.

Несмотря на увеличение доли CD4⁺ Т-лимфоцитов при хронической сердечной недостаточности, как ишемического, так и неишемического генеза, у этих больных обнаруживается дефицит интерферона-гамма (IFN γ) [5], что позволяет думать о качественной неполноценности клеточно-опосредованного иммунитета при гипоксии. Кроме того, при заболеваниях, ассоциированных с гипоксией (в частности, у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), туберкулезом легких (ТЛ) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ)) отмечается увеличение продукции основного иммуносупрес-

сорного цитокина – трансформирующего фактора роста-бета (TGF β) [6, 7]. Данный цитокин ингибирует Th1-путь иммунного ответа, синтез интерлейкина (IL)-2, а также IL-1 и других провоспалительных цитокинов, подавляет IL-2-зависимую пролиферацию Т-лимфоцитов, активность естественных киллеров и В-лимфоцитов, продукцию активных форм кислорода, но стимулирует дифференцировку иммуносупрессорных Т-регуляторных лимфоцитов, фибробластов, регенерацию тканей и фиброз органов [7, 8]. Поскольку наличие гипоксии при ИБС, ХОБЛ и ТЛ не вызывает сомнений, а профицит TGF β и опосредованные им иммуносупрессия и противовоспалительный ответ, очевидно, не соответствуют эффектам HIF-1, это может быть обусловлено изменением продукции HIF-2, имеющего также две субъединицы HIF β и HIF-2 α . При этом о модуляции синтеза последней при различных заболеваниях, ассоциированных с гипоксией, известно мало, как и о продукции других иммуносупрессорных и противовоспалительных медиаторов, таких как IL-10, IL-13, галектин-9, особенно в сочетании с дисбалансом цитокинов (IFN γ , TGF β , галектин-2 и др.), стимулирующих иммунитет.

Цель исследования – выявить общие закономерности и особенности изменений содержания, гипоксия-индуцируемых факторов-1 и -2 в ассоциации с дисбалансом иммунорегуляторных цитокинов (IL-10, IL-13, галектин-2 и -9, IFN γ) в крови при заболеваниях, ассоциированных с гипоксией (ИБС, ХОБЛ, ТЛ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 75 человек в возрасте 45–65 лет: 25 больных ИБС и постинфарктным кардиосклерозом (19 мужчин и 6 женщин, средний возраст (52,18 \pm 4,37) лет) с сохранной фракцией выброса левого желудочка и сердечной недостаточностью II–III функционального класса по NYHA; 16 больных с

инфильтративным ТЛ (11 мужчин и 5 женщин, средний возраст $(47,81 \pm 4,12)$ лет) до проведения противотуберкулезной терапии; 16 больных с ХОБЛ вне обострения (12 мужчин и 4 женщины, средний возраст $(53,16 \pm 4,37)$ лет) и 18 относительно здоровых доноров (12 мужчин и 6 женщин, средний возраст $(49,82 \pm 5,19)$ лет), сопоставимых по полу и возрасту с группами пациентов. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями включения пациентов в исследование было наличие по данным анализа медицинских карт цианоза, одышки, слабости, а также: для больных ИБС – снижение степени насыщения гемоглобина кислородом менее 60% и парциального давления кислорода (pO_2) в венозной крови менее 37 мм рт. ст. [9]; для больных ХОБЛ – снижение объема форсированного выдоха за 1 с ($ОФВ_1$) и индекса Тиффно менее 75%, а для больных ТЛ – снижение $ОФВ_1$ менее 75% и жизненной емкости легких менее 85%, что у больных ХОБЛ и ТЛ соответствует гипоксемии [9, 10]. Критериями исключения больных ИБС, ХОБЛ и ТЛ из исследования были возраст старше 65 или младше 45 лет, наличие гематологических, опухолевых или аутоиммунных заболеваний, вирус иммунодефицита человека, вирусный гепатит, мегалобластная или гипопластическая анемия, острый воспалительный процесс в момент исследования или менее чем за 3 нед до его проведения, лечение противовоспалительными (стероидными и нестероидными), иммуномодулирующими или антибактериальными средствами, отказ от исследования, а также наличие ХОБЛ или ТЛ у больных ИБС и наличие ИБС у пациентов с ХОБЛ или ТЛ.

Материалом для исследования служила гепаринизированная венозная кровь (25 Ед/мл), взятая утром натощак в асептических условиях в объеме 5 мл. Концентрацию цитокинов IL-10, IL-13, IFN γ , галектина-2 и -9, HIF-1 α и HIF α в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа, используя коммерческие наборы: «IL-10-ИФА-БЕСТ», «гамма-IFN-ИФА-БЕСТ» (Вектор-Бест, г. Новосибирск), Human IL-13 Platinum ELISA (eBioscience, Австрия), Human Galectin-2 ELISA Kit, Human Galectin-9 ELISA Kit, Human HIF-1 α ELISA Kit и Human HIF-2 α ELISA Kit (Clou-Clone-Corp., США).

Статистический анализ полученных результатов осуществляли с помощью программы Statistica 10.0 и Microsoft Excel (StatSoft Inc., США). Для статистического описания результатов вычисляли медиану (Me), 1-й и 3-й квартили (Q_1 и Q_3); для оценки содержания HIF-2 α в крови рассчитывали выборочную долю встречаемости признака (наличие HIF-2 α в крови) и ее ошибку. С целью сравнительного анали-

за использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Результаты считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что у всех обследованных больных содержание HIF-1 α в крови соответствует норме (таблица). Отсутствие при ИБС, ХОБЛ и ТЛ профицита HIF-1 α в крови на фоне гипоксии (см. критерии включения больных в исследование) можно объяснить формированием при данных заболеваниях хронической, а не острой гипоксии. Показано, что содержание HIF-1 α в клетках и в крови возрастает в ответ на быстрое уменьшение ее оксигенации и уже после нескольких эпизодов гипоксического preconditionирования тканей нормализуется [2]. При хронической гипоксии синтез HIF переключается с HIF-1 на HIF-2: HIF-1 α опосредует провоспалительную реакцию и быструю адаптацию клеток к острой гипоксии, а HIF-2 α запускает пролонгированную приспособительную реакцию тканей к дефициту кислорода, индуцируя неоангиогенез, фиброз и, как следствие, ремоделирование тканей [1, 4].

Сравнительный анализ концентрации HIF-2 α в крови у больных ИБС, ХОБЛ, ТЛ и здоровых лиц оказался затруднительным, так как имелось большое количество вариант с нулевым значением. Согласно данным производителя (Cloud-Clone-Corp., США), изложенным в инструкции к набору реагентов для оценки HIF-2 α , эта молекула в крови здоровых лиц не определяется или ее содержание ниже предела чувствительности набора. Поэтому был проведен сравнительный анализ частот встречаемости значений, отличных от нуля, в группах обследованных лиц. Исследование показало, что при всех трех видах патологии, ассоциированных с гипоксией, у больных, в отличие от здоровых доноров, обнаруживаются положительные результаты определения HIF-2 α в крови (см. таблицу). Наибольшее количество положительных результатов было у пациентов с ХОБЛ, по-видимому, ввиду фиброза стенки бронхов в результате продуктивного воспаления, обструкции дыхательных путей и деструктивных изменений в паренхиме легких. У больных ТЛ частота определения HIF-2 α в плазме крови была несколько ниже, возможно, по причине способности интактных участков легких компенсировать нарушения вентилизации. Наименьшая частота положительных результатов определения HIF-2 α выявлялась у больных ИБС, что, вероятно, объясняется категорией обследованных лиц, у которых фракция выброса левого желудочка была сохранной, и поэтому гипоксия, очевидно, носила повторяющийся (эпизодический)

характер (нарастает при умеренной физической нагрузке и практически отсутствует в покое).

Баланс между HIF-1 и HIF-2 имеет значительное влияние на состояние иммунной системы. Так, накопление HIF-1 в миелоидных клетках способствует синтезу провоспалительных цитокинов, а в лимфоцитах подавляет созревание регуляторных Foxp3⁺ Т-клеток (Treg), обладающих иммуносупрессорной функцией [11]. Повышение концентрации HIF-1 в среде способствует созреванию макрофагов в провоспалительные M1-клетки, профицит HIF-2 поляризует дифференциацию макрофагов в противовоспалительные M2-клетки [4], которые синтезируют спектр противовоспалительных цитокинов, способных индуцировать иммуносупрессию [12]. Учитывая вышеизложенное, формирование у больных ИБС, ХОБЛ или ТЛ хронической гипоксии с накоплением HIF-2α закономерно должно приводить к иммуносупрессии, что объясняет факт избыточной секреции TGFβ различными клетками при этих заболеваниях [6, 7].

Анализ цитокинового спектра, а именно различное сочетание медиаторов в крови в зависимости от характера заболевания, подтверждал признаки иммуносупрессии у больных всех трех групп исследования. Так, у больных ИБС регистрировался высокий уровень галектина-9, у пациентов с ТЛ – профицит IL-13, а у лиц, страдающих ХОБЛ, присутствовали оба фактора одновременно. При этом у больных ИБС и пациентов с ТЛ обнаруживался дефицит иммуностимулирующих медиаторов IFNγ и галектина-2, чего не отмечалось у больных ХОБЛ. Содержание IL-10 в крови при ТЛ соответствовало

норме, но у больных ИБС и пациентов с ХОБЛ проявляло отчетливую тенденцию к увеличению IL-10 в крови (см. таблицу).

Увеличение концентрации IL-10 в крови при ИБС и ХОБЛ не достигало уровня статистической значимости различий сравнительно с группой здоровых доноров ($p < 0,05$), возможно, вследствие небольшого количества обследованных больных ХОБЛ и невысокой степени нарушений внутрисердечной гемодинамики при ИБС. В частности, как ранее нами было показано, у больных ИБС, страдающих ишемической кардиомиопатией с пониженной фракцией выброса левого желудочка, регистрируется выраженный профицит IL-10 в крови [13], который подтверждает значимость выявленной в настоящем исследовании тенденции. Поэтому не исключено, что IL-10 при ИБС и ХОБЛ может оказывать свое иммуносупрессорное действие, которое заключается в ингибировании реакций клеточно-опосредованного иммунитета, снижении синтеза IL-2, IL-3, IFNγ, фактора некроза опухоли-альфа, миграции CD4⁺ Т-клеток и антигенпрезентирующих свойств макрофагов и В-лимфоцитов [3, 8]. Связь продукции IL-10 с гипоксией подтверждается наличием в структуре его гена нескольких HIF-1α-связывающих мотивов и стимуляцией синтеза IL-10 в условиях длительной (22 нед) экспериментальной гипоксии [3]. Пролонгированный характер гипоксии в данном эксперименте и сведения о 48%-й гомологии HIF-1α и HIF-2α [1] позволяют предположить IL-10-стимулирующий эффект также и у HIF-2α, наличие которого обнаруживалось в крови у обследованных нами больных с ИБС и ХОБЛ (см. таблицу).

Таблица

Концентрация гипоксия-индуцируемых факторов цитокинов и галектинов в крови у больных с ИБС, ХОБЛ и ТЛ, Me [Q ₁ ; Q ₃]				
Показатель	Группы обследуемых лиц			
	ИБС	ХОБЛ	ТЛ	Здоровые доноры
HIF-1α, нг/мл	0,052 [0,041; 0,140] $p = 0,187$	0,078 [0,026; 0,986] $p = 0,912$	0,050 [0,027; 0,092] $p = 0,203$	0,080 [0,052; 0,096]
Доля больных с положительным результатом определения HIF-2α в крови, %	24,00 ± 8,54 $p < 0,05$	75,00 ± 10,83 $p < 0,001$	43,75 ± 12,40 $p < 0,01$	0
IFNγ, пг/мл	0	0,60 [0; 0,87] $p = 0,364$	0	3,00 [0,50; 5,40]
IL-10, пг/мл	25,00 [23,00; 29,50] $p = 0,113$	27,50 [23,50; 31,00] $p = 0,094$	20,50 [18,50; 22,50] $p = 0,871$	19,50 [18,00; 24,00]
IL-13, пг/мл	0,62 [0,41; 0,84] $p = 0,720$	2,62 [1,20; 7,58] $p = 0,002$	0,81 [0,79; 1,40] $p = 0,043$	0,50 [0,40; 0,75]
Галектин-2, пг/мл	3,18 [2,00; 3,96] $p < 0,001$	11,00 [7,05; 12,10] $p = 0,518$	3,85 [1,55; 10,88] $p = 0,047$	13,50 [11,50; 17,00]
Галектин-9, пг/мл	1,10 [0,52; 2,60] $p = 0,038$	8,50 [3,96; 15,00] $p = 0,001$	0,50 [0; 1,00] $p = 0,419$	0,16 [0; 0,50]

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ТЛ – туберкулез легких, IFNγ – интерферон-гамма, IL – интерлейкин, HIF – гипоксия-индуцируемый фактор, p – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению со здоровыми донорами.

Иммуносупрессорные эффекты галектина-9 в литературе описаны достаточно подробно. В высоких концентрациях он индуцирует апоптоз активированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов (но не Th2-клеток), В-лимфоцитов, моноцитов, эндотелиоцитов; в присутствии TGFβ способствует созреванию Foxp3⁺ Т-клеток, а в сочетании с IL-6 ингибирует созревание Th17-лимфоцитов; в умеренных концентрациях способствует секреции цитокинов Th2-профиля и сдвигает баланс CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов в направлении преобладания субпопуляции CD4⁺ клеток, а также активирует адгезию клеток, миграцию нейтрофилов и эозинофилов, дифференциацию дендритных клеток, ангиогенез [14–17]. Галектин-9 широко представлен в организме человека: экспрессируется в мышечной, костной, лимфоидной, нервной тканях, обнаруживается в органах сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной и многих других систем; синтезируется эндотелиальными клетками, фибробластами, макрофагами, астроцитами, а также в избытке – опухолевыми клетками [15]. Поскольку в числе клеток-продуцентов галектина-9 определяются фибробласты, то обнаружение избытка этой молекулы в крови у больных ИБС и ХОБЛ, вероятно, объясняется наличием, соответственно, в сердце и бронхолегочной системе очагов фиброза. При инфильтративном ТЛ воспаление развивается по экссудативному типу с явлениями деструкции в легких. Признаки выраженной активации фибробластов и, как следствие, фиброза выявляются только на этапе заживления при регрессии инфильтративных изменений. Это и, учитывая, что пациенты с инфильтративным ТЛ были обследованы нами в фазу разгара болезни, объясняет тот факт, что содержание галектина-9 в их крови сохранялось в пределах нормы (см. таблицу).

IL-13 является противовоспалительным и профибротическим медиатором. Синтезируется он активированными Th2-клетками, и, по некоторым данным, CD8⁺ Т-лимфоцитами, индуцирует выработку TGFβ, эотаксина и муцина, активацию кальций-зависимого хлорного канала 1 (hCLCA1) в эпителиальных клетках бронхов, повышает сократимость их гладкомышечных клеток, стимулирует фибробласты как непосредственно, так и опосредованно через поляризацию созревания макрофагов в M2-клетки, синтезирующие TGFβ [18]. При этом IL-13 активирует пролиферацию и дифференциацию В-клеток, антигенпрезентирующую функцию макрофагов, подавляет секрецию ими провоспалительных цитокинов, синтез IFNγ естественными киллерами, антителозависимую клеточную цитотоксичность [8]. С учетом профибротической роли IL-13, повышение его концентрации у

больных ХОБЛ представляется закономерным, поскольку при этой патологии в бронхах развивается прогрессирующий фиброз. У пациентов, страдающих ИБС, фиброз зоны некроза после инфаркта миокарда на момент исследования уже завершился (инфаркт в анамнезе), что, вероятно, объясняет нормальную концентрацию IL-13 в их крови.

Кроме избытка иммуносупрессорных цитокинов в крови у больных ИБС и ТЛ обнаруживался дефицит галектина-2 и IFNγ (см. таблицу). Последнее демонстрирует подавление Th1-иммунного ответа и смещение баланса Th1/Th2 в направлении Th2-пути, что при ТЛ обусловлено особенностями биологии возбудителя – микобактерий (с целью ускользания от иммунологического надзора за внутриклеточными патогенами) [6], а при ИБС – образованием растворимых окисленных липопротеинов низкой плотности, приобретающих свойства аутоантигенов [19]. При этом негативные для иммунитета последствия недостаточности IFNγ вполне очевидны, так как этот цитокин является ключевым в реализации Th1-иммунного ответа, активирует CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты, естественные киллеры, повышает антигенпрезентирующие свойства макрофагов и их цитотоксичность, стимулирует синтез IL-6, -8, -15, экспрессию адгезивных молекул и др. [8, 20]. Роль галектина-2 в иммунитете однозначно трактовать нельзя. С одной стороны, он является провоспалительным, способствует дифференциации M1-макрофагов и подавляет образование M2-клеток, стимулирует синтез моноцитами провоспалительных цитокинов IL-6, фактора некроза опухоли α, IL-12p40, IFNβ и угнетает продукцию ими TGFβ, матриксных металлопротеиназ 2 и 9, сосудистого фактора роста А, и, как следствие, ангиогенез [21]. С другой стороны, галектин-2 ингибирует миграцию моноцитов/макрофагов и способность последних активировать Т-клетки [21, 22]. В целом IFNγ можно охарактеризовать как провоспалительный цитокин, активирующий Th1-путь адаптивного иммунного ответа и клеточно-опосредованные механизмы деструкции антигена (патогена), а галектин-2 – как медиатор преимущественно врожденного иммунитета.

Дефицит IFNγ и галектина-2 в крови у больных ИБС и ТЛ можно рассматривать как проявление вторичной иммунологической недостаточности, одним из механизмов которой является депрессия созревания и функции провоспалительных M1-макрофагов с преобладанием эффектов M2-клеток. Известно, что оба медиатора служат триггерами дифференциации M1-макрофагов [12, 21], а IL-13 и галектин-9 (их концентрация повышалась соответственно у больных ТЛ и ИБС, см. таблицу) – индукторами об-

разования М2-макрофагов [12, 14]. Однако у больных ХОБЛ не было дефицита IFN γ и галектина-2, но выявлялось сочетанное и выраженное накопление IL-13 и галектина-9 в крови (см. таблицу), что является достаточным условием для дифференциации М2-клеток. При этом спектр секретируемых М2-макрофагами цитокинов включает TGF β , IL-10, IL-13 и др. [12], избыток которых у больных ИБС, ХОБЛ, ТЛ был зарегистрирован нами (см. таблицу 1) и описан в литературе [6, 7]. Ключевым фактором формирования подобного дисбаланса цитокинов при перечисленных заболеваниях, вероятно, является хроническая гипоксия, при которой накопление HIF-2 поляризует дифференциацию макрофагов в М2-клетки [4] и вызывает цитокин-опосредованную иммуносупрессию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При заболеваниях, ассоциированных с хронической гипоксией (ИБС, ХОБЛ, ТЛ), пролонгированная недостаточность кислорода в организме сопровождается накоплением в крови HIF-2 α при нормальном содержании HIF-1 α . Несмотря на провоспалительный эффект кратковременного кислородного голодания органов и тканей и воспалительную природу данных заболеваний, хроническая гипоксия, по-видимому, ассоциирована с HIF-2 α -опосредованной иммуносупрессией. Последний стимулирует дифференциацию макрофагов в М2-клетки, синтезирующие противовоспалительные цитокины. При этом иммуносупрессия при ИБС, ХОБЛ, ТЛ реализуется посредством различных сочетаний медиаторов: при ИБС и ТЛ она обусловлена дефицитом IFN γ и галектина-2 в ассоциации с избытком галектина-9 (у больных ИБС) или IL-13 (у пациентов с ТЛ), а при ХОБЛ – сочетанным профицитом обоих медиаторов в условиях нормального содержания IFN γ и галектина-2 в плазме крови. Содержание IL-10 в крови при ИБС и ХОБЛ проявляет тенденцию к увеличению и может быть дополнительным фактором иммуносупрессии при данных заболеваниях, что требует дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Koh M.Y., Powis G. Passing the baton: the HIF switch. *Trends Biochem. Sci.* 2012; 37 (9): 364–372. DOI: 10.1016/j.tibs.2012.06.004.
- Wan D.Y., Zhang Z., Yang H.H. Cardioprotective effect of miR-214 in myocardial ischemic postconditioning by down-regulation of hypoxia inducible factor 1, alpha subunit inhibitor. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. 2015; 61 (2): 1–6.
- Kang J.G., Sung H.J., Amar M.J., Pryor M., Remaley A.T., Allen M.D., Noguchi A.C., Springer D.A., Kwon J., Chen J., Park J.H., Wang P.Y., Hwang P.M. Low ambient oxygen prevents atherosclerosis. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2016; 94 (3): 277–286. DOI: 10.1007/s00109-016-1386-3.
- Lin N., Simon M.C. Hypoxia-inducible factors: key regulators of myeloid cells during inflammation. *J. Clin. Invest.* 2016; 126 (10): 3661–3671. DOI: 10.1172/JCI84426.
- Cappuzzello C., Di Vito L., Melchionna R., Melillo G., Silvestri L., Cesareo E., Crea F., Liuzzo G., Facchiano A., Capogrossi M.C., Napolitano M. Increase of plasma IL-9 and decrease of plasma IL-5, IL-7, and IFN- γ in patients with chronic heart failure. *J. Transl. Med.* 2011; 9: 28. DOI: 10.1186/1479-5876-9-28.
- Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Есимова И.Е. Вторичная иммунологическая недостаточность у больных туберкулезом легких. Иммунодиагностика и иммунотерапия. Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2013: 84.
- Москалёв А.В., Рудой А.С., Апчел А.В., Зуева В.О., Казымова О.Э. Особенности биологии трансформирующего ростового фактора β и иммунопатология. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2016; 2 (54): 206–216.
- Белова О.В., Арион В.Я., Сергиенко В.И. Роль цитокинов в иммунологической функции кожи. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2008; 1: 41–55.
- Сапичева Ю.Ю., Кассиль В.Л. Анализ глазами реаниматолога; под ред. А.М. Овезова. М.: МЕДпресс-информ, 2018: 224.
- Калягин А.Н., Аснер Т.В. Понятие о недостаточности функции внешнего дыхания. Спирография. Диагностика обструктивной и рестриктивной дыхательной недостаточности; под ред. Ю.А. Горяева. Иркутск, 2005: 23.
- Hsiao H.W., Hsu T.S., Liu W.H., Hsieh W.C., Chou T.F., Wu Y.J., Jiang S.T., Lai M.Z. Deltex1 antagonizes HIF-1 α and sustains the stability of regulatory T cells *in vivo*. *Nat. Commun.* 2015; 6: 6353. DOI: 10.1038/ncomms7353.
- Никонова А.А., Хаитов М.Р., Хаитов Р.М. Характеристика и роль различных популяций макрофагов в патогенезе острых и хронических заболеваний легких *Медицинская иммунология*. 2017; 19 (6): 657–672. DOI: 10.15789/1563-0625-2017-6-657-672.
- Чумакова С.П., Шипулин В.М., Уразова О.И., Погонченкова Д.А., Винс М.В., Пряхин А.С., Колобовникова Ю.В., Чурина Е.Г., Новицкий В.В. Ишемическая кардиомиопатия: моноциты и медиаторы их дифференциации. *Вестник российской академической медицинской науки*. 2019; 74 (6): 396–404. DOI: 10.15690/vramn1185.
- Enninga E.A., Nevala W.K., Holtan S.G., Leontovich A.A., Markovic S.N. Galectin-9 modulates immunity by promoting Th2/M2 differentiation and impacts survival in patients with metastatic melanoma. *Melanoma Res.* 2016; 26 (5): 429–441. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000281.
- John S., Mishra R. Galectin-9: From cell biology to complex disease dynamics. *J. Biosci.* 2016; 41 (3): 507–534. DOI: 10.1007/s12038-016-9616-y.
- Saigusa R., Asano Y., Nakamura K., Hirabayashi M., Miura S., Yamashita T., Taniguchi T., Ichimura Y., Takahashi T., Yoshizaki A., Miyagaki T., Sugaya M., Sato S. Systemic sclerosis dermal fibroblasts suppress Th1 cytokine production

- via galectin-9 overproduction due to Flil1 deficiency. *J. Invest. Dermatol.* 2017; 137 (9): 1850–1859. DOI: 10.1016/j.jid.2017.04.035.
17. O'Brien M.J., Shu Q., Stinson W.A., Tsou P.S., Ruth J.H., Isozaki T., Campbell P.L., Ohara R.A., Koch A.E., Fox D.A., Amin M.A. A unique role for galectin-9 in angiogenesis and inflammatory arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2018; 20 (1): 31. DOI: 10.1186/s13075-018-1519-x.
18. Seyfizadeh N., Seyfizadeh N., Gharibi T., Babaloo Z. Interleukin-13 as an important cytokine: a review on its roles in some human diseases. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 2015; 62 (4): 341–378. DOI: 10.1556/030.62.2015.4.2.
19. Потапов М.П. Аутофагия, апоптоз, некроз клеток и иммунное распознавание своего и чужого. *Иммунология.* 2014; 35 (2): 95–102.
20. Kak G., Raza M., Tiwari B.K. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. *Biomol. Concepts.* 2018; 9 (1): 64–79. DOI: 10.1515/bmc-2018-0007.
21. Yildirim C., Vogel D.Y., Hollander M.R., Baggen J.M., Fontijn R.D., Nieuwenhuis S., Haverkamp A., de Vries M.R., Quax P.H., Garcia-Vallejo J.J., van der Laan A.M., Dijkstra C.D., van der Pouw Kraan T.C., van Royen N., Horrevoets A.J. Galectin-2 induces a proinflammatory, anti-arteriogenic phenotype in monocytes and macrophages. *PLoS One.* 2015; 10 (4). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4401781/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0124347.
22. Paclik D., Werner L., Guckelberger O., Wiedenmann B., Sturm A. Galectins distinctively regulate central monocyte and macrophage function. *Cell Immunol.* 2011; 271 (1): 97–103. DOI: 10.1016/j.cellimm.2011.06.003.

Вклад авторов

Чумакова С.П. – разработка дизайна исследования, анализ литературы, статистическая обработка результатов исследования и их интерпретация, написание и оформление текста рукописи. Уразова О.И. – разработка дизайна исследования, материально-техническое обеспечение проведения лабораторных исследований, интерпретация результатов, написание текста рукописи. Винс М.В. – пробоподготовка биоматериала, выполнение метода иммуноферментного анализа, анализ литературы. Шипулин В.М. – консультирование по вопросам планирования исследования и интерпретации результатов. Пряхин А.С. – взаимодействие с кардиологическими пациентами, обеспечение клинического материала, поиск литературы. Букреева Е.Б. – обеспечение взаимодействия с пациентами, консультирование по вопросам интерпретации результатов. Буланова А.А. – взаимодействие с пациентами, участие в сборе и подготовке биоматериала, поиск литературы. Кошель А.П. – обеспечение клинического материала, консультирование по вопросам планирования исследования. Новицкий В.В. – консультирование по вопросам интерпретации результатов, корректировка текста рукописи.

Сведения об авторах

Чумакова Светлана Петровна, д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3468-6154.

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ; профессор, кафедра комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем, ТУСУР, г. Томск. ORCID 0000-0002-9457-8879.

Винс Мария Васильевна, ассистент, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3076-491X.

Шипулин Владимир Митрофанович, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, науч. руководитель отделения сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1956-0692.

Пряхин Андрей Сергеевич, аспирант, отделение сердечно-сосудистой хирургии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск.

Букреева Екатерина Борисовна, д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7699-5492.

Буланова Анна Александровна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2600-1621.

Кошель Андрей Петрович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой хирургии с курсом мобилизационной подготовки и медицины катастроф, СибГМУ; гл. врач, ГКБ № 3 им. Б.И. Альперовича, г. Томск. ORCID 0000-0001-5337-3183.

Новицкий Вячеслав Викторович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, кафедра патофизиологии, СибГМУ; профессор, кафедра комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем, ТУСУР, г. Томск. ORCID 0000-0002-9577-8370.

(✉) Чумакова Светлана Петровна, e-mail: chumakova_s@mail.ru.

Поступила в редакцию 10.04.2020

Подписана в печать 16.06.2020

УДК 616.5-004.1-06:616.24-07-08](571.1)
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-113-119>

Пути улучшения диагностики и лечения поражения легких при системной склеродермии на территории Сибирского федерального округа (материалы совместного совета экспертов ревматологов и пульмонологов от 8.12.2019)

**Алексеева Л.И.¹, Терпигорев С.А.⁴, Зонова Е.В.², Куделя Л.М.^{2,14}, Бабадаева Н.М.⁶,
Тетенева А.В.^{3,7}, Кондрашов А.А.⁵, Орлов Д.Н.⁸, Раскина Т.В.⁹, Аношенкова О.Н.³,
Часовских Ю.П.³, Кротова Т.В.¹⁰, Опонгошева А.Б.¹¹, Юдина Н.В.¹², Ганюкова Н.Г.¹³**

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) ревматологии им. В.А. Насоновой
Россия, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 34а

² Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)
Россия, 630091, г. Новосибирск, пр. Красный, 54

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

⁴ Московский областной научно-исследовательский клинический институт (МОНКИ) им. М.Ф. Владимирского
Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина 61/2, корп. 1

⁵ Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

⁶ Городская клиническая больница (ГКБ) № 1 им. Н.И. Пирогова
Россия, 119049, г. Москва, пр. Ленинский, 8

⁷ Медико-санитарная часть (МСЧ) № 2
Россия, 634040, г. Томск, ул. Бела Куна, 3/1

⁸ Городская клиническая поликлиника (ГКП) № 1
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Серебренниковская, 42

⁹ Кемеровский государственный медицинский университет (КемГМУ)
Россия, 650056, ул. Ворошилова, 22а

¹⁰ Областная клиническая больница (ОКБ)
Россия, 644111, г. Омск, ул. Березовая, 3

¹¹ Республиканская больница (РБ)
Россия, 649002, Республика Алтай, г. Горно-Алтайск, пр. Коммунистический, 130

¹² Республиканская больница (РБ) № 1
Россия, 667003, Республика Тыва, г. Кызыл, ул. Оюна Курседи, 163

¹³ Кемеровская областная клиническая больница (КОКБ) им. С.В. Беляева
Россия, 650061, г. Кемерово, пр. Октябрьский, 22

¹⁴ Государственная Новосибирская областная клиническая больница (ГНОКБ)
Россия, 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

✉ Тетенева Анна Валентиновна, e-mail: anna.dubodelova@mail.ru.

РЕЗЮМЕ

Введение. Поражение легких у больных ССД является одним из наиболее частых проявлений висцеральной патологии и рассматривается как вариант фиброзирующих диффузных интерстициальных заболеваний легких (ИЗЛ). Несмотря на продемонстрированную эффективность патогенетической иммуносупрессивной терапии, у ряда пациентов фиброзные изменения в легочной ткани имеют прогрессирующее течение, что негативно сказывается на качестве и продолжительности жизни пациента. На территории Сибирского федерального округа (СФО) количество пациентов с ССД, имеющих прогрессирующее поражение легких, составляет приблизительно 750 человек. Таким образом, проблема своевременной диагностики и лечения поражения легких при ССД оказывается весьма актуальной и для СФО. Имеющиеся в настоящее время данные об эффективности современной противомышечной терапии ИЗЛ при ССД требуют изучения возможности ее применения в реальной клинической практике на территории СФО.

Цель. Разработать пути улучшения диагностики и лечения поражений легких при системной склеродермии (ССД).

Обсуждение. Представлены результаты междисциплинарного обсуждения вопросов диагностики, терапии, маршрутизации пациентов с ССД и ИЗЛ на территории СФО. Причиной данного обсуждения явилось появление сведений об эффективности нинтеданиба у данной категории пациентов.

Заключение. Для повышения эффективности диагностики и лечения больных ССД с поражением легких необходимо реализовать принцип мультидисциплинарного подхода с обязательным привлечением пульмонолога и рентгенолога (специалиста по КТ-диагностике), а при необходимости дифференциальной диагностики в сложных клинических ситуациях – патоморфолога. Актуальной задачей оказывается внедрение на территории СФО алгоритма обследования пациентов с ССД для своевременной диагностики ИЗЛ. Для повышения качества оказания медицинской помощи на территории СФО пациентам с ИЗЛ при ССД необходимо создать референсный центр в г. Новосибирске с возможностью инициации специалистами этого центра антифибротической терапии.

Ключевые слова: системная склеродермия, интерстициальные заболевания легких, нинтеданиб, антифибротическая терапия.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Алексеева Л.И., Терпигорев С.А., Зонова Е.В., Куделя Л.М., Бабадаева Н.М., Тетенева А.В., Кондрашов А.А., Орлов Д.Н., Раскина Т.В., Аношенкова О.Н., Часовских Ю.П., Кропотина Т.В., Опонгошева А.Б., Юдина Н.В., Ганюкова Н.Г. Пути улучшения диагностики и лечения поражения легких при системной склеродермии на территории Сибирского федерального округа (материалы совместного совета экспертов ревматологов и пульмонологов от 8.12.2019). *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 113–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-113-119>.

Ways to improve the diagnosis and treatment of interstitial lung disease associated with systemic sclerosis in the Siberian Federal District (materials of the advisory board of rheumatologists and pulmonologists from December 08, 2019)

Alekseeva L.I.¹, Terpigorev S.A.⁴, Zonova E.V.², Kudelya L.M.^{2, 14}, Babadaeva N.M.⁶, Teteneva A.V.^{3, 7}, Kondrashov A.A.⁵, Orlov D.N.⁸, Raskina T.V.⁹, Anoshenkova O.N.³, Chasovskikh Yu.P.³, Kropotina T.V.¹⁰, Opongosheva A.B.¹¹, Yudina N.V.¹², Ganyukova N.G.¹³

¹ V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology
34a, Kashirskoye Highway, Moscow, 115552, Russian Federation

² *Novosibirsk State Medical University
54, Krasny Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation*

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

⁴ *Moscow Regional Research and Clinical Institute
61/2, Build. 1, Shchepkina Str., Moscow, 129110, Russian Federation*

⁵ *Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation*

⁶ *Moscow City Clinical Hospital No. 1
8, Leninsky Av., Moscow, 119049, Russian Federation*

⁷ *Medical and Sanitary Unit No. 2
3/1, Bela Kuna Str., Tomsk, 634040, Russian Federation*

⁸ *City Clinical Polyclinic No. 1
42, Serebrennikovskaya Str., Novosibirsk, 630099, Russian Federation*

⁹ *Kemerovo State Medical University
22, Voroshilov Str., Kemerovo, 650056, Russian Federation*

¹⁰ *Omsk Regional Clinical Hospital
3, Berezhovaya Str., Omsk, 644111, Russian Federation*

¹¹ *Republican Hospital
130, Kommunisticheskoy Av., Gorno-Altaysk, Republic of Altai, 649002, Russian Federation*

¹² *Republican Hospital
163, Oyuna Cursed Str., Kyzyl, Republic of Tyva, 667003, Russian Federation*

¹³ *Kemerovo Regional Clinical Hospital
22, Oktyabrskiy Av., Kemerovo, 650061, Russian Federation*

¹⁴ *Novosibirsk State Regional Clinical Hospital
130, Nemirovich-Danchenko Str., Novosibirsk, 630087, Russian Federation*

ABSTRACT

The aim of the study was to develop ways to improve the diagnosis and treatment of systemic sclerosis (SSc)-ILD. Interstitial lung disease (ILD) is a common manifestation of SSc. In the territory of the Siberian Federal District (SFD), the number of patients with the progressive phenotype of SSc-ILD is approximately 750 people. When immunosuppressive therapy is ineffective and pulmonary fibrosis progresses, lung transplantation is indicated. The emergence of new possibilities of pathogenetic therapy currently requires studying the possibilities of their applications in real clinical practice on the territory of the SFD.

Discussion. The results of a discussion of diagnostics, therapy, and routing of a rheumatology patient during the interdisciplinary observation of SSc-ILD in the SFD are presented. The reason for this discussion was the new data on the use of nintedanib in this category of patients

Conclusion. To improve the efficiency of diagnosis and treatment of patients with SSc in the SFD, it is necessary to implement the principle of a multidisciplinary approach with the obligatory involvement of a pulmonologist and a radiologist (a specialist in CT diagnostics), and, if differential diagnosis is necessary in difficult clinical situations, of a pathomorphologist. An urgent task is the introduction of an algorithm for examining patients with SSc for the timely diagnosis of ILD in the territory of the Siberian Federal District. To improve the quality of medical care in the territory of the SFD for patients with ILD-SSc it is necessary to create a reference center in the city of Novosibirsk with the possibility of initiating anti-fibrosis therapy.

Key words: systemic sclerosis, interstitial lung diseases, nintedanib, anti-fibrotic therapy.

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors claim that there is no funding for the study.

For citation: Alekseeva L.I., Terpigorev S.A., Zonova E.V., Kudelya L.M., Babadaeva N.M., Teteneva A.V., Kondrashov A.A., Orlov D.N., Raskina T.V., Anoshenkova O.N., Chasovskikh Yu.P., Kropotina T.V., Opongosheva A.B., Yudina N.V., Ganyukova N.G. Ways to improve the diagnosis and treatment of interstitial lung disease associated with systemic sclerosis in the Siberian Federal District (materials of the advisory board of rheumatologists and pulmonologists from December 08, 2019). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 113–119. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-113-119>.

ВВЕДЕНИЕ

Системная склеродермия (ССД) – редкое аутоиммунное заболевание, характеризующееся дисрегуляцией иммунной системы, микрососудистыми повреждениями и развитием фиброза внутренних органов. Одним из частых и потенциально опасных для жизни проявлений висцеральной патологии у больных ССД оказывается поражение легочной паренхимы, которое встречается у 80% больных, и в настоящее время рассматривается как один из вариантов фиброзирующих диффузных интерстициальных заболеваний легких (ИЗЛ). Поражение легких при ССД встречается чаще, чем при других системных заболеваниях соединительной ткани. Очевидные изменения легочной ткани по данным рентгенографии органов грудной клетки обнаруживают у 25–65% больных, а по результатам компьютерной томографии высокого разрешения (ВРКТ) – у 90% пациентов. При аутопсии легочный фиброз при ССД верифицируется в 75–100% случаев [1]. Приблизительно у трети пациентов с ИЗЛ при ССД выявляют прогрессирование фиброза в легких. Прогрессирующее поражение легких при ССД рассматривается как одна из ведущих причин смерти и оказывается существенным бременем для системы здравоохранения [2, 3]. Данные предварительной оценки распространенности этой патологии на территории Сибирского федерального округа (СФО) свидетельствуют о том, что количество пациентов с прогрессирующим течением ИЗЛ при ССД составляет приблизительно 750 человек.

Среди функциональных параметров, используемых для контроля эффективности проводимой терапии ИЗЛ, наиболее часто используется функция внешнего дыхания (или спирометрия) с оценкой форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ). Об эффективности терапии свидетельствуют замедление скорости снижения ФЖЕЛ или его стабилизация. Тяжесть респираторной дисфункции и темп прогрессирования ИЗЛ при ССД значительно варьируют. Исходное состояние и скорость прогрессирования ИЗЛ имеют основное значение в тактики ведения больного.

На сегодняшний день основу терапии ИЗЛ при ССД составляют препараты с иммуносупрессив-

ным действием, наиболее часто – циклофосфамид и микофенолатамофетил, эффективность которых была изучена в двух рандомизированных, двойных слепых исследованиях (исследования склеродермии легких I и II [SLS-I и SLS-II]) [4, 5]. При неэффективности или непереносимости этой терапии возможно применение азатиоприна или циклоспорина А. При неэффективности иммуносупрессивной терапии и прогрессировании легочного фиброза показана трансплантация легких или гемопоэтических стволовых клеток. Появление в настоящее время нового препарата патогенетического действия требует изучения возможности его применения в реальной клинической практике на территории СФО.

Цель работы – разработать пути улучшения диагностики и лечения поражений легких при ССД.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Проанализировать новые возможности патогенетической терапии пациентов с ИЗЛ при ССД и оценить необходимость их применения на территории СФО.
2. Рассмотреть возможность применения мультидисциплинарного подхода к диагностике, дифференциальной диагностике и лечению ИЗЛ при ССД.
3. Разработать положение о маршрутизации пациентов с ИЗЛ при ССД в СФО и порядке получения высокотехнологичной медицинской помощи, в том числе по региональной льготе.
4. Оценить необходимость создания референсного центра для пациентов с ИЗЛ при ССД на территории СФО с возможностью инициации антифибротической терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из актуальных вопросов является маршрутизация пациентов с ИЗЛ при ССД. Ведение таких пациентов должно быть основано на междисциплинарном взаимодействии различных специалистов: ревматолога, пульмонолога, рентгенолога и патоморфолога. По аналогии с алгоритмом верификации диагноза при идиопатическом легочном фиброзе предлагается алгоритм диагностики ИЗЛ при ССД (рис. 1).



**Диагностика ИЗЛ при ССД требует
мультидисциплинарного подхода и опыта**

Рис. 1. Мультидисциплинарный подход к верификации диагностики интерстициальных заболеваний легких при сосудистой склеродермии

Верификация поражения легких при ССД нуждается в комплексном обследовании пациента, которое включает оценку клинических проявлений ИЗЛ, проведение функциональных легочных тестов (ФЛТ), исследование диффузионной способности легких (ДСЛ) и выполнение в обязательном порядке ВРКТ. Крайне редко, особенно в последние годы, прибегают к биопсии легких и морфологическим исследованием биоптатов.

ФЛТ (в первую очередь – определение ФЖЕЛ), измерение ДСЛ и ВРКТ необходимо выполнять при постановке диагноза и в дальнейшем не реже 1 раза в год, при условии, что пациент находится в стабильном состоянии. При прогрессировании респираторных симптомов для оценки прогрессирования ИЗЛ необходимо выполнить или повторить ВРКТ. Наиболее часто при ССД основным проявлением ИЗЛ является так называемая неспецифическая интерстициальная пневмония, которая может быть диагностирована при наличии соответствующих компьютерно-томографических или морфологических паттернов.

Новые углубленные представления о механизмах повреждения соединительной ткани при ССД и формировании легочного фиброза при этой патологии позволили открыть новый этап изучения патогенеза ССД и применения противофиброзной терапии. Данные исследования SENSICIS показали, что ингибитор тирозинкиназы нинтеданиб оказался эффективным у больных ССД с поражением легких, поскольку уменьшал скорость прогрессирования легочной патологии. Данное исследование включало 576 пациентов, которые получили по крайней мере одну дозу нинтеданиба или плацебо. При анализе первичной конечной точки годовая скорость изменения ФЖЕЛ составила –52,4 мл в год в группе лечения нинтеданибом и –93,3 мл в год в группе плацебо (разли-

чие 41,0 мл в год; 95%-й доверительный интервал, 2,9–79,0; $p = 0,04$) [6].

Противофиброзное действие нинтеданиба реализуется путем блокады внутриклеточного сигнального пути и торможения пролиферации и трансформации фибробластов. Ранее эффективность нинтеданиба была доказана при проведении многочисленных исследований с привлечением пациентов, страдающих идиопатическим легочным фиброзом, и на сегодняшний день препарат нашел широкое применение в лечении этой патологии [7–9].

В настоящее время нинтеданиб прошел регистрацию и был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration) и Министерством здравоохранения Российской Федерации как единственный противофиброзный препарат для лечения ИЗЛ при ССД.

Проведение антифибротической терапии больных ССД с поражением легких требует оценки исходной тяжести болезни, а также риска его прогрессирования. Согласно современным представлениям о механизмах патогенеза заболевания и данным клинических исследований, терапия нинтеданибом должна быть инициирована в следующих случаях:

1. Больным с верифицированными ИЗЛ по данным ВРКТ с клиническими проявлениями поражения легких (одышка, кашель) и ФЖЕЛ $\leq 70\%$ и (или) ДСЛ $\leq 60\%$ на момент постановки диагноза.

2. При выявлении признаков прогрессирования ИЗЛ при ССД, которое определяется на основании наличия одного и более критериев:

- снижение ФЖЕЛ на 10% и более от предыдущего исследования;
- снижение ФЖЕЛ на 5–10% от предыдущего исследования с ухудшением респираторных симптомов;
- снижение ФЖЕЛ на 5–10% от предыдущего исследования с наличием отрицательной динамики по данным ВРКТ связанное с основным заболеванием;
- прогрессированием респираторных симптомов и увеличением распространения фиброза легких по данным ВРКТ.

Данные критерии являются актуальными только в случаях исключения легочной инфекции и других причин респираторных симптомов, а также изменений по данным ВРКТ, характерных для других интерстициальных поражений легких, поражений легких, обусловленных кардиологической патологией (острой левожелудочковой сердечной недостаточности, тромбоэмболии легочной артерии). Алгоритм назначения антифибротической терапии был определен на основании исходной степени тяжести ИЗЛ и при наличии очевидного риска прогрессирования заболевания (рис. 2).

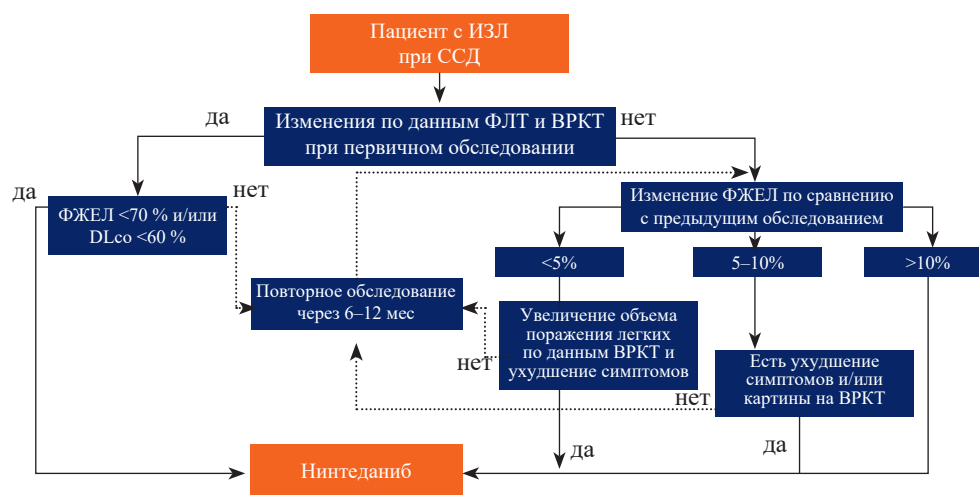


Рис. 2. Алгоритм назначения антифибротической терапии пациентам с интерстициальными заболеваниями легких при сосудистой склеродермии

Назначение антифибротической терапии следует осуществлять по решению врачебной комиссии, учитывая наличие у пациентов этой группы жизненных показаний. Следует также учитывать то обстоятельство, что на настоящий момент нинтеданиб оказывается единственным препаратом, имеющим соответствующее одобрение на это показание. На основании результатов обследования пациент должен быть направлен на медико-социальную экспертизу по месту жительства для установления группы инвалидности. На основании статуса инвалида пациент будет иметь право на бесплатное лекарственное обеспечение при амбулаторном лечении на регулярной основе за счет средств регионального или федерального бюджета.

До получения статуса инвалида лекарственное обеспечение осуществляется за счет ежемесячных индивидуальных закупок на основании решения врачебной комиссии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исходя из вышеизложенного, участники Совета экспертов считают необходимым:

- актуализировать проблему диагностики и терапии ИЗЛ при ССД на территории СФО;
- внедрить алгоритм обследования пациентов ИЗЛ при ССД;
- руководствоваться мультидисциплинарным подходом к диагностике и лечению ИЗЛ при ССД с обязательным привлечением пульмонолога и рентгенолога (специалиста по КТ-диагностике), при необходимости дифференциальной диагностики в сложных клинических ситуациях – патоморфолога;

– разработать положения о маршрутизации пациентов с ИЗЛ при ССД и порядке получения высокотехнологичной медицинской помощи, в том числе получение лекарственной антифибротической терапии по региональной льготе, в каждом регионе СФО;

– создать референсный центр в г. Новосибирске с возможностью инициации антифибротической терапии для повышения качества оказания медицинской помощи на территории СФО пациентам с ИЗЛ при ССД;

– инициировать работу с общественными организациями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Интерстициальные и орфанные заболевания легких; под ред. М.М. Ильковича. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019: 384–390.
2. Frantz C., Avouac J., Distler O. et al. Impaired quality of life in systemic sclerosis and patient perception of the disease: a large international survey. *Semin. Arthritis Rheum.* 2016; 46 (1): 115–123. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2016.02.005.
3. Fischer A., Zimovetz E., Ling C., Esser D., Schoof N. Humanistic and cost burden of systemic sclerosis: a review of the literature. *Autoimmun. Rev.* 2017; 16 (11): 1147–1154. DOI: 10.1016/j.autrev.2017.09.010.
4. Tashkin D.P., Elashoff R., Clements P.J. et al. Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 2655–2666. DOI: 10.1056/NEJMoa055120.
5. Tashkin D.P., Roth M.D., Clements P.J. et al. Mycophenolate mofetil versus oral cyclophosphamide in scleroderma-related interstitial lung disease (SLS II): a randomized controlled, double-blind, parallel group trial. *Lancet Respir. Med.* 2016; 4 (9): 708–719. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)30152-7.
6. Richeldi L., du Bois R.M., Raghu G. et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370 (22): 2071–2082. DOI: 10.1056/NEJMoa1402584.

7. Wollin L., Wex E., Pautsch A. et al. Mode of action of nintedanib in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2015; 45 (5): 1434–1445. DOI: 10.1183/09031936.00174914.
8. Richeldi L., Costabel U., Selman M. et al. Efficacy of a tyrosine kinase inhibitor in idiopathic pulmonary fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365 (12): 1079–1087. DOI: 10.1056/NEJMoa1103690.
9. Distler O. et al. Nintedanib for systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *N. Engl. Med.* 2019; 380: 2518–2528. DOI: 10.1056 / NEJMoa1903076.

Вклад авторов

Алексеева Л.И. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Терпигорев С.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Зонина Е.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Куделя Л.М. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Бабадаева Н.М. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Тетенева А.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи. Кондрашов А.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Орлов Д.Н. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Раскина Т.В. – анализ и интерпретация данных. Аношенкова О.Н. – анализ и интерпретация данных. Часовских Ю.П. – анализ и интерпретация данных. Кропотина Т.В. – анализ и интерпретация данных. Опонгошева А.Б. – анализ и интерпретация данных. Юдина Н.В. – анализ и интерпретация данных. Ганюкова Н.Г. – анализ и интерпретация данных.

Сведения об авторах

Алексеева Людмила Ивановна, д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела метаболических заболеваний костей и суставов с центром профилактики остеопороза, НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой, г. Москва. ORCID 0000-0001-7017-0898.

Аношенкова Ольга Николаевна, зав. амбулаторным ревматологическим отделением, СибГМУ, гл. внештатный специалист ревматолог Департамента здравоохранения Томской области, г. Томск. ORCID 0000-0002-6079-0353.

Бабадаева Наталья Марковна, канд. мед. наук, зав. городским ревматологическим центром, ГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID 0000-0002-0652-2884.

Ганюкова Надежда Григорьевна, канд. мед. наук, врач-пульмонолог, пульмонологическое отделение, КОКБ им. С.В. Беляева, гл. внештатный специалист пульмонолог Кемеровской области, г. Кемерово.

Зонина Елена Владимировна, д-р мед. наук, профессор, кафедра терапии, гематологии и трансфузиологии, НГМУ, гл. ревматолог Сибирского федерального округа, г. Новосибирск. ORCID 0000-0001-8529-4105.

Кондрашов Артем Александрович, ассистент, кафедра факультетской терапии им. академика А.И. Нестерова, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID 0000-0001-9152-3234.

Кропотина Татьяна Владимировна, канд. мед. наук, врач-ревматолог, зам. гл. врача по терапии, ОКБ, г. Омск.

Куделя Любовь Михайловна, д-р мед. наук, профессор, руководитель областного пульмонологического центра, ГНОКБ; профессор, кафедра внутренних болезней им. академика Л.Д. Сидоровой, внештатный специалист пульмонолог Новосибирской области, г. Новосибирск. ORCID 0000-0001-6602-5460.

Опонгошева Амелия Борисовна, врач-ревматолог, РБ, г. Горно-Алтайск.

Орлов Дмитрий Николаевич, врач-ревматолог, зав. городским центром клинической иммунологии, ГКП № 1, г. Новосибирск.

Раскина Татьяна Алексеевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней, КемГМУ, г. Кемерово.

Терпигорев Станислав Анатольевич, д-р мед. наук, руководитель отделения профессиональной патологии и лечебно-трудовой экспертизы, профессор, кафедра терапии, МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва. ORCID 0000-0001-5444-5943.

Тетенева Анна Валентиновна, д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ; зам. гл. врача по медицинской части, МСЧ № 2, гл. внештатный специалист пульмонолог Департамента здравоохранения Томской области, г. Томск. ORCID 0000-0002-4323-2798.

Часовских Юлия Павловна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра факультетской педиатрии, СибГМУ, гл. внештатный детский специалист ревматолог Департамента здравоохранения Томской области и Сибирского федерального округа, г. Томск. ORCID 0000-0002-6408-0965.

Юдина Наталья Владимировна, врач-ревматолог, РБ № 1, гл. внештатный специалист ревматолог Республики Тыва, г. Кызыл.

(✉) Тетенева Анна Валентиновна, e-mail: anna.dubodelova@mail.ru.

Поступила в редакцию 18.02.2020

Подписана в печать 16.06.2020

Хроническая тазовая боль у женщин

Григорьев Е.Г.^{1,2}, Лебедева Д.В.¹, Григорьев С.Е.³

¹ Иркутский государственный медицинский университет (ИГМУ)
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

² Иркутский научный центр хирургии и травматологии (ИНЦХТ)
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1

³ Иркутская областная клиническая больница (ИОКБ)
Россия, 664049, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100

РЕЗЮМЕ

Хроническая тазовая боль, возникающая в результате варикозной болезни вен малого таза, – мультидисциплинарная проблема. Ключевая причина тазовой конгестии – врожденная или приобретенная несостоятельность клапанов гонадных вен. Ультразвуковое и доплерографическое исследование при хронической тазовой боли позволяет в большинстве наблюдений диагностировать тазовый варикоз. Мультиспиральная компьютерная или магнитно-резонансная томография детализирует характер и распространенность патологии. Золотым стандартом диагностики варикозной болезни вен малого таза считается селективная флебография. Консервативное лечение флеботропными препаратами назначается при ограниченном тазовом варикозе. Хирургические методы лечения включают открытые резекционные вмешательства, ретроперитонеальное и трансперитонеальное лапароскопическое иссечение гонадных вен или их клипирование. Наиболее эффективна мининвазивная эндоваскулярная окклюзия рефлюксных вен с использованием спиральных технологий и склерозантов. Чаще редуцируется левая яичниковая вена. Решение о билатеральной эмболизации сосудов зависит от выраженности изменения вен и интенсивности рефлюкса крови. Уменьшение интенсивности или исчезновение боли в области малого таза достигается в 80–100% наблюдений после процедуры. Диагностика этого состояния затруднена в связи с тем, что проявления тазового варикоза неспецифичны и включают симптомы хирургических, урологических, гинекологических и других заболеваний органов малого таза.

Ключевые слова: варикозная болезнь вен малого таза, тазовая венозная конгестия, лучевая диагностика, эндоваскулярная окклюзия, хирургическое лечение.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Григорьев Е.Г., Лебедева Д.В., Григорьев С.Е. Хроническая тазовая боль у женщин. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 120–127. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-120-127>.

Chronic pelvic pain in women

Grigoryev E.G.^{1,2}, Lebedeva D.V.¹, Grigoryev S.E.³

¹ Irkutsk State Medical University
1, Krasnogo Vosstaniya Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

² *Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
1, Bortsov Revolyutsii Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation*

³ *Irkutsk Regional Clinical Hospital
100, Yubileyniy Str., Irkutsk, 664049, Russian Federation*

ABSTRACT

Chronic pelvic pain resulting from varicose veins of the small pelvis is a multidisciplinary problem. A key cause of pelvic congestion is congenital or acquired gonadal valve failure. Ultrasound and Doppler examination for chronic pelvic pain allows in most cases to diagnose pelvic varicose veins. Multispiral computed tomography or magnetic resonance imaging details the nature and extent of the pathology. Selective phlebography is considered the gold standard for diagnosing varicose veins of the small pelvis. Conservative treatment with phlebotropic drugs is prescribed for limited pelvic varicose veins. Surgical treatments include open resection and retroperitoneal and transperitoneal laparoscopic gonadal vein excision or clipping. The most effective is minimally invasive endovascular occlusion of reflux veins using spiral technologies and sclerosants. The left ovarian vein is reduced more often. The decision on bilateral embolization of blood vessels depends on the severity of changes in veins and the intensity of blood reflux. A decrease in the intensity or disappearance of pain in the pelvic area is achieved in 80–100% of cases after the procedure. Diagnosis of this condition is difficult due to the fact that the appearance of pelvic varicose veins is nonspecific and includes symptoms of surgical, urological, gynecological and other diseases of the pelvic organs.

Key words: pelvic vein varicosity, pelvic vein congestion, radiologic diagnostics, endovascular occlusion, surgical treatment.

Conflict of interest. Authors declare no actual or potential conflict of interest related to publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Grigoryev E.G., Lebedeva D.V., Grigoryev S.E. Chronic pelvic pain in women. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 120–127. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-120-127>.

ВВЕДЕНИЕ

Варикозная болезнь вен малого таза (ВБВМТ) – недостаточно изученная проблема. Универсальной терминологии в русско- и англоязычной литературе нет, единые подходы к диагностике и оказанию специализированной помощи пациенткам с данным заболеванием отсутствуют.

В основе ВБВМТ лежит развитие синдрома тазового полнокровия в результате дилатации gonadных и внутритазовых вен из-за ретроградного турбулентного потока крови. Наиболее типичными проявлениями являются хроническая тазовая боль (ХТБ) продолжительностью более 6 мес, не связанная с менструальным циклом, диспареуния, дисхезия [1].

В 1857 г. М.А. Richet впервые описал овариоцеле [2]. Позднее В.Ф. Снегирев [3] сформулировал гипотезу о роли венозной системы в патогенезе хронических («плеторических») болей в малом тазу у женщин. При бимануальном исследовании определялись растянутые кровью тазовые сплетения в виде плотных, болезненных опухолей, которые, по его мнению, могут быть аналогом варикоцеле у мужчин.

В 1949 г. Н.С. Taylor установил зависимость между варикозным расширением вен и хроническими тазовыми болями [4]. К ХТБ механического характера А.Э. Мандельштам (1956) также относил плеторические боли [5]. В 1975 г. О. Craig и J. Hobbs впервые подробно описали ВБВМТ и дали этому заболеванию принятое в англоязычной литературе название – pelvic congestion syndrome [6].

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

P. Latthe с соавт. [7] отмечали, что синдром тазовой конгестии диагностируют у 24% женщин репродуктивного возраста, но реальная распространенность этого заболевания больше, поскольку многие по разным причинам не прибегают к медицинской помощи. В США при ХТБ одной трети женщин диагностируют тазовый варикоз [8]. В Великобритании среди пациенток 12–70 лет заболеваемость составляет 38 на 1 000 в год [9]. ХТБ значительно снижает качество жизни, приводит к психоэмоциональным проблемам, семейным конфликтам, социальной дезадаптации. Патология имеет социально-экономическое значение, так как вызывает у 10–12% женщин

временную утрату трудоспособности [10]. Они долгое время наблюдаются у гинекологов, хирургов и других специалистов, не получая адекватного лечения. Ежегодные общеевропейские затраты на лечение составляют 3,8 млрд евро [9].

ЭТИОПАТОГЕНЕЗ

Выделяют первичное (идиопатическое) варикозное расширение (ВР) вен малого таза и вторичное, обусловленное обструкцией тазовых вен извне на фоне гинекологической, урологической или хирургической органной патологии [11].

Описаны две главные причины первичной недостаточности тазовых вен и ХТБ. Во-первых, врожденная или приобретенная клапанная несостоятельность гонадных, параметральных и маточных вен (в 15% наблюдений слева, в 6% – справа) [11]. Во-вторых, во время беременности емкость тазовых вен увеличивается в 60 раз по сравнению с их нормальным значением [12]. Вены не обладают эластичностью артерий, и после родов их диаметр не возвращается к исходному, что в конечном итоге может способствовать постоянному венозному рефлюксу. Не исключено и гормональное влияние на формирование ВРВМТ при беременности.

Ко вторичному ВРВМТ относят особенности архитектоники абдоминальных сосудов: сдавление левой внутренней подвздошной вены правой общей подвздошной артерией (синдром Мэя – Тернера) и компрессия левой почечной вены верхней брыжеечной артерией (синдром Щелкунчика), отходящей от аорты под острым углом, с развитием левосторонней почечной флебогипертензии. В результате развивается избыточный рефлюкс крови в венозную сеть малого таза.

Некоторые авторы относят ВРВМТ к разновидностям хронической венозной недостаточности, считая ее проблемой сосудистой хирургии. На это указывает наличие у половины женщин с ВРВМТ варикозной болезни вен нижних конечностей, что не исключает версию о единстве причин и патогенетических механизмов при данных заболеваниях [13, 14].

В патогенезе флебогипертензии имеет значение распространенность варикозной трансформации тазовых вен и формирование варикоза наружных половых органов в результате дренирования крови из сосудов малого таза в подкожные вены промежности [15], что, вероятно, уменьшает тазовую конгестию. Остается до конца не ясным формирование ХТБ при варикозной болезни тазовых вен. Не исключено, что турбулентный кровоток воздействует на рецепторы сосудистой стенки, нарушает выработку нейромедиаторов и способствует появлению болевого син-

дрома [16]. Так, С.Г. Гаврилов и соавт. наблюдали пациенток с ВРВМТ и расширением гонадных и параметральных вен до 10 мм и более при отсутствии ХТБ [15]. Поэтому расширение яичниковых вен не следует считать объективным показателем патологического рефлюкса крови [17].

Факторы риска развития обсуждаемой патологии совпадают с таковыми при варикозной болезни вен нижних конечностей: наследственность, пол, возраст, малоподвижный образ жизни, характер труда, две и более беременности, нарушение гормонального баланса.

КЛАССИФИКАЦИЯ

А.Е. Волков (2000) предложил классификацию варикозного расширения вен малого таза в зависимости от диаметра сосудов и их локализации:

- первая степень: диаметр вены до 5 мм (любого венозного сплетения малого таза), «штопорообразный» ход сосуда;
- вторая степень: диаметр вены 6–10 мм при тотальном типе варикоза, рассыпной эктазии яичникового сплетения (*pl. pampiniformis ovarii*), ВР параметральных вен (*pl. uterovaginalis*), ВР вен аркуатного сплетения матки;
- третья степень: диаметр вены >10 мм при тотальном или магистральном типе ВР параметральной локализации [18].

В 2004 г. японским рентгенологом Т. Hiromura предложена классификация рефлюкса крови по левой яичниковой вене [19]:

- рено-гонадный рефлюкс крови без варикозных изменений тазовых вен;
 - рефлюкс в гонадную вену с ограниченным левосторонним варикозом тазовых вен;
 - рефлюкс крови в гонадную вену с тотальным варикозом и дренированием крови в правую яичниковую вену.
- Г. Ascianto [20] диагностировал ВРВМТ по следующим признакам:
- варикозный рефлюкс к ипси- или контралатеральной проксимальной части бедра;
 - визуализация рефлюкса по всему ходу яичниковой вены;
 - ретроградное наполнение основного ствола внутренней подвздошной вены и, по крайней мере, одной боковой ветви (ягодичная, седалищные или запирающие вены);
 - ретроградное заполнение контрастного вещества по средней линии.

Авторы «Российских клинических рекомендаций по диагностике и лечению хронических заболеваний вен» (2018) классифицируют следующие формы:

1. По клиническим проявлениям:

– варикозная болезнь таза – заболевание, характеризующееся расширением яичниковых вен и внутритазовых венозных сплетений;

– варикозное расширение вен вульвы (вульварный варикоз) – расширение вен наружных половых органов;

– варикозное расширение вен промежности (промежностный варикоз) – расширение вен промежности вне наружных половых органов;

– варикозное расширение вен ягодичной области (ягодичный варикоз);

– вторичное расширение внутритазовых вен – расширение и рефлюкс крови по внутритазовым венам на фоне посттромботических окклюзий подвздошных и (или) нижней полой вен.

2. По течению:

– болевая форма;

– безболевая форма;

– латентная форма (асимптомная).

3. По распространенности поражения тазовых вен:

– изолированное расширение тазовых венозных сплетений;

– сочетанное расширение гонадных вен и тазовых венозных сплетений;

– одностороннее или двустороннее расширение гонадных вен;

– расширение ствола или притоков внутренних подвздошных вен [1].

С.Г. Гаврилов и соавт. утверждают, что, поскольку симптомы полнокровия не обусловлены степенью расширения тазовых вен, следует классифицировать патологию в зависимости от интенсивности гонадного рефлюкса крови. Это в свою очередь позволит сформулировать алгоритм дальнейшего обследования и лечения [15]. Зависимость между выраженностью жалоб пациенток и степенью расширения тазовых вен, площадью их поражения подлежат дальнейшему изучению.

КЛИНИКА

Проявления ВБВМТ неспецифичны и включают симптомы, встречающиеся при различных гинекологических, хирургических, урологических и неврологических заболеваниях. Патогномоничным клиническим эквивалентом считается хроническая тазовая боль (72%), которая усиливается в течение дня при длительном стоянии и уменьшается в положении лежа. Отмечено снижение частоты болевого синдрома во время беременности, возможно, обусловленное изменением гормонального фона [21]. Усиление болей может быть связано с переутомле-

нием, эмоциональной нагрузкой, переохлаждением, обострением хронических болезней гениталий [22].

Синдром тазового венозного полнокровия сопровождается дискомфортом и болевыми ощущениями в гипогастриальной зоне живота при физической нагрузке в 67% наблюдений, диспареунией – в 57,5%, боязнью половой близости, реже – недержанием мочи и частым болезненным мочеиспусканием в результате конгестии в бассейне венозного сплетения мочевого пузыря [23]. Варикоз промежности, лобковой и паховой областей встречается в 25% наблюдений. Дисменорея развивается у 22,5% пациенток [13]. Описана повышенная секреция из влагалища, особенно во второй половине цикла [24]. Помимо этого, существует прямая связь между тазовым конгестивным синдромом и развитием акушерских проблем в 6% наблюдений: бесплодие, невынашивание и прерывание беременности, вторичная дисфункция яичников [25].

При ХТБ наблюдаются психоэмоциональные расстройства (тревога, депрессия) различной степени выраженности, формируется патогенетический ноцицептивный порочный круг. Иногда интерпретация пациенткой болевого ощущения, ее эмоциональная реакция и поведение могут не соответствовать тяжести тазового венозного полнокровия, что необходимо учитывать при выборе лечебной тактики [26].

ДИАГНОСТИКА

В 1950-х гг. Р. Guilhem и соавт. [27, 28] на основании рентгенологических исследований диагностировали венозный варикоз таза без описания клинического эквивалента обнаруженных изменений.

Подозрение на конгестивный синдром должно возникнуть уже при наличии ХТБ. Для подтверждения данного состояния применяются методы визуализации венозной системы таза с использованием ультразвукового и доплерографического исследования [29]. В результате удается диагностировать патологию в большинстве наблюдений [30]. Обследование проводится в положении Фовлера трансабдоминально и трансвагинально. В некоторых случаях применяют методы проксимальной компрессии для стимуляции рефлюкса по гонадным венам.

Варикозно расширенные вены малого таза часто становятся случайной находкой при выполнении мультиспиральной компьютерной томографии сосудов (МСКТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ) по другой причине. Данные методы позволяют обнаружить не только варикозно измененные внутритазовые венозные сплетения, но и компрессию извне левых почечной и внутренней подвздошной вен (синдромы Щелкунчика и Мэя – Тернера).

Целесообразно выполнение МСКТ-флебографии или МР-флебографии с созданием трехмерного изображения топографо-анатомической картины.

С.Г. Гаврилов и соавт. в своем исследовании использовали эмиссионную компьютерную томографию с «мечеными *in vivo* эритроцитами до начала консервативной терапии или хирургического вмешательства и после их проведения для оценки эффективности лечения» [31]. Недостатками перечисленных методов являются трудности исследования пациентов в положении Фовлера и выполнения проксимальной компрессии для улучшения визуализации расширенных гонадных и внутритазовых вен.

Золотым стандартом диагностики ВБВМТ считается инвазивная селективная флебография, предложенная в 1965 г. J. Tavernier и D. Lange [32], которая позволяет детализировать патологические изменения венозной системы малого таза [30]. Для доступа чаще используется бедренная вена. В англоязычной литературе описывается катетеризация под контролем ультразвуковой сонографии яремных, подключичных, плечевых вен, обеспечивающая надежный доступ к внутритазовым коммуникациям. Выполняется селективная левосторонняя почечная флебография на фоне маневра Вальсальвы. При рефлюксе крови в яичниковую вену она контрастируется суперселективно. После этого – овариография с противоположной стороны. В ряде случаев исследуют внутренние подвздошные вены. При этом выявляются изолированные рефлюксы и дилатация вен промежности, которые также могут быть причиной тазовой боли [33].

Диагностическая лапароскопия чаще используется в гинекологической практике как заключительный этап комплексного обследования больных для выявления конкурентной патологии малого таза (эндометриоз, спаечный процесс, синдром Аллена – Мастерса и др.). Патологический рефлюкс крови, обуславливающий конгестию в венах малого таза, обнаружен лишь у 20% больных с визуально определяемым варикозом. Выявленные в ходе исследования расширенные вены малого таза без патологического рефлюкса крови не могут быть причиной венозной тазовой боли. Такие находки следует рассматривать как обычное состояние у повторно рожавших женщин [31]. Информативность лапароскопического осмотра сосудистых коммуникаций малого таза существенно уступает результатам лучевых методов диагностики (ультразвуковое исследование, МСКТ, МРТ, катетеризационная флебография).

На этом основании С.Г. Гавриловым и соавт. предложен диагностический алгоритм при хронической тазовой боли [31].

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Специфических биохимических признаков ВБВМТ не существует. Маркеры распада коллагена и дисфункции соединительной ткани (оксипролин, гликозаминогликаны, метаболиты нейроаминовой кислоты и ее производные) указывают лишь на наличие варикозной болезни, без четкой ее локализации [8]. В 2018 г. опубликована работа о применении в качестве дополнительных диагностических маркеров продуктов про- и антиоксидантных систем (диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы). Это обусловлено их ролью в возникновении и развитии ВРВМТ у женщин [34].

ЛЕЧЕНИЕ

Консервативное лечение назначается при расширенных гонадных венах без клинических проявлений тазовой конгестии и ограниченном внутритазовом варикозе [31]. Современные флеботропные препараты занимают лидирующее место в терапии ВРВМТ [8]. Используются также антикоагулянты, антиоксиданты, стимуляторы коллагенообразования, регуляторы обмена гликозаминогликанов, физиолечение и гирудотерапия. В 2018 г. опубликована работа о профилактическом применении антиоксидантов, учитывая их роль в патогенезе заболевания [34].

Аднексэктомия, гистерэктомия и резекция широкой связки матки – первые оперативные вмешательства, которые стали применять для лечения данной патологии [35]. При анализе полученных результатов оказалось, что у 33% пациенток сохранялись неприятные ощущения, у 20% боль осталась на прежнем уровне. Позднее были предложены перевязка или клипирование овариальных вен. Однако в связи с частыми рецидивами ХТБ (до 80%) от этого метода отказались.

Стволовой тип гонадных вен без сопутствующей гинекологической патологии и при отсутствии варикозной болезни нижних конечностей позволяет применять эндоваскулярную окклюзию яичниковых вен для лечения синдрома тазового полнокровия. При рассыпном типе целесообразно использовать лапароскопическую резекцию гонадных вен, которая позволяет одновременно провести коррекцию сопутствующей патологии. При таком подходе число рецидивов удастся минимизировать [8, 31].

В отличие от традиционных открытых или лапароскопических хирургических методов, в эндоваскулярных вмешательствах используется минимально инвазивный подход – селективная окклюзия рефлюксных вен [36]. Чрезкатетерная эмболизация

яичниковых вен впервые была описана R.D. Edward и соавт. в 1993 г. [37]. Для этой процедуры применяются металлические конструкции, клеевые композиции, поливинилалкоголь, жидкие склерозанты. Дальнейшее изучение проблемы показало, что спиральные технологии эффективны не более чем в 60% наблюдений, что связано с формированием окольного рефлюксного венозного кровотока [38]. По мнению В.Ю. Богачева, целесообразно сочетать спиральные технологии с введением склерозантов [29]. Достаточно эффективной склерозирующей субстанцией является 96%-й этиловый спирт [39]. Методика предусматривает установку спирали и (или) введение склерозанта на уровне L4–L5 в гонадную вену [40]. Некоторые авторы для склерозирования используют лапароскопический доступ, сообщая о снижении интенсивности боли у 61,2% больных при сочетанной варикозной болезни вен придатков матки и у 90,0% – при изолированной конгестии [11].

Решение о моно- или билатеральной эмболизации сосудов принимается на основании выраженности изменения вен и интенсивности рефлюкса крови [8]. Уменьшение интенсивности или исчезновение хронической боли в области малого таза было достигнуто у 80% пациентов. В дальнейших исследованиях, посвященных окклюзии как яичниковых, так и внутренних подвздошных вен, положительный результат достигнут в 94% наблюдений [33]. При лечении 41 пациентки G. Maleux отмечал его эффективность в 98% наблюдений [41]. В отдаленном периоде у 59% пациентов с односторонней эмболизацией яичниковых вен симптомы болезни отсутствовали [41]. Эффективность эмболизации, согласно данным разных авторов, составляет 67–89% [33]. Имеются данные о 100%-м успехе и улучшении симптоматики в течение 12-месячного периода наблюдения после процедуры [33]. С.Г. Гаврилов и соавт. сообщают о 86% успешного исхода [31].

Осложнения эндоваскулярного метода лечения встречаются в 4–22%. Наиболее часто диагностируется миграция эмболизирующего материала в правые камеры сердца и легочную артерию (1,9%). Не подтверждено, что эмболизация вен малого таза оказывает неблагоприятное влияние на фертильность, связанную с пониженной функцией яичников [33].

Открытое внебрюшинное иссечение измененных вен целесообразно выполнять больным со стволовым и (или) многоствольным типом строения овариальных вен и сопутствующими варикозной болезнью вен таза либо атипично расположенными варикозными венами. Эффективность операции достигает 100%, между тем приоритет отдается миниинвазивным методикам [31].

Что касается эндоскопических вмешательств, то в зависимости от доступа выделяют ретроперитонеальную и трансперитонеальную резекции [42].

Первая выполняется в положении больной на правом/левом боку. Очевидными преимуществами являются двукратное уменьшение времени операции, осложнений, интенсивности болей в области установки портов, послеоперационного койко-дня в сравнении с трансперитонеальным доступом. Данная методика оптимальна при одностороннем поражении гонадных вен. Кроме того, использование ретрокарбоксиперитонеума определяет возможность широкой мобилизации гонадной вены от яичника до левой почечной или нижней полой вен без травмирования органов брюшной полости [42].

Трансперитонеальная эндоскопическая резекция выполняется при двустороннем поражении гонадных вен [42].

По данным С.Г. Гаврилова и соавт., эффективность лапароскопической резекции гонадных вен также достигает 100% [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Варикозная болезнь вен малого таза – достаточно частое заболевание, его главным проявлением является тазовая боль, которая снижает качество жизни, формирует психоэмоциональные проблемы, приводит к социальной дезадаптации. Нередко женщины наблюдаются у разных специалистов (акушеров, гинекологов, хирургов, урологов, неврологов, психиатров и пр.) без назначения этиопатогенетического лечения.

Начиная с середины XIX в., обсуждаются причины плеторических болей и, прежде всего, роль в их возникновении изменений венозной системы таза. Варикозная трансформация тазовых вен с формированием флебогипертензии возникает прежде всего в результате рефлюкса крови в гонадные вены. Не исключается, что тазовая конгестия является разновидностью хронической венозной недостаточности, учитывая теорию о единстве этиопатогенетического механизма развития варикоза малого таза и нижних конечностей.

Трудности диагностики связаны с тем, что проявления тазового варикоза неспецифичны и включают симптомы хирургических, гинекологических, урологических и других заболеваний органов малого таза.

В основе инструментальной диагностики варикозной болезни малого таза лежат лучевые методы: ультразвуковое и доплерографическое исследование, МСКТ-флебография, МРТ. Наиболее точную информацию удастся получить после выполнения инвазивной селективной и суперселективной флебографии.

Для лечения тазового полнокровия предложены резекционные открытые и эндоскопические вмешательства, клипирование овариальных вен, эндоваскулярная редукция патологического кровотока. Последний метод коррекции тазового венозного полнокровия высокоэффективен при магистральном типе гонадного рефлюкса.

В проблеме тазовой венозной конгестии остаются вопросы и нерешенные задачи диагностики и лечения хронической боли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен. *Флебология*. 2018; 3: 146–240. DOI: 10.17116/flebo20187031146.
2. Richet M.A. Traité pratique d'anatomie médico-chirurgicale. Paris: F. Chamerot, Libraire-Editeur, 1857: 1026.
3. Снегирев В.Ф. Маточные кровотечения. Этиология. Диагностика. Лечение. 4-е изд. М., 1907: 804.
4. Taylor H.C. Vascular congestion and hyperemia. Their effect on structure and function in the female reproductive system. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1949; 57 (2): 211–230. DOI: 10.1016/0002-9378(49)90422-6.
5. Мандельштам А.Э. Семиотика и диагностика женских болезней. Л.: Медицина, 1976: 698.
6. Craig O., Hobbs J.T. Vulval phlebography in the pelvic congestion syndrome. *Clin. Radiol.* 1975; 26 (4): 517–525. DOI: 10.1016/S0009-9260(75)80112-7.
7. Latthe P., Latthe M., Say L., Gülmözoglu M., Khan K.S. WHO systematic review of prevalence of chronic pelvic pain: a neglected reproductive health morbidity. *BMC Public Health*. 2006; 6: 177. DOI: 10.1186/1471-2458-6-177.
8. Вerezгова С.В., Троиц Е.Б., Рыжков В.К. Конгестивный синдром у женщин. Эндоваскулярные методы диагностики и лечения. *Практическая медицина*. 2015; 1: 16–20.
9. Riding D.M., Hansrani V., McCollum C. Pelvic vein incompetence: clinical perspectives. *Vasc. Health Risk Manag.* 2017; 13: 439–447. DOI: 10.2147/VHRM.S132827.
10. Хоменко Н.Е., Восканян Ю.Э., Гаспарян С.А. Варикозная болезнь вен малого таза: этиология, патогенез, диагностика, лечение. *Акушерство и гинекология*. 2006; 6: 8–10.
11. Семендяева М.А., Хамошина М.Б., Гус А.И., Семендяев А.А. Лечебно-диагностические возможности лапароскопии при варикозной болезни вен придатков матки. *Вестник РУДН. Серия: Медицина*. 2010; 6: 287–295.
12. Hodgkinson C.P. Physiology of the ovarian veins during pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 1953; 1 (1): 26–37.
13. Гаврилов С.Г., Кириенко А.И. Варикозная болезнь таза. М.: Планида ТМ, 2015: 104.
14. Hansrani V., Morris J., Caress A.L., Payne K., Seif M., McCollum C.N. Is pelvic vein incompetence associated with symptoms of chronic pelvic pain in women? A pilot study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2016; 196: 21–25. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2015.10.023.
15. Гаврилов С.Г., Москаленко Е.П., Каралкин А.В., Лебедев И.С., Сон Д.А., Турищева О.О. Является ли диаметр тазовых вен предиктором тазового венозного полнокровия? *Флебология*. 2017; 11 (1): 28–31. DOI: 10.17116/flebo201711128-31.
16. Озерская И.А., Агеева М.И. Хроническая тазовая боль у женщин репродуктивного возраста. *Ультразвуковая диагностика*. М.: Видар, 2009: 299.
17. Dos Santos S.J., Holdstock J.M., Harrison C.C., Lopez A.J., Whiteley M.S. Ovarian vein diameter cannot be used as an indicator of ovarian venous reflux. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2015; 49 (1): 90–94. DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.10.013.
18. Волков А.Е., Рымашевский Н.В., Михельсон А.Ф., Окорков А.А., Карнушин Е.И., Казарян М.С. Место эхографии в диагностике причин синдрома тазовых болей. *Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и педиатрии*. 2000; 8 (1): 62–66.
19. Hiromura T., Nishioka T., Nishioka S., Ikeda H., Tomita K. Reflux in the left ovarian vein: analysis of MDCT findings in asymptomatic women. *Am. J. Roentgenol.* 2004; 183 (5): 1411–1415. DOI: 10.2214/ajr.183.5.1831411.
20. Ascianto G., Ascianto K.C., Mumme A., Geier B. Pelvic venous incompetence: reflux patterns and treatment results. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2009; 38: 381–386. DOI: 10.1016/j.ejvs.2009.05.023.
21. Мозес В.Г., Ушакова Г.А. Варикозное расширение вен малого таза у женщин в основные возрастно-биологические периоды жизни. Клиника, диагностика, лечение, профилактика. М.: Эликс Ком, 2006: 103.
22. Савицкий Г.А., Иванова Р.Д., Щеглов И.Ю., Попов П.А. Хирургическое лечение синдрома тазовых болей в гинекологической клинике. СПб: ЭЛБИ-СПб, 2003: 137.
23. Савельев В.С., Кириенко А.И., Богачев В.Ю., Голованова О.В., Гаврилов С.Г., Золотухин И.А., Журавлева О.В., Брюшкова А.Ю., Девятых Е.А. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей как общемедицинская проблема. *Consilium Medicum*. 2004; 6 (6): 433–435.
24. Мозес В.Г., Ушакова Г.А., Дикова С.Н., Минаева Т.А. Роль недифференцированных форм дисплазии соединительной ткани в формировании патологии венозной системы малого таза у женщин. *Казанский медицинский журнал*. 2007; 88 (5-S): 123–125.
25. Lasry J.L., Coppe G., Balian E., Borie H. Pelvi-perineal venous insufficiency and varicose veins of the lower limbs: duplex Doppler diagnosis and endoluminal treatment in thirty females. *J. Mal. Vasc.* 2007; 32 (1): 23–31. DOI: 10.1016/j.jmv.2006.12.003.
26. Гаврилов С.Г., Балашов А.В., Янина А.М., Камчатнов П.Р. Механизмы формирования хронической тазовой боли при венозном полнокровии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2013; 113 (2): 71–75.
27. Guilhem P., Baux R., Paille J. Pelvic phlebography by the ischiatic transosseous route. *J. Radiol. Electrol. Arch. Electr. Medecale*. 1952; 33 (5-6): 311–314.
28. Guilhem P., Baux R., Paille J., Combet R. Findings in pelvic phlebography in phlebitis. *J. Radiol. Electrol. Arch. Electr. Medecale*. 1954; 35 (7-8): 601–606.
29. Богачев В.Ю. Варикозная болезнь вен малого таза. *Гинекология*. 2006; 4: 64–65.

30. Врезгова С.В., Троиц Е.Б. Диагностика и лечение тазового конгестивного синдрома у женщин с применением методов интервенционной радиологии. *Казанский медицинский журнал*. 2017; 4: 526–530. DOI: 10.17750/KMJ2017-526.
31. Кириенко А.И., Каралкин А.В., Гаврилов С.Г., Саитова Г.Д., Москаленко Е.П., Черкашин М.В. Диагностические возможности эмиссионной компьютерной томографии при варикозной болезни вен малого таза. *Анналы хирургии*. 2004; 1: 50–54.
32. Tavernier J., Lange D. Selective renal phlebography. Primary results. *J. Radiol. Electrol. Med. Nucl.* 1964; 45: 716–718.
33. Lopez A.J. Female pelvic vein embolization: indications, techniques, and outcomes. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2015; 38 (4): 806–820. DOI: 10.1007/s00270-015-1074-7.
34. Колесникова Л.И., Семендяев А.А., Ступин Д.А., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Натяганова Л.В., Данусевич И.Н., Черепанова М.А., Колесников С.И. Интенсивность процессов липопероксидации у женщин с первичным варикозным расширением вен малого таза в зависимости от стадии заболевания. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2018; 73 (4): 229–235. DOI: 10.15690/vramn1005.
35. Сушков С.А. Варикозная болезнь вен таза. *Медицинские новости*. 2016; 12: 4–12.
36. Mathis B.V., Miller J.S., Lukens M.L., Paluzzi M.W. Pelvic congestion syndrome: a new approach to an unusual problem. *Am. Surg.* 1995; 61 (11): 1016–1018.
37. Edwards R.D., Robertson I.R., MacLean A.B., Hemingway A.P. Case report: pelvic pain syndrome – successful treatment of a case by ovarian vein embolization. *Clin. Radiol.* 1993; 47 (6): 429–431. DOI: 10.1016/S0009-9260(05)81067-0.
38. Boersma D., van Eekeren R.R., Werson D.A., van der Waal R.I., Reijnen M.M., de Vries J.P. Mechanochemical endovenous ablation of small saphenous vein insufficiency using the Clarivein® device: one year results of a prospective series. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2013; 45 (3): 299–303. DOI: 10.1016/j.ejvs.2012.12.004.
39. Marsh P., Holdstock J.M., Bacon J.L., Lopez A.J., Whiteley M.S., Price B.A. Coil protruding into the common femoral vein following pelvic venous embolization. *Cardiovasc. Interv. Radiol.* 2008; 31 (2): 435–438. DOI: 10.1007/s00270-007-9249-5.
40. Григорьев Е.Г., Мельник А.В., Григорьев С.Е., Новожилов А.В. Рентгенохирургическое лечение хронической тазовой боли, вызванной периметральной венозной конгестией. *Якутский медицинский журнал*. 2019; 2 (66): 111–112. DOI: 10.25789/YMJ.2019.66.34.
41. Maleux G., Stockx L., Wilms G., Marchal G. Ovarian vein embolisation for the treatment of pelvic congestion syndrome: long-term technical and clinical results. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2000; 11 (7): 859–864. DOI: 10.1016/S1051-0443(07)61801-6.
42. Сажин А.В., Гаврилов С.Г., Темирболатов М.Д. Эндоскопические технологии в диагностике и лечении тазового венозного полнокровия. *Флебология*. 2017; 11 (3): 146–153. DOI: 10.17116/flebo2017113146-153.

Сведения об авторах

Григорьев Евгений Георгиевич, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, науч. руководитель ИНЦХТ; зав. кафедрой госпитальной хирургии, ИГМУ, г. Иркутск. ORCID 0000-0002-5082-7028.

Лебедева Дарья Владимировна, ординатор, кафедра госпитальной хирургии, ИГМУ, г. Иркутск. ORCID 0000-0001-7388-1679.

Григорьев Сергей Евгеньевич, канд. мед. наук, врач-хирург, отделение портальной гипертензии, ИОКБ, г. Иркутск.

(✉) Григорьев Евгений Георгиевич, e-mail: egg@iokb.ru.

Поступила в редакцию 05.07.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Корректная формулировка диагноза у пациента с хронической сердечной недостаточностью: реальность или несбыточная мечта?

Калюжин В.В.¹, Тепляков А.Т.², Беспалова И.Д.¹, Калюжина Е.В.¹, Останко В.Л.¹, Терентьева Н.Н.³, Лившиц И.К.¹, Шаловой А.А.¹, Сибирева О.Ф.¹, Соловцов М.А.⁴

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

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

³ Сургутский государственный университет (СурГУ)
Россия, 628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1

⁴ Томская областная клиническая больница (ТОКБ)
Россия, 634063, г. Томск, ул. И. Черных, 96

РЕЗЮМЕ

Проанализирована проблема унификации формулировки диагноза у пациента с хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Корень проблемной ситуации, в которой находятся практические врачи, кроется в том, что несмотря на большое количество различных регламентирующих документов, нет единого мнения относительно того, что считать правильным, а что неправильным при формулировке диагностического заключения у пациента с ХСН. Многоликий синдром обозначают по-разному: ХСН, застойная сердечная недостаточность, хроническая недостаточность кровообращения. Сложности есть при определении стадии ХСН у пациентов, получающих оптимальную медикаментозную терапию или находящихся в состоянии компенсации после успешной хирургической коррекции. При оценке функционального статуса у пациента с ХСН следует учитывать отчетливый субъективизм в определении того, какое ограничение физической активности является небольшим или, наоборот, значительным, а также того, какая нагрузка является привычной для больного. Данный субъективизм закономерно приводит к низкой воспроизводимости результатов оценки функционального класса ХСН у одного и того же пациента разными врачами. ХСН необходимо классифицировать и в зависимости от значения фракции выброса левого желудочка. В диагнозе следует приветствовать и характеристику состояния диастолической функции левого желудочка (особенно у пациентов с ХСН и сохраненной фракцией выброса). В лекции приведены примеры диагностических заключений, в том числе при коморбидной патологии.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, классификация, стадия, функциональный класс, левый желудочек, фракция выброса, диастолическая функция, хроническое легочное сердце, тест 6-минутной ходьбы, диагностическое заключение.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Останко В.Л., Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Шаловой А.А., Сибирева О.Ф., Соловцов М.А. Корректная формулировка диагноза у пациента с хронической сердечной недостаточностью: реальность или несбыточная мечта? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 128–136. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-128-136>.

Correct diagnostic conclusion in patients with chronic heart failure: a reality or a pipe dream?

Kalyuzhin V.V.¹, Teplyakov A.T.², Beshpalova I.D.¹, Kalyuzhina E.V.¹, Ostanko V.L.¹, Terentyeva N.N.³, Livshits I.K.¹, Shalovay A.A.¹, Sibireva O.F.¹, Solovtsov M.A.⁴

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

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

³ Surgut State University

1, Lenina Av., Surgut, 628412, Russian Federation

⁴ Tomsk Regional Clinical Hospital

96, I. Chernykh Str., Tomsk, 634063, Russian Federation

ABSTRACT

The authors of this article have analyzed the problem of diagnostic conclusion unification in patients with chronic heart failure (CHF). The root of this problematic situation in which practitioners find themselves is that, despite the large number of different regulatory documents, there is no consensus on what is considered correct and what is wrong when formulating a diagnostic conclusion in a patient with CHF. The many-faced syndrome is designated differently: CHF, congestive heart failure, chronic circulatory failure. There are difficulties in determining the stage of CHF in patients receiving optimal drug therapy or in those who are in a state of compensation after a successful surgical correction. When assessing the functional status in a patient with CHF, a distinct subjectivity should be taken into account in determining which limited physical activity is slight or, conversely, marked, as well as what kind of physical exertion is normal for the patient. This subjectivity naturally leads to low reproducibility of the assessment results of the CHF functional class in the same patient by different doctors. CHF should also be classified according to the value of a left ventricular ejection fraction. The diagnosis should also take into account the state characteristics of a diastolic function of the left ventricle (especially in patients with CHF and preserved left ventricular ejection fraction). The authors give examples of diagnostic conclusions, including cases of comorbid pathology.

Key words: chronic heart failure, classification, stage, functional class, left ventricle, ejection fraction, diastolic function, chronic cor pulmonale, 6-minute walk test, diagnostic conclusion.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors claim there is no funding for the study.

For citation: Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Beshpalova I.D., Kalyuzhina E.V., Ostanko V.L., Terentyeva N.N., Livshits I.K., Shalovay A.A., Sibireva O.F., Solovtsov M.A. Correct diagnostic conclusion in patients with chronic heart failure: a reality or a pipe dream? *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 128–136. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-128-136>.

ВВЕДЕНИЕ

Диагностика хронической сердечной недостаточности (ХСН) пусть и не является прикватной, но обычно с ее распознаванием больших сложностей не возникает. Главное не ограничиваться клинической оценкой признаков и симптомов, как это нередко делают, повторяя ошибки своих учителей, «опытные» кардиологи, убежденные в том, что холодные руки («холодный» цианоз) у пациента с одышкой одно-

значно свидетельствуют о ХСН, тогда как теплые («теплый» цианоз) — о заболевании легких, а попытаться тем или иным способом, например с помощью эхокардиографии, исследовать структуру и функцию сердца (в первую очередь левого желудочка (ЛЖ)), а также определить плазменную концентрацию натрийуретических пептидов (наиболее часто — мозгового натрийуретического пептида, N-терминального промозгового натрийуретического пептида и средне-

регионального пропредседного натрийуретического пептида), прежде чем ставить диагноз сердечной недостаточности [1–6].

Авторы лекции убеждены в том, что клинический этап диагностики очень важен в распознавании ХСН [7], как и в том, что если порочный подход постоянной подменены физического обследования больного теми или иными параклиническими тестами практикуется достаточно долго, то он может привести к атрофии у врача навыков так называемой *bedside* диагностики [8]. Однако без этапа верификации диагностика ХСН далеко не всегда безошибочна, а сам диагноз несовершенен [9, 10], так как совпадение мнений разных специалистов по вопросу наличия или отсутствия у больного симптомов и клинических признаков ХСН (перекрестная воспроизводимость) наблюдается отнюдь не в каждом случае [8].

После верного распознавания ХСН, как это ни парадоксально, врач сталкивается с еще большими сложностями, так как ему необходимо сформулировать развернутый клинический диагноз, чтобы последний выполнял все свои функции (за ним был виден больной с его болезнями и их ключевыми механизмами, он служил точным обоснованием для выбора методов персонализированного лечения/профилактики и реабилитации, обеспечивал преемственность терапии, был инструментом статистического учета и медицинского прогнозирования, помогал экспертизе трудоспособности и годности к военной службе, а также профессиональному отбору и врачебному контролю в спорте и т.д.), с одной стороны, и позволял избежать конфликтных ситуаций административного и правового характера, связанных с вопросами страховой медицины и порой с почти маниакальным желанием некоторых экспертов обнаружить врачебные ошибки, – с другой [11]. Как справедливо указывают ведущие российские морфологи [11, 12], любой диагноз из медицинского превращается в медико-социальный, фактически становится юридическим, «страховым» и правовым элементом при решении многих жизненных ситуаций, от которого зависит оплата законченного случая лечения, а иногда и судьба врача.

Корень проблемной ситуации, в которой находятся практические врачи, кроется в том, что несмотря на большое количество различных приказов, регламентирующих документов, методических указаний и пособий, а также справочников (обновляемая Комитетом экспертов Всемирной организации здравоохранения Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем десятого пересмотра, приказы Министерства здравоохранения СССР и Российской Федерации, ре-

комендации Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности, Национальные рекомендации по диагностике и лечению ХСН, стандарт правил формулировки заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов, утвержденный в 2006 г. Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития, а также клинические рекомендации/протоколы лечения, утвержденные Министерством здравоохранения Российской Федерации, и т.д.) [11, 13–18], нет единого мнения относительно того, что считать правильным, а что неправильным при формулировке диагностического заключения. Это наблюдается не только среди представителей различных медицинских специальностей, но даже среди специалистов одного профиля, некоторые из них могут со временем менять свои взгляды (например, рассматривая ХСН вначале как заболевание, затем как синдром). В последнем мы не видим ничего плохого. Как говорил Цицерон, каждому человеку свойственно ошибаться, но только глупцу свойственно упорствовать в своей ошибке.

Сомневающимся в этом мы предлагаем сравнить примеры формулировки клинического (или патологоанатомического) диагноза, которые приводят в своих работах отдельные авторы. Там будут примеры и лапидарных («ХСН IIБ ФК III»), и развернутых диагностических заключений, а также таковые, в которых ХСН (иногда по привычке обозначаемая как недостаточность кровообращения или застойная сердечная недостаточность) рассматривается в качестве самостоятельной нозологической формы и синдрома. Отсутствует и консенсус относительно того, что считать основным заболеванием в случае коморбидной патологии (напомним, что пациент с ХСН в большинстве случаев – это немолодой человек с «букетом» заболеваний). При этом клиницисты, ссылаясь на эти документы, имеющие различную юридическую силу, могут формулировать диагнозы совершенно по-разному!

Порой кажется, что находящийся под лавиной исходящей из различных источников информации, которая основывается на конфликтующих взглядах, практикующий врач может избежать когнитивного диссонанса, разве что приняв решение уйти из профессии, так как перспектива достижения гармонии его собственных представлений, сформированных в ходе обучения в университете и медицинской практики, с значительно различающимися требованиями профессиональных медицинских ассоциаций и экспертных сообществ, выглядит весьма туманной.

Целевым вопросом настоящей лекции является попытка разобраться с проблемой унификации формулировки диагноза пациенту с ХСН.

Диагноз (греч. διάγνωσις, лат. *diagnosis* – распознавание) – это краткое врачебное (точнее – медицинское, так как фельдшер в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития РФ от 06.11.2009 № 869 также «диагностирует типичные случаи наиболее часто встречающихся заболеваний...») заключение о патологическом состоянии здоровья обследуемого, об имеющихся у него заболеваниях (травмах) или о причине смерти, оформленное в соответствии с действующими стандартами и выраженное в терминах, предусмотренных действующими классификациями и номенклатурой болезней [17].

Что касается терминов, то, несмотря на плюрализм мнений, в соответствии с доминирующими представлениями в диагнозе следует применять лишь аббревиатуру ХСН. Сторонники термина «хроническая недостаточность кровообращения» (как правило, используют аббревиатуры НК, ХНК или Н) справедливо указывают на то, что в классификации Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко, утвержденной на XII Всесоюзном съезде терапевтов в 1935 г. и до настоящего времени являющейся действующим инструментом классифицирования ХСН, речь шла именно о недостаточности кровообращения. Другие эксперты небезосновательно отмечают, что выраженная ХСН часто ассоциируется с гиперволемией (при отсутствии эффективной терапии, включающей диуретики, – практически закономерно), связанной с ретенцией натрия и воды, проявляющейся симптомами и признаками «застоя» (иногда лишь в малом круге кровообращения), для описания которого рекомендуют использовать термин «застойная сердечная недостаточность». Тем не менее, в соответствии с Национальными рекомендациями по диагностике и лечению ХСН, термины «застойная сердечная недостаточность» и «хроническая недостаточность кровообращения», которые являются, по сути, синонимом ХСН, для унификации терминологии применять не следует [13, 15].

Современная классификация ХСН разработана экспертами Общества специалистов по сердечной недостаточности (ОССН) и утверждена на заседании президиума Всероссийского научного общества кардиологов 11.10.2002 [19]. В официальном комментарии ОССН [20] обращается внимание на преимущество данной редакции классификации с классификациями Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко (классификация «потеряла» все дополнения к классическому варианту, которые были сделаны за ее долгую историю, но в нее были введены новые поня-

тия – «бессимптомная дисфункция ЛЖ», «адаптивное ремоделирование сердца и сосудов», «дезадаптивное ремоделирование сердца и сосудов») и Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA) [21]. Таким образом, интернист должен отразить в диагнозе стадию ХСН и ее функциональный класс (ФК).

Определиться с I и II стадиями нелеченной ХСН достаточно просто: I стадия – скрытая сердечная недостаточность, ПА – моноventрикулярная (левожелудочковая), ПБ – бивентрикулярная (правожелудочковая, вторичная по отношению к левожелудочковой). Совсем не просто при физическом исследовании диагностировать эти стадии у пациента с ХСН, у которого в ходе назначенной ранее оптимальной медикаментозной терапии удалось добиться эуволемии, когда в ситуации компенсированной сердечной недостаточности утрачивается информативность так называемых гемодинамических сдвигов (симптомы и признаки застоя в малом и большом круге кровообращения при полной компенсации могут отсутствовать!). При фенотипе леченой ХСН успешно объективизировать ее I или II стадию можно по результатам эхокардиографической оценки ремоделирования (наличие и выраженность сферификации и истончения стенок) и функции (в первую очередь диастолической) ЛЖ, диагностировав бессимптомную дисфункцию ЛЖ, адаптивное ремоделирование ЛЖ или дезадаптивное ремоделирование ЛЖ, которым соответствуют I, ПА или ПБ стадии ХСН [15].

Более сложная ситуация складывается с обоснованием III стадии ХСН. По мнению экспертов ОССН, отличием ХСН III стадии от ХСН ПБ стадии является наличие необратимых структурных изменений органов-мишеней (сердца, легких, сосудов, головного мозга, почек) [15]. Но в комментарии экспертов ОССН к своей классификации ничего не сказано о том, какие «необратимые» структурные изменения, скажем, сосудов или головного мозга имеют прямую причинно-следственную связь с сердечной недостаточностью, с одной стороны, и могут рассматриваться в качестве критериев верификации III стадии ХСН – с другой. Нас в разное время учили тому, что наиболее яркими проявлениями III стадии ХСН являются застойный (кардиальный) фиброз и цирроз печени [22–24]. Однако печень в перечень органов-мишеней в классификации ОССН не входит (!), что наряду с отсутствием четких критериев, связанных с ХСН необратимых структурных изменений в указанных органах и системах (в частности, легких, сосудов, головного мозга и почек), на наш взгляд, является существенным упущением обсуждаемой классификации, препятствующим унификации диагностических

заключений. Например, нам приходилось сталкиваться с более чем спорным диагнозом, когда у пациента с ишемической болезнью сердца, развившейся на фоне сахарного диабета второго типа, осложненного развитием рефрактерного нефротического синдрома, массивной протеинурией («тяжелые, необратимые изменения почек»), обосновывали III стадию ХСН, несмотря на умеренные проявления бивентрикулярной сердечной недостаточности.

Наконец, следует отметить еще один недостаток современной классификации стадий ХСН, который нередко служит предметом критики специалистов по сердечной недостаточности [25–28], – ее так называемую жесткость. Суть ее заключается том, что в качестве градаций авторы используют стадийный подход, исключающий переход от более высоких градаций к более низким. Напомним, что классификация Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко утверждалась на XII Всесоюзном съезде терапевтов в далеком 1935 г., когда возможности эффективной фармакологической или хирургической коррекции тяжелой ХСН были более чем скромными, при которых врач фактически наблюдал «естественное» прогрессирующее течение сердечной недостаточности, и поэтому классификация не предусматривала пересмотра установленной стадии в обратном направлении. Но и в наше время, когда никем не ставится под сомнение, что внедрение в клиническую практику достижений клинической фармакологии и кардиохирургии нередко обеспечивает положительную динамику параметров, характеризующих процесс ремоделирования сердца, эксперты ОССН допускают лишь так называемое *step-up* рестадирование («стадия ХСН может ухудшаться, несмотря на лечение») [20].

Пациента с анасаркой, госпитализированного для оказания квалифицированной или специализированной помощи, следует выписывать с диагнозом «ХСН ПБ стадия», даже если в ходе лечения у него в состоянии покоя удалось ликвидировать абсолютно все симптомы и клинические признаки сердечной недостаточности (выписываем же мы больного с диагнозом «пневмония» или «острый аппендицит», когда после успешного лечения клинические и рентгено-томографические признаки пневмонии отсутствуют, а аппендикса уже и вовсе нет). В данном случае все понятно, так как такой диагноз служит самым твердым обоснованием проводимой на стационарном этапе активной комбинированной терапии [7, 25].

Но на амбулаторном этапе неизбежно возникнет необходимость рестадирования ХСН, чтобы иметь возможность, глядя на клинический диагноз, за которым, как известно, должен быть виден больной, правильно оценить тяжесть и прогноз заболевания,

определить актуальную трудоспособность и назначить соответствующее лечение (очевидно, что у пациента со скрытой, проявляющейся только при нагрузке ХСН для контроля симптомов заболевания требуется меньшая активность лечебных мероприятий, чем у декомпенсированного больного). Нелегко понять, почему у юноши с ревматическим митральным стенозом, отягощенным клинически выраженной левожелудочковой сердечной недостаточностью, и после эффективного хирургического лечения, позволяющего фактически говорить о выздоровлении, до конца жизни в медицинских документах должна фигурировать ХСН IIА стадии.

Учитывая вышесказанное, как бы ни были дороги воспоминания о далеком прошлом, когда у пациента имелась декомпенсация, следует обсуждать возможность рестадирования, с отражением в диагнозе актуальной стадии ХСН (в том числе установленной на основании эхокардиографического исследования), наряду с той, которая была до лечения.

Д.В. Преображенский и Б.А. Сидоренко [28] предлагают следующий пример подобного гибкого подхода к диагнозу: Дилатационная кардиомиопатия. ХСН I стадии (ПБ стадии в 1998 г.), I ФК (IV ФК в 1999 г.). Трансплантация сердца (1999 г.).

Пока же нет официального решения о том, что стадию можно изменить как в одну, так и в другую сторону, для отражения динамики ХСН предлагается использовать функциональную классификацию NYHA [21]. Поскольку в покое симптомы ХСН наблюдаются лишь при IV ФК ХСН (так называемая манифестная или клинически выраженная сердечная недостаточность), последний принципиально отличается от сердечной недостаточности, соответствующей I, II или III ФК, при которых симптомы возникают только при физической нагрузке (фактически скрытая сердечная недостаточность) – повышенной, привычной или меньшей по сравнению с привычной соответственно. Тем не менее заметим, что в последних рекомендациях российских кардиологов [16] клинически выраженную и тяжелую ХСН корреспондируют с II, III и IV ФК, а для описания скрытой сердечной недостаточности предлагают использовать исключительно I ФК.

При оценке функционального статуса у пациента с ХСН следует учитывать отчетливый субъективизм как больного, так и врача в определении того, какое огранические физической активности является небольшим или, наоборот, значительным, а также того, какая нагрузка является привычной для больного [28]. Данный субъективизм закономерно приводит к низкой воспроизводимости результатов оценки ФК ХСН у одного и того же пациента разными врачами [7, 28].

При этом достаточно вольную трактовку некоторыми врачами и исследователями классификации NYHA, допускающими выделение промежуточных значений ФК (фактически три дополнительные градации: I–II, II–III, III–IV), нельзя признать хорошей альтернативой попытке с помощью каких-либо подходов объективизировать оценку ФК и сделать ее более точной. С этой целью наиболее часто предлагают оценивать в функциональной пробе толерантность к физической нагрузке (дистанция пути, пройденного за 6 мин, пороговая нагрузка и др.) и максимальный объем потребляемого кислорода либо применять так называемую шкалу оценки клинического состояния [15, 29], а также иные подходы к стратификации (при разработке решающего правила используют широкий спектр показателей, характеризующих состояние больных, в частности уровень маркеров воспаления в сыворотке крови) [30].

К сожалению, далеко не во всех медицинских учреждениях есть ровный, точно размеченный, свободный от препятствий (мебель, встречные и попутные потоки пациентов и медработников, открывающиеся в коридор двери и т.д.) коридор и тем более система для проведения спирометрии. Но даже если имеются все необходимые условия для проведения нагрузочных проб, возможность их успешного выполнения у многих пациентов ограничена из-за ассоциированных заболеваний и состояний: стенокардия, перемежающаяся хромота, заболевания суставов, парезы, параличи и другая патология нервной системы, затрудняющая или исключая возможность передвижения, дыхательная недостаточность, тяжелая анемия, массивное ожирение и т.п. [28]. Очевидно, что при выполнении в таком случае нагрузочного теста (скажем, теста ходьбы в течение 6 мин) корректная интерпретация его результатов будет невозможна, так как на расстояние, проходимое больным, будут влиять не только миокардиальная, но и коронарная, дыхательная недостаточность и другие факторы (с учетом того, что ХСН поражает преимущественно пожилых, высокой коморбидностью у этих пациентов никого не удивишь) [7, 31].

Представленная в Национальных рекомендациях по диагностике и лечению ХСН модифицированная В.Ю. Мареевым шкала оценки клинического состояния при ХСН может быть хорошей альтернативой тесту 6-минутной ходьбы при объективизации ФК ХСН при отсутствии возможности по какой-либо причине выполнить (корректно интерпретировать) последний [15].

Отметим, что в диагнозе нет никакой необходимости в упоминании о принадлежности ФК ХСН к рекомендациям NYHA, как это часто делается в

клинической практике, – «ХСН IIБ стадии, II ФК (по NYHA)». Обходимся же мы при указании стадии ХСН в диагнозе без уточнения «авторских прав» Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко, как и при описании ФК стабильной стенокардии – без упоминания о канадских кардиологах [7].

В соответствии с последними рекомендациями Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности [32], ХСН следует классифицировать и в зависимости от значения фракции выброса (ФВ) ЛЖ, как это показано в Клинических рекомендациях, утвержденных Министерством здравоохранения Российской Федерации [18]: ИБС. Стенокардия напряжения, ФК III, постинфарктный кардиосклероз, ХСН со сниженной ФВ (32%), стадия IIА, ФК III.

Принимая во внимание многочисленные экспериментальные и клинические исследования, результаты которых позволяют поставить под сомнение «монопольную» роль систолической дисфункции сердца как главной и единственной гемодинамической причины, ответственной за возникновение и клинические проявления ХСН, в диагнозе следует приветствовать и характеристику состояния диастолической функции ЛЖ (особенно у пациентов с ХСН и сохраненной ФВ ЛЖ) [33–37].

По нашему мнению, стремление клиницистов предельно подробно (например, с указанием тяжести диастолической дисфункции ЛЖ) отражать в терминах, предусмотренных имеющимися классификациями, клиническую ситуацию с ХСН в диагнозе следует приветствовать, так как оно продиктовано желанием построить наиболее эффективную дифференцированную терапию и точно определить прогноз заболевания. Однако до абсурда доходить нельзя. Нам приходилось консультировать пациентов, у которых в диагнозе было указано сразу несколько ХСН (!). Наиболее часто подобное встречается у лиц с сочетанием ишемической болезни сердца с хронической обструктивной болезнью легких IV стадии (степени), когда в комбинированном клиническом диагнозе с конкурирующими заболеваниями сначала указывают ХСН IIБ стадии как проявление тяжелой ишемической дисфункции сердца, а затем декомпенсированное хроническое легочное сердце как осложнение хронического обструктивного бронхита. Мы намеренно не будем приводить пример подобного диагноза, так как плохой урок нередко хорошо усваивается [7].

Предлагаем исходить из правила «одно сердце – одна сердечная недостаточность» и напоминаем, что в соответствии с первоначальным определением комитета экспертов Всемирной организации здравоохранения (1961) термин «легочное сердце» нельзя

использовать для обозначения ситуации, в которой легочная гипертензия связана с первичной недостаточностью левых отделов сердца или врожденными и приобретенными пороками сердца (в большинстве случаев так и есть) [7, 38]. Ниже приводится пример формулировки диагноза, в котором мы пытались избежать повторов.

Основное заболевание: ИБС: постинфарктный кардиосклероз (1999 г., 2001 г.): аневризма задней стенки ЛЖ на уровне верхушки с пристеночным тромбозом, акинезия передних сегментов миокарда ЛЖ на всем протяжении.

Фоновое заболевание: гипертоническая болезнь, III стадия, 3-й степени, риск IV;

Конкурирующее заболевание: хроническая обструктивная болезнь легких, IV стадия, группа D; тяжелое инфекционное (*H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae*) обострение I типа (по N.R. Anthonisen). Дыхательная недостаточность III степени.

Осложнение конкурирующих заболеваний: ХСН со сниженной ФВ ЛЖ (38%) и рестриктивным типом диастолической дисфункции ЛЖ, стадия IIБ, ФК IV.

Помимо того, что диагноз должен быть обоснованным, своевременным, структурированным и развернутым, в соответствии с утвержденными в установленном порядке правилами формулировки клинического и патологоанатомического диагнозов [11], в нем необходимо соблюдать нозологический принцип. ХСН, являясь без каких-либо оговорок синдромом, не может рассматриваться в качестве основного заболевания [39], даже если прямые затраты связаны главным образом с лечением сердечной недостаточности. Убеждены в том, что верный, соответствующий правилам формулировки диагноз наилучшим образом выполняет функцию обоснования лечения и практический врач не должен, подстраиваясь под девиантные требования, подменять в диагнозе основное заболевание (скажем, какую-либо форму ишемической болезни сердца) его осложнением из-за опасения столкнуться с отказом оплаты законченного случая лечения пациента в специализированном стационаре (например, в клинике сердечной недостаточности). В конце концов, не клиническая медицина с ее научной основой для системы медицинского страхования, а наоборот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В завершение хотелось сказать о недопустимости так называемых тандемных диагнозов, когда в рубрике «основное заболевание» последовательно (нередко беспорядочно) указываются две и более нозологические единицы. Наиболее часто такое наблюдается при сочетании ишемической болезни с гипер-

тонической болезнью, когда интернисты, обычно ссылаясь на примеры нерубрифицированных диагностических заключений, представленные в Российских рекомендациях по диагностике и лечению артериальной гипертензии 2010 г. (четвертый пересмотр), коронарную болезнь в диагнозе описывают между степенью артериальной гипертензии и риском сердечно-сосудистых осложнений и смерти (цитируем: «ГБ III стадии. Степень АГ 2. ИБС. Стенокардия напряжения II ФК. Риск 4 (очень высокий)»). Напомним, что в соответствии с правилами формулировки диагноза [11] в случае выявления какой-либо формы ишемической болезни сердца у пациента с гипертонической болезнью (сроки диагностики не имеют значения), последняя должна указываться в диагнозе в рубрике «Фоновые заболевания». По-другому верно кодировать заболевание невозможно, так как коды для болезней, характеризующихся повышенным кровяным давлением (I10–I15), не должны применяться в случаях с вовлечением коронарных сосудов (I20–I25).

Для того чтобы унифицированные диагностические заключения стали реальностью, призываем коллег различных специальностей быть «законопослушными» и следовать единым для всех правилам формулировки клинического и патологоанатомического диагнозов, а не создавать свои.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Что такое сердечная недостаточность? Как лучше ее диагностировать? *Журнал Сердечная недостаточность*. 2002; 3 (5): 209–210.
2. Snipelisky D., Chaudhry S.P., Stewart G.C. The many faces of heart failure. *Card. Electrophysiol. Clin.* 2019; 11 (1): 11–20. DOI: 10.1016/j.ccep.2018.11.001.
3. Международное руководство по сердечной недостаточности; ред. С.Дж. Болл, Р.В.Ф. Кемпбелл, Г.С. Френсис; пер. с англ. М.: Медиа Сфера, 1995: 89.
4. Carnes J., Gordon G. Biomarkers in heart failure with preserved ejection fraction: an update on progress and future challenges. *Heart Lung. Circ.* 2020; 29 (1): 62–68. DOI: 10.1016/j.hlc.2019.05.180.
5. Nhan P., Ederhy S., Soulat-Dufour L., Ancedy Y., Chauvet-Droit M., Adavane-Scheublé S., Ben Said R., Lajus M., Boccaro F., Cohen A. Cardiovascular imaging in heart failure. *Presse Med.* 2019; 48 (12): 1406–1415. DOI: 10.1016/j.lpm.2019.09.052 (in French).
6. Останко В.Л., Калачева Т.П., Калюжина Е.В., Лившиц И.К., Шаловой А.А., Черногорюк Г.Э., Беспалова И.Д., Юнусов Р.Ш., Лукашова Л.В., Помогаева А.П., Тепляков А.Т., Калюжин В.В. Биологические маркеры в стратификации риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (4): 264–280. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-264-28.

7. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Калюжин О.В. Сердечная недостаточность. М.: Медицинское информационное агентство, 2018: 376.
8. Remme W.J., Swedberg K. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. Task force for the diagnosis and treatment of chronic heart failure, European Society of Cardiology. *Eur. Heart J.* 2001; 22 (17): 1527–1560. DOI: 10.1053/ehj.2001.2783.
9. Хрусталева О.А. Хроническая сердечная недостаточность: достижения и перспективы. *Клиническая геронтология.* 2003; 9 (7): 35–45.
10. Gallagher J., McCormack D., Zhou S., Ryan F., Watson C., McDonald K., Ledwidge M.T. A systematic review of clinical prediction rules for the diagnosis of chronic heart failure. *ESC Heart Fail.* 2019; 6 (3): 499–508. DOI: 10.1002/ehf2.12426.
11. Зайратьянц О.В., Кактурский Л.В. Формулировка и сопоставление клинического и патологоанатомического диагнозов: Справочник. М.: Медицинское информационное агентство, 2011: 576.
12. Автандилов Г.Г., Зайратьянц О.В., Кактурский Л.В. Оформление диагноза: учеб. пособие. М.: Медицина, 2004: 304.
13. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Ревинский А.Ш., Беленков Ю.Н., Васюк Ю.А., Галевич А.С., Глезер М.Г., Даниелян М.О., Коц Я.И., Лазебник Л.Б., Лопатин Ю.М., Маколкин В.И., Мартынов А.И., Мартыненко А.В., Моисеев В.С., Ольбинская Л.И., Соколов Е.И., Сторожаков Г.И., Сидоренко Б.А., Терещенко С.Н., Фомин И.В., Шляхто Е.В., Акчурин Р.С., Аронов Д.М., Барт Б.Я., Белоусов Ю.Б., Бойцов С.А., Васюк Ю.А., Волкова Э.Г., Гендлин Г.Е., Гиляревский С.Р., Голиков А.П., Голицин С.П., Гуревич М.А., Довгалевский П.Я., Задионченко В.С., Карпов Р.С., Карпов Ю.А., Кательницкая Л.И., Кобалава Ж.Д., Люсов В.А., Насонов Е.Л., Недогода С.В., Никитин Ю.П., Оганов Р.Г., Панченко Е.П., Перепеч Н.Б., Подзолков В.И., Поздняков Ю.А., Раков А.Л., Руда М.Я., Рылова А.К., Сидоренко Б.А., Симоненко В.А., Ситникова М.Ю., Старовров И.И., Сулимов В.А., Фомина И.Г., Чазова И.Е. Национальные рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН (второй пересмотр). *Журнал Сердечная недостаточность.* 2007; 8 (1): 4–41.
14. Диагноз при сердечно-сосудистых заболеваниях. Формулировка, классификации: практическое руководство; под ред. И.Н. Денисова, С.Г. Гороховой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008: 96.
15. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). *Журнал Сердечная недостаточность.* 2013; 14 (7): 379–472.
16. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Бегамбекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А., Гендлин Г.Е., Глезер М.Г., Готье С.В., Довженко Т.В., Кобалава Ж.Д., Козилова Н.А., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г., Перепеч Н.Б., Тарловская Е.И., Чесникова А.И., Шевченко А.О., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н., Галевич А.С., Гиляревский С.Р., Драпкина О.М., Дупляков Д.В., Лопатин Ю.М., Ситникова М.Ю., Скибицкий В.В., Шляхто Е.В. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение. *Кардиология.* 2018; 58 (S6): 8–158. DOI: 10.18087/cardio.2475.
17. Зайратьянц О.В., Васильева Е.Ю., Михалева Л.М., Оленев А.С., Черкасов С.Н., Черняев А.Л., Шамалов Н.А., Шпектор А.В. Правила формулировки патологоанатомического диагноза, выбора и кодирования по МКБ-10 причин смерти класс IX. Болезни системы кровообращения. М., 2019: 112.
18. Общество специалистов по сердечной недостаточности. Российское кардиологическое общество. Клинические рекомендации. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН). Код МКБ – 150.0/150.1/150.9/2016 (пересмотр каждые 3 года). URL: <http://cr.rosminzdrav.ru/#/recomend/134> (дата обращения: 03.01.2020).
19. Стенограмма заседания президиума ВНОК по утверждению Классификации хронической сердечной недостаточности ОССН. 11 октября 2002 г., г. Санкт-Петербург, Большой зал ВМА. *Журнал Сердечная недостаточность.* 2003; 4 (2): 68–69.
20. Официальные комментарии ОССН к обсуждаемой классификации ХСН. *Журнал Сердечная недостаточность.* 2002; 3 (2): 62.
21. The Criteria Committee of the New York Heart Association. Diseases of the heart and blood vessels: nomenclature and criteria for diagnosis. 6th ed. Boston: Little Brown and Co. Publ., 1964: 114.
22. Подымова С.Д. Болезни печени: Руководство для врачей. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Медицинское информационное агентство, 2018: 984.
23. Зиц С.В. Диагностика и лечение застойной сердечной недостаточности. 2-е изд., перераб. и доп. М.: МЕДпресс, 2000: 126.
24. Мухарлямов Н.М. Хроническая недостаточность кровообращения / В кн.: Болезни сердца и сосудов: руководство для врачей: в 4 т.; ред. Е.И. Чазов. М.: Медицина, 1992: 2: 475–508.
25. Мухарлямов Н.М., Мареев В.Ю. Лечение хронической сердечной недостаточности. М.: Медицина, 1985: 208.
26. Ольбинская Л.И., Сизова Ж.М. Хроническая сердечная недостаточность. М.: Реафарм, 2001: 344.
27. Калюжин В.В., Калюжин О.В., Тепляков А.Т., Караулов А.В. Хроническая сердечная недостаточность: вопросы этиологии, эпидемиологии, патогенеза (гемодинамические, нейрогуморальные, иммунные, генетические аспекты), диагностики и лечения. М.: Медицинское информационное агентство, 2006: 288.
28. Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В. Диагностика и лечение хронической сердечной недостаточности. 3-е изд., испр. М.: Миклош, 2004: 352.
29. Полтавская М.Г. Пробы с физической нагрузкой у больных с хронической сердечной недостаточностью. *Сердце: журнал для практикующих врачей.* 2003; 2 (2): 81–83.
30. Самойлова Е.В., Фатова М.А., Миндзаев Д.Р., Житарова И.В., Насонова С.Н., Жиров И.В., Терещенко С.Н.,

- Коротчаева А.А. 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.
31. Cai S., Gong I.Y., Gale C.P., Yan A.T. Sex-specific differences in New York heart association classification and outcomes of decompensated heart failure. *Can. J. Cardiol.* 2020; 36 (1): 4–6. DOI: 10.1016/j.cjca.2019.09.022.
32. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland J.G., Coats A.J., Falk V., González-Juanatey J.R., Harjola V.P., Janikowska E.A., Jessup M., Linde C., Nihoyannopoulos P., Parissis J.T., Pieske B., Riley J.P., Rosano G.M., Ruilope L.M., Ruschitzka F., Rutten F.H., van der Meer P. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the Task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. J. Heart Fail.* 2016; 18 (8): 891–975. DOI: 10.1002/ejhf.592.
33. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Знакомьтесь: диастолическая сердечная недостаточность. *Журнал Сердечная недостаточность*. 2000; 1 (2): 40–44.
34. Тепляков А.Т., Калюжин В.В., Степачева Т.А. Диастолическая сердечная недостаточность: современные представления о патогенезе, клиника, диагностика и лечение. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001: 60.
35. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Соловцов М.А. Роль систолической и диастолической дисфункции левого желудочка в клинической манифестации хронической сердечной недостаточности у больных, перенесших инфаркт миокарда. *Терапевтический архив*. 2002; 74 (12): 15–18.
36. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Рязанцева Н.В., Вечерский Ю.Ю., Хлапов А.П., Колесников Р.Н. Диастола сердца. Физиология и клиническая патофизиология. Томск: Изд-во ТПУ, 2007: 212.
37. Obokata M., Reddy Y.N.V., Borlaug B.A. Diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction: understanding mechanisms by using noninvasive methods. *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2020; 13 (Pt 2): 245–257. DOI: 10.1016/j.jcmg.2018.12.034.
38. Marra A.-M., Benjamin N., Cittadini A., Bossone E., Grünig E. When pulmonary hypertension complicates heart failure. *Heart Failure Clinics*. 2020; 16 (1): 53–60. DOI: 10.1016/j.hfc.2019.08.004.
39. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Черногорюк Г.Э., Калюжина Е.В., Беспалова И.Д., Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Останко В.Л., Сибирева О.Ф., Часовских Н.Ю. Хроническая сердечная недостаточность: синдром или заболевание? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 134–139. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-134–139.

Сведения об авторах

Калюжин Вадим Витальевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9640-2028.

Тепляков Александр Трофимович, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-0721-0038.

Беспалова Инна Давидовна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4513-6329.

Калюжина Елена Викторовна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7978-5327.

Останко Валентина Леонидовна, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-9950-721X.

Терентьева Надежда Николаевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней СурГУ, г. Сургут. ORCID 0000-0002-0462-3526.

Лившиц Инна Климентьевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2357-6910.

Шаловой Алла Алексеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7258-4883.

Сибирева Ольга Филипповна, д-р мед. наук, профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-5651-8875.

Соловцов Михаил Анатольевич, врач, отделение ультразвуковой диагностики, ТОКБ, г. Томск.

(✉) **Калюжин Вадим Витальевич**, e-mail: kalyuzhinvv@mail.ru.

Поступила в редакцию 30.01.2019

Подписана в печать 16.06.2020

Аллергический ринит и феномен энтопии

Климов А.В.¹, Калюжин О.В.², Климов В.В.¹, Свиридова В.С.¹

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

² Первый Московский медицинский государственный университет им. И.М. Сеченова
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

РЕЗЮМЕ

Представлен обзор современных исследований, посвященных недавно открытому явлению – феномену энтопии (локальной атопии), с точки зрения его фенотипов и эндотипов. Клиническим вариантом эндотипа энтопии является локальный аллергический ринит, новая патология, – объект исследований в современной иммунологии, аллергологии и оториноларингологии. Точные механизмы срыва толерантности к аллергенам при энтопии остаются неясными. Между тем феномен энтопии может стать ключом для расшифровки нерешенных вопросов срыва аллергической толерантности в разных анатомических сайтах. Обзор посвящен патогенезу, диагностическому алгоритму и проблеме выбора терапевтических подходов при локальном аллергическом рините.

Ключевые слова: аллергены, атопия, энтопия, толерантность к аллергенам, аллергический ринит, локальный аллергический ринит, фенотипы, эндотипы, биомаркеры, Т-хелперы 2-го типа, Т-регуляторные клетки.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Климов А.В., Калюжин О.В., Климов В.В., Свиридова В.С. Аллергический ринит и феномен энтопии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 137–143. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-137-143>.

Allergic rhinitis and the phenomenon of entopy

Klimov A.V.¹, Kalyughin O.V.², Klimov V.V.¹, Sviridova V.S.¹

¹ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Sechenov Moscow State Medical University
8/2, Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

ABSTRACT

This article provides a review of the phenomenon of entopy or local atopy from the viewpoint of allergic phenotypes and endotypes. A clinical form of the entopy endotype is local allergic rhinitis, which is still a fertile area for

research. The exact mechanisms in the breakdown of allergen tolerance in entropy remain unclear. The review focuses on the pathogenesis, diagnostic algorithm, and the choice of treatment strategies in local allergic rhinitis.

Key words: allergens, atopy, entropy, allergen tolerance, allergic rhinitis, local allergic rhinitis, phenotypes, endotypes, biomarkers, type 2 helper T cells, T regulatory cells.

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

Source of financing. The authors claim that there is no funding for the study.

For citation: Klimov A.V., Kalyugin O.V., Klimov V.V., Sviridova V.S. Allergic rhinitis and the phenomenon of entropy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 137–143. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-3-137-143](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-137-143).

АТОПИЯ И ЭНТОПИЯ (ЛОКАЛЬНАЯ АТОПИЯ): ИСТОРИЯ, МЕХАНИЗМЫ, БИОМАРКЕРЫ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

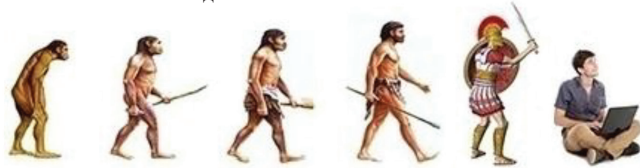
Первоначально термин «атопия» обозначал отсутствие локализации патологии и странную болезнь, о чем писали А.Ф. Соса и Р.А. Коок в 1923 г. в своей статье [1, 2]. IgE тогда еще не был открыт группой исследователей во главе с Ishizaka [3]. В 1963 г. P.G.H. Gell и R.R.A. Coombs [4] предложили обновленную классификацию известных в то время аллергологических феноменов, в которой атопию именовали как 1-й (немедленный) тип гиперчувствительности (сейчас – 2-й тип иммунного ответа с продукцией IgE). Классификация по Gell и Coombs [4] в своей основе используется и в настоящее время. Принимая во внимание актуальность разных типов аллергии в современных условиях, были предложены для обсуждения такие гипотезы, как гигиеническая и токсическая [5]. В частности, atopические аллергические реакции рассматриваются как избыточная продукция IgE в результате неадекватного иммунного ответа на антигены (аллергены) окружающей среды [6]. Любопытно, что этот ответ очень напоминает иммунный ответ на антигены гельминтов и членистоногих. Если предположить, что продукция IgE у человека и других млекопитающих обеспечивает избыточную защиту против метазойных паразитов скорее, чем вызвать аллергию, аллергены окружающей среды могут содержать компоненты, которые структурно близки к антигенам паразитов – специфических мишеней для образования IgE при инвазиях [6].

Тем не менее 1-й тип гиперчувствительности (атопия) встречается только у некоторых людей. Атопия является полигенно наследуемым расстройством, что убедительно подтверждено изучением большого числа локусов, ассоциированных с этой конституцией [7]. Однако описаны и так называемые первичные атопии на основе преимуществен-

но моногенного наследования [8]. В дополнение к этому, в настоящее время эпигенетические изменения также рассматриваются как потенциальный механизм, вовлеченный в развитие многих болезней, включая atopические [9]. Не исключено, что, поскольку атопия показывает сильную наследственную основу, она может быть следствием эволюционного рудимента (рис. 1). С эволюционной точки зрения, домашние клещи *Dermatophagoides pteronyssinus* (европейский вид) и *Dermatophagoides farinae* (американский вид), несомненно, являются «королями аллергенов», или паналлергенами [10, 11]. Весьма вероятно, что предки современных домашних клещей были кожными паразитами у древних людей каменного века [12].

В настоящее время термин «атопия» используется аллергологами и исследователями для любого гипер-IgE-опосредованного развернутого В-клеточного Th2-регулируемого ответа (иммунного ответа 2-го типа) на различные аллергены [12]. Наиболее значимыми аллергенами при atopических болезнях являются аллергены домашней пыли, домашних клещей, шерсти и чешуек животных, пыльцы растений, муки, пищевых продуктов, яда перепончатокрылых насекомых, грибов, латекса, пенициллина и др. Также описаны олигомерные компоненты молекул аллергенов, аллерген-ассоциированные молекулярные паттерны (ААМР), которые могут быть ответственны за эффективное перекрестное связывание аллергена с В-клеточным рецептором (BCR)/IgE [13]. Предположительно, дефицит ААМР приводит к поддержанию аллергенной толерантности, а их избыток – к срыву. Попадание аллергена в организм может происходить путем вдыхания, проглатывания, впрыскивания или путем прямого контакта с кожей и слизистыми. В ходе В-клеточного ответа плазматические клетки стимулируются Т-хелперами 2-го типа (Th2) и фолликулярными Т-хелперами (Tfh) к продукции антител IgE, направленных к одному или нескольким аллергенам.

Около 1 млн лет назад

Протективный IqE в 100%
человеческих популяций«Аллергенный» IqE в 7–10%
человеческих популяций
(эволюционный рудимент)

Поверхность кожи

Дом человека

Рис. 1. Атопия как эволюционный рудимент [12]

Разницей между рутинным В-клеточным ответом и гиперчувствительностью 1-го типа (атопией) является то, что при атопии преобладающим изотипом антител является иммуноглобулин (Ig) E вместо IgM, IgG, и IgA. Антитела IgE связываются с Fcε-рецептором I типа (FcεRI) на поверхности тучных клеток и циркулирующих базофилов. После попадания причинного аллергена он связывается с IgE на клетках-мишенях, что вызывает их дегрануляцию и высвобождение воспалительных медиаторов.

Классически 1-й тип гиперчувствительности может быть последовательно разделен на две фазы: раннюю и позднюю. Ранняя фаза обычно реализуется в течение 10–20 мин или даже секунд после проникновения аллергена, что связано с высвобождением предсуществующих медиаторов типа гистамина, серотонина, энзимов, хемотаксических пептидов для эозинофилов и нейтрофилов. Медиаторы воздействуют на нервные окончания и гистаминовые рецепторы I типа, вызывая зуд, спазм гладкомышечных волокон, включая находящиеся в бронхах, продукцию слизи бокаловидными клетками, повышение проницаемости капилляров с последующим отеком ткани. Как следствие, к данному очагу происходит миграция эозинофилов и нейтрофилов. Таким способом тучные клетки, располагающиеся в коже и покровном эпителии респираторного, гастроинтестинального и урогенитального трактов, вовлекаются в ответ на внешние сигналы (аллергены). Будучи

активированными, эти клетки обеспечивают клеточно-молекулярные механизмы ранней фазы atopической реакции и регулируют IgE-ответ и воспаление [14, 15]. Активированные тучные клетки с их медиаторами, включая гистамин и триптазу, признаются главными биомаркерами ранней фазы atopии.

Поздняя фаза развивается в течение последующих 6–12 ч за счет новообразованных медиаторов: тромбоксана, лейкотриенов C4 и B4, простагландина D2, фактора активации тромбоцитов, цитокинов и хемокинов, которые действуют в очаге воспаления, усиливая его интенсивность. Эндотелиальные клетки экспрессируют адгезивные молекулы, облегчающие привлечение и активацию нейтрофилов, эозинофилов и врожденных лимфоидных клеток 2-й группы (ILC2), поступающих из крови и других биологических жидкостей в очаг аллергического воспаления. Преобладающими в типичном составе общающихся инфильтратов являются эозинофилы. Активированные эозинофилы высвобождают большое число воспалительных молекул: эозинофильный катионный белок, главные основные протеины, интерлейкин (IL) 5 и др. [14, 16]. Вовлеченные в процесс Th2 и ILC2 секретируют IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-33 и другие цитокины, которые влияют на плазматические клетки, переключая синтез антител на иммуноглобулины изотипа IgE. Воспаление становится хроническим. Следовательно, эти цитокины, а также медиаторы эозинофилов и молекулы на их мембранах являются главными биомаркерами поздней фазы atopии.

Первый тип гиперчувствительности (2-й тип иммунного ответа) ответствен за развитие atopического дерматита, круглогодичного и сезонного аллергического ринита, аллергической астмы, пищевой и инсектной аллергии, анафилактического шока и других состояний. У предрасположенных людей возможен так называемый atopический марш, который представляет собой последовательную смену органов-мишеней в таком порядке: кожа, нос/конъюнктивы, бронхи. У некоторых пациентов наблюдается одновременное развитие всех atopий [12, 17]. Кожные аллергические тесты и определение специфических антител IgE в крови (компонентное исследование) являются исключительными методами для диагностики atopических патологий.

В последнее десятилетие был идентифицирован новый аллергический феномен – энтопия [18]. Термин происходит от испанского словосочетания *en tóro* – «в месте». Примечательно, что энтопия звучит как ENT (Ear, Nose and Throat) – обозначение специальности «оториноларингология» на английском языке. Первоначально энтопию не относили к разновидности atopии. В настоящее время этот

феномен рассматривается как один из эндотипов атопического расстройства, который может развиваться в локальный аллергический ринит [19, 20], локальный аллергический конъюнктивит [21] и локальную аллергическую астму [22]. Среди всех энтопий наибольшее число исследований проведено в отношении локального аллергического ринита [19, 20, 23–26]. Пациенты с тяжелой астмой с нормальным содержанием сывороточного IgE могут демонстрировать высокую эффективность лечения омализумабом, что ставит на повестку дня роль концепции энтопии в патогенезе тяжелой астмы [27].

В настоящее время точные механизмы развития энтопии остаются неясными, и данный феномен представляется плодотворным полем для исследований. Мы предлагаем в порядке исследования и последующей дискуссии проанализировать связь энтопии с особой формой срыва аллергенной толерантности. Известно, что аллергенная толерантность может рассматриваться как активный процесс – непатологический антипод иммунному ответу. Развитие такой толерантности контролируется иммунорегуляторной сетью цитокинов IL-10, IL-35, трансформирующим ростовым фактором β , Т-регуляторными клетками (Treg) и др. Аллергенная толерантность также наблюдается при высокой концентрации аллергенов в окружающей среде при модифицированной активности Th2 [28]. Существует историческая классификация толерантности с подразделением ее на центральные и периферические механизмы [12]. Однако предлагаемая нами дифференциация аллергенной толерантности на системную (в крови) и локальную (в тканях) – это совсем другой подход. Для понимания механизмов индукции и срыва толерантности целесообразно рассматривать и системную, и локальную (энтопическую) формы атопических патологий (таблица). Специфические анатомические сайты, например полость рта и респираторный тракт, могут иметь особые условия, благоприятствующие становлению толерантности [28]. Этот вопрос открыт для исследований и дискуссий, особенно в связи с обнаружением феномена энтопии и существованием подъязычного метода аллерген-специфической иммунотерапии.

Таблица

Формы срыва толерантности к аллергенам	
Системные формы	Локальные формы (энтопия)
Кожная Гастроинтестинальная Урогенитальная? Комбинированная (может включать конъюнктивальную, назальную и бронхальную формы в составе системных форм)	Конъюнктивальная Назальная Бронхиальная

АЛЛЕРГИЧЕСКИЙ РИНИТ: ФЕНОТИПЫ, ЭНДОТИПЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Аллергический ринит является глобальной проблемой здравоохранения [29, 30]. Аллергический ринит (риноконъюнктивит) проявляется у предрасположенных пациентов двумя фенотипами: круглогодичным и (или) сезонным [25, 31]. В настоящее время оба фенотипа, особенно круглогодичный, являются источником заболеваемости астмой, влияют на качество жизни, продуктивность, сон, устойчивость к нагрузкам, нарушают социальные функции людей, а также создают существенную финансовую нагрузку на системы здравоохранения во всем мире [29, 31].

При аллергическом рините больные жалуются на хроническую заложенность носа, зуд, насморк, пароксизмы чихания, иногда потерю восприятия запахов, храп, гиперемию и отечность конъюнктив [29, 32]. Клинически фенотипы неаллергического ринита почти не отличаются от фенотипов аллергического [33]. Круглогодичный аллергический ринит обычно начинается в возрасте 3–5 лет. Он проявляется указанными симптомами в течение всего года и иногда всей жизни, становясь персистирующим и осложняясь назальными полипами, синуситами, переходя в астму. В некоторых случаях течение ринита мягкое, почти незаметное. Аллергены клещей *Dermatophagoides*, кошек, других домашних питомцев, перьев, тараканов и плесени являются главными протеинами, ответственными за сенсибилизацию с образованием IgE у лиц с круглогодичным аллергическим ринитом [12, 34]. При сезонном рините или поллинозе, патология может начинаться в любом возрасте, в любом географическом регионе планеты, но в определенные периоды поллинииции деревьев, кустарников и трав. Сенсибилизация вызывается аллергенами березы, орехов, дуба, овсяницы, райграса, тимopheевки, полыни, амброзии и широкого ряда растений [12, 35, 36].

Первоначальный диагноз аллергического ринита более вероятен, если он сезонный, либо имеются указания на атопическую наследственность в анамнезе [37]. Как правило, обследование больного включает сбор семейного, социального, профессионального анамнеза, анамнеза перенесенных заболеваний, кожные аллергические пробы, определение сывороточных и секреторных антител изотипа IgE, назальный цитологический анализ, видеориноскопию, акустическую ринометрию, функциональное исследование органов дыхания и др. [37, 38].

Кластерный анализ взрослых пациентов с аллергическим ринитом позволил идентифицировать четыре группы [39]: 1) среднетяжелый ринит, на-

чавшийся в детстве, 2) легкий с дебютом у девушек-подростков, 3) тяжелый с ранним началом и присоединением астмы и 4) среднетяжелый у мужчин, начавшийся в детстве с присоединением астмы. Во всех кластерах преобладал сезонный аллергический ринит. Таким образом, дифференциальными критериями в этом кластерном исследовании оказались пол, присутствие астмы, степень тяжести и возраст начала болезни. Несколько других клинических фенотипов и эндотипов были в последующем исследованы в разных работах [40], однако именно эндотипирование и определение подтверждающих диагноз аллергического ринита биомаркеров показали более существенное значение для ведения пациентов и персонализированной терапии [41, 42].

Термин «локальный аллергический ринит» (ЛАР) был впервые предложен С. Rondón и соавт. [19]. Одна группа исследователей [43] предположила, что ЛАР не вписывается в номенклатуру классического аллергического (атопического) ринита по сравнению с неаллергическим, и, по-видимому, является новым, отдельным фенотипом ринита. Однако другая группа ученых [20, 44, 45] обосновала ЛАР как эндотип аллергического ринита, поскольку при данной патологии присутствуют главные атопические биомаркеры, но не на системном уровне, а на уровне слизистой носа. Более того, недавно полученные факты свидетельствуют о том, что кроме ЛАР существуют и другие формы энтопии в аспекте концепции единых дыхательных путей: локальная аллергическая астма [22] и локальный аллергический конъюнктивит [21].

Пациенты с ЛАР имеют те же характерные клинические симптомы, которые присущи классическому аллергическому риниту: хроническая заложенность носа, чихание, зуд, насморк и др., т.е. обе группы больных разделяют похожий клинический фенотип. ЛАР вызывается сенсibilизацией к аллергенам домашних клещей *Dermatophagoides*, встречается преимущественно у некурящих, иногда протекает как тяжелая персистирующая форма болезни, с симптомами астмы и конъюнктивита, одинаково часто развивается у детей и взрослых [44]. Идентификация ЛАР проводится 1) по обнаружению специфических IgE к аллергенам домашнего клеща и других аэроаллергенов в носовом секрете и 2) при положительном ответе на назальный провокационный тест с теми же аллергенами, причем кожные аллергические прик-тесты, внутрикожные тесты могут быть отрицательными, а содержание сывороточных антител IgE низким [25, 46, 47]. С. Incorvaia и соавт. [20] рекомендуют двойной провокационный тест для более точной диагностики ЛАР (рис. 2).

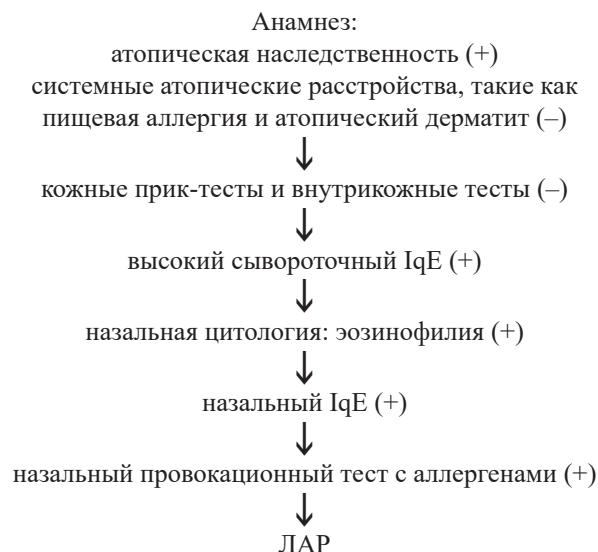


Рис. 2. Диагностический алгоритм при локальном аллергическом рините [45, 47]

К сожалению, из-за высокой стоимости и сложности менеджмента проведение назальных провокационных тестов и определение специфических антител IgE (компонентное исследование) в носовых секретах все еще не рекомендуются в ежедневной клинической практике. Как следствие, в большинстве клиник пациенты с ЛАР, включая пожилых лиц [48], все еще попадают в группы больных с неаллергическим ринитом [49].

В результате ретроспективного 7-летнего исследования J. Sennekamp и соавт. [46] показали возможность конверсии ЛАР в системные респираторные аллергические расстройства почти у половины обследованных. Конверсия наблюдалась чаще у детей и подростков, чем у взрослых. В противоположность этим данным 10-летнее ретроспективное исследование 176 пациентов с ЛАР продемонстрировало низкий показатель перехода энтопии в системную атопию, включая эволюцию в аллергическую астму [50].

Лечение больных ЛАР в общих принципах соответствует терапии классического аллергического ринита. Рекомендуются режим гипоаллергенного быта, спреи с топическими кортикостероидами, антигистаминные средства, антагонисты рецепторов лейкотриенов, интраназальные кромоны, моноклональные антитела против IgE – группа биологиков (омализумаб) и аллерген-специфическая иммунотерапия [45, 51, 52]. Однако существует проблема выбора метода аллерген-специфической иммунотерапии (подкожный или сублингвальный), решение которой пока остается открытым для дискуссии [52].

В соответствии с концепцией единых дыхательных путей [52, 53] верхний и нижний этажи

респираторного тракта связаны анатомически, функционально и иммунологически, что существенно для формирования общего воспалительного процесса. Срыв системной аллергенной толерантности часто влечет развитие в респираторном тракте всех вариантов атопии и ее осложнений (аллергический ринит, риносинусит, полипы, астма) в сочетании с атопиями в нереспираторных органах-мишенях. В настоящее время остается неясным, как соотнести концепцию единых дыхательных путей и феномен энтопии, его клинические проявления, возможные осложнения, динамику развития, оптимальный выбор терапевтических подходов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Coca A.F., Cooke R.A. On the classification of the phenomenon of hypersensitiveness. *J. Immunol.* 1923; 8: 163–182.
2. Bellanti J.A., Setticone R.A. The atopic disorders and atopy. “strange diseases” now better defined! *Allergy Asthma Proc.* 2017; 38 (4): 241–242. DOI: 10.2500/aap.2017.38.4074.
3. Ishizaka K., Ishizaka T., Hornbrook M.M. Physico-chemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J. Immunol.* 1966; 97 (1): 75–85.
4. Gell P.G.H., Coombs R.R.A. eds. Clinical aspects of immunology. London: Blackwell, 1963.
5. Gross M. Why did evolution give us allergies? *Current Biology.* 2015; 25 (2): 53–55. DOI: 10.1016/j.cub.2015.01.002.
6. Tyagi N., Farnell E.J., Fitzsimmons C.M. et al. Comparisons of allergenic and metazoan parasite proteins: Allergy the price of immunity. *PLOS Computational Biology.* 2015; 11: e1004546. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004546.
7. Tamari M., Tanaka S., Hirota T. Genome-wide association studies of allergic diseases. *Allergol. Int.* 2013; 62 (1): 21–28. DOI: 10.2332/allergolint.13-RAI-0539.
8. Lyons J.J., Milner J.D. Primary atopic disorders. *J. Exp. Med.* 2018; 215 (4): 1009–1022. DOI: 10.1084/jem.20172306.
9. Tezza G., Mazzei F., Boner A. Epigenetics of allergy. *Early Hum. Dev.* 2013; 89 (1): S20–S21. DOI: 10.1016/S0378-3782(13)70007-0.
10. Thomas W.R. Hierarchy and molecular properties of house dust mite allergens. *Allergology International.* 2015; 64: 304–311. DOI: 10.1016/j.alit.2015.05.004.
11. Calderon M.A., Linnberg A., Kleine-Tebbe J. et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 136 (1): 38–48. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.10.012.
12. Klimov V.V. From basic to clinical immunology. Springer Nature Switzerland AG, 2019: 377. DOI: 10.1007/978-3-030-03323-1.
13. Pali-Scholl I., Jensen-Jarolim E. The concept of allergen-associated molecular patterns (AAMP). *Current Opinion in Immunology.* 2016; 42: 113–118. DOI: 10.1016/j.coi.2016.08.004.
14. Metcalfe D.D., Pawankar R., Ackerman S.J. et al. Biomarkers of the involvement of mast cells, basophils and eosinophils in asthma and allergic diseases. *World Allergy Organization J.* 2016; 9 (7): 1–15. DOI: 10.1186/s40413-016-0094-3.
15. Krystal-Whitemore M., Dileepan K.N., Wood J.G. Mast cell: a multi-functional master cell. *Frontiers in Immunology.* 2016; 6 (620): 1–12. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00620.
16. Jacobsen E.A., Helmers R.A., Lee J.J., Lee N.A. The expanding role(s) of eosinophils in health and disease. *Blood.* 2012; 120 (19): 3882–3890. DOI: 10.1182/blood-2012-06-330845.
17. Bantz S.K., Zhu Z., Zheng T. The Atopic march: Progression from atopic dermatitis to allergic rhinitis and asthma. *J. Clin. Cell Immunol.* 2014; 5 (4): 1–16. DOI: 10.4172/2155-9899.1000202.
18. Powe D.G., Bonnin A.J., Jones N.S. “Entopy”: Local allergy paradigm. *Clin. Exp. Allergy.* 2010; 40 (7): 987–997. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2010.03536.x.
19. Rondón C., Canto G., Blanca M. Local allergic rhinitis: A new entity, characterization and further studies. *Curr. Opinion in Allergy and Clin. Immun.* 2010; 10 (1): 1–7. DOI: 10.1097/ACI.0b013e328334f5fb.
20. Incorvaia C., Fuiano N., Martignago I. et al. Local allergic rhinitis: Evolution of concepts. *Clin. Transl. Allergy.* 2017; 7 (38): 1–4. DOI: 10.1186/s13601-017-0174-7.
21. Yamana Y., Fukuda K., Ko R., Uchio E. Local allergic conjunctivitis: A phenotype of allergic conjunctivitis. *Int. Ophthalmol.* 2019; 39: 2539–2544. DOI: 10.1007/s10792-019-01101-z.
22. Campo P., Eguiluz-Gracia I., Plaza-Serón M.C. et al. Bronchial asthma triggered by house dust mites in patients with local allergic rhinitis. *Allergy.* 2019; 74 (8): 1502–1510. DOI: 10.1111/all.13775.
23. Rondón C., Campo P., Togias A. et al. Local allergic rhinitis: Concept, pathophysiology, and management. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 129: 1460–1467. DOI: 10.1111/all.12002.
24. Altintoprak N., Kar M., Muluk N.B. et al. Update on local allergic rhinitis. *Inter. J. Ped. Otorhinolaryngology.* 2016; 87: 105–109. DOI: 10.1016/j.ijporl.2016.06.008.
25. Jung C.-G., Lee J.-H., Ban G.-Y. et al. Prevalence and clinical characteristics of local allergic rhinitis to house dust mites. *Yonsei Med. J.* 2017; 58 (5): 1047–1050. DOI: 10.3349/ymj.2017.58.5.1047.
26. Gomez E., Campo P., Rondón C. et al. Role of the basophil activation test in the diagnosis of local allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (4): 975–976. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.07.016.
27. Kılıç E., Kutlu A., Hastalıkları G. et al. Does local allergy (entopy) exists in asthma? *J. of Clinical and Analytical Medicine.* 2016. Letters to Editors from 01.02.2016. DOI: 10.4328/JCAM.3272.
28. Wisniewski J., Agrawal R., Woodfolk J.A. Mechanisms of tolerance induction in allergic disease: Integrating current and emerging concepts. *Clin. Exp. Allergy.* 2013; 43 (2): 164–176. DOI: 10.1111/cea.12016.
29. Passali D., Cingi C., Staffa P. et al. The international study of the allergic rhinitis survey: Outcomes from 4 geographical regions. *Asia Pac. Allergy.* 2018; 8 (1): e7. DOI: 10.5415/apallergy.2018.8.e7.
30. Romano M.R., James S., Farrington E. et al. The impact of perennial allergic rhinitis with/without allergic asthma on sleep, work and activity level. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2019; 15: 81. DOI: 10.1186/s13223-019-0391-9.

31. Okubo K., Kurono Y., Ichimura K. et al. Japanese guidelines for allergic rhinitis 2017. *Allergology International*. 2017; 66 (2): 205–219. DOI: 10.1016/j.alit.2016.11.001.
32. Watts A.M., Cripps A.W., West N.P., Cox A.J. Modulation of allergic inflammation in the nasal mucosa of allergic rhinitis sufferers with topical pharmaceutical agents *Front. Pharmacol.* 2019; 10: 294. DOI: 10.3389/fphar.2019.00294.
33. Nozad C.H., Michael L.M., Lew D.B. et al. Non-allergic rhinitis: a case report and review. *Clin. Mol. Allergy*. 2010; 8 (1): 1–9. DOI: 10.1186/1476-7961-8-1.
34. Eifan A.O., Durham S.R. Pathogenesis of rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy*. 2016; 46 (9): 1139–1151. DOI: spiral.imperial.ac.uk:8443/handle/10044/1/37061.
35. Caimmi D., Baiz N., Sanyal S. et al. Discriminating severe seasonal allergic Rhinitis. Results from a large nation-wide database *PLoS ONE*. 2018; 13 (11): e0207290. DOI: 10.1371/journal.pone.020729.
36. Leung A.K., Hon K.L. Seasonal allergic rhinitis. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug. Discov.* 2013; 7 (3): 187–201. DOI: 10.2174/1872213x113079990022.
37. Scadding G.K., Kariyawasam H.H., Scadding G. et al. BSACI guideline for the diagnosis and management of allergic and non-allergic rhinitis (Revised Edition 2017; First edition 2007). *Clin. Exp. Allergy*. 2017; 47: 856–889. DOI: 10.1111/cea.12953.
38. Galimberti M., Passalacqua G., Incorvaia C. et al. Catching allergy by a simple questionnaire. *WAO J.* 2015; (8): 1–7. DOI: 10.1186/s40413-015-0067-y.
39. Giavina-Bianchi P. Defining phenotypes in rhinitis: A step toward personalized medicine. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135: 151–152. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.10.029.
40. Papadopoulos N.G., Bernstein J.A., Demoly P. et al. Phenotypes and endotypes of rhinitis and their impact on management: a PRACTALL report. *Allergy*. 2015; 70: 474–494. DOI: 10.1111/all.12573.
41. De Greve G., Hellings P.W., Fokkens W.J. et al. Endotype-driven treatment in chronic upper airway diseases. *Clinical and Translational Allergy*. 2017; 7 (22): 1–14. DOI: 10.1186/s13601-017-0157-8.
42. Klimov A.V., Isaev P.Yu., Klimov V.V., Sviridova V.S. Endotypes of allergic rhinitis and asthma accompanying food allergy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (2): 287–289. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-287–289.
43. Forester J.P., Calabria C.W. Local production of IgE in the respiratory mucosa and the concept of entropy: Does allergy exist in nonallergic rhinitis? *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2010; 105 (4): 249–255. DOI: 10.1016/j.anai.2010.02.001.
44. De Mello J.F. Local allergic rhinitis. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2016; 82 (6): 621–622. DOI: 10.1016/j.bjorl.2016.09.001.
45. Eguiluz-Gracia I., Perez-Sanchez N., Bogas G. et al. How to diagnose and treat local allergic rhinitis: A challenge for clinicians. *J. Clin. Med.* 2019; 8 (7): 1062–1074. DOI: 10.3390/jcm8071062.
46. Sennkamp J., Joest I., Filipiak-Pittroff B. et al. Local allergic nasal reactions convert to classic systemic allergic reactions: A long-term follow-up. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2015; 166: 154–160. DOI: 10.1159/000380852.
47. Krzych-Fałta E., Namysłowski A., Samoliński B. Dilemmas associated with local allergic rhinitis. *Adv. Dermatol. Allergol.* 2018; 35 (3): 243–245. DOI: 10.5114/ada.2018.76215.
48. Bozek A., Ignasiak B., Kasperska-Zajac A. et al. Local allergic rhinitis in elderly patients. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2015; 114 (3): 199–202. DOI: 10.1016/j.anai.2014.12.013.
49. Hellings P.W., Klimek L., Cingi C. et al. Non-allergic rhinitis: Position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2017; 72: 1657–1665. DOI: 10.1111/all.13200.
50. Rondón C., Campo P., Eguiluz-Gracia I. et al. Local allergic rhinitis is an independent rhinitis phenotype: The results of a 10-year follow-up study. *Allergy*. 2018; 73 (2): 470–478. DOI: 10.1111/all.13272.
51. Hoyte F.C.L., Nelson H.S. Recent advances in allergic rhinitis. *F1000 Research*. 2018; 7: 1333. DOI: 10.12688/f1000research.15367.1.
52. Wise S.K., Lin S.Y., Toskala E. et al. International consensus statement on allergy and rhinology: Allergic rhinitis. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2018; 8 (2): 108–352. DOI: 10.1002/alr.22073.
53. Genuneit J., Seibold A.M., Apfelbacher C.J. et al. Overview of systematic reviews in allergy epidemiology. *Allergy*. 2017; 72: 849–856. DOI: 10.1111/all.13123.

Сведения об авторах

Климов Андрей Владимирович, канд. мед. наук, ассистент, кафедра оториноларингологии, СибГМУ, г. Томск.

Калюжин Олег Витальевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Первый Московский медицинский государственный университет им. И.М. Сеченова, г. Москва.

Климов Владимир Васильевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск.

Свиридова Валентина Сергеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) **Климов Андрей Владимирович**, e-mail: klimov.lor@mail.ru.

Поступила в редакцию 16.03.2020

Подписана в печать 16.06.2020

Разнообразие субпопуляций регуляторных Т-клеток

Куприянов С.В., Синицкий А.И., Долгушин И.И.

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

РЕЗЮМЕ

Регуляторные Т-лимфоциты являются центральными клетками системы иммунологической толерантности. В настоящее время описано существование множества различных субпопуляций регуляторных Т-клеток (Treg), однако большое количество вопросов, касающихся функционального назначения, путей дифференцировки и гомеостаза этих субпопуляций в организме, остаются неизученными. Продemonстрированные ранее пары хелперов и соответствующих им регуляторных Т-лимфоцитов требуют дальнейшего изучения их взаимодействий друг с другом. Актуальной темой является идентификация и установление функций клеток регуляторной памяти. Тканевая миграция активированных регуляторных Т-лимфоцитов также является перспективным направлением. В этом обзоре собраны и систематизированы данные о различных субпопуляциях регуляторных Т-лимфоцитов, выделены актуальные вопросы данной тематики, требующие дальнейшего изучения, а также затронуты пути развития области в клинической медицине.

Ключевые слова: регуляторные Т-лимфоциты, иммунологическая толерантность, Treg памяти, эффекторные Treg, тканеспецифичные Treg.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Куприянов С.В., Синицкий А.И., Долгушин И.И. Разнообразие субпопуляций регуляторных Т-клеток. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 144–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-144-155>.

Multiple subsets of regulatory T-cells

Kupriyanov S.V., Sinitsky A.I., Dolgushin I.I.

South-Ural State Medical University
64, Vorovskogo Str., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation

ABSTRACT

Regulatory T-lymphocytes play a central role in the immunological tolerance system. To date, existence of many different subpopulations of regulatory T-cells have been described. However, a number of questions related to the function, differentiation, and homeostasis of these subpopulations in a body remain unclear. Interactions between the previously discovered pairs of helper and regulatory T-lymphocytes require further study. The main topic is identification and establishment of the functions of regulatory memory cells. Interstitial migration of activated regulatory T-lymphocytes is also a promising direction. In this review, we summarized the main findings in

multiple subsets of regulatory T-lymphocytes, discussed unclear data that will require further studies, and showed an application for regulatory T-lymphocytes in medicine.

Key words: regulatory T-lymphocytes, immunological tolerance, memory Treg, effector Treg, central Treg, tissue-specific Treg.

Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Source of financing. The authors claim that there is no funding.

For citation: Kupriyanov S.V., Sinitsky A.I., Dolgushin I.I. Multiple subsets of regulatory T-cells. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 144–155. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-144-155>.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система является сложной и многообразной структурой, нацеленной на поддержание гомеостаза. Наряду с элиминацией инфекционных агентов и опухолевых клеток, одним из важных аспектов деятельности иммунной системы является иммунорегуляция. Система иммунологической толерантности, обеспечивающая защиту собственных тканей организма от целенаправленной атаки со стороны иммунных клеток, включает в себя множество различных клеток – от антигенпредставляющих толерогенных клеток [1] до регуляторных Т- и В-клеток [2].

Ранее полагалось, что популяция регуляторных Т-клеток (Treg) однородна, однако со временем стало накапливаться все больше данных, противоречащих этому. В настоящее время можно говорить о существовании различных субпопуляций Treg [3]. Однако, несмотря на многочисленные исследования, данная область иммунологии остается недостаточно разработанной. Мало известно о дифференцировке Treg, формировании различных субпопуляций этих клеток и их взаимодействии с другими клетками. Более того, несмотря на то, что основные механизмы реализации толерогенного действия были описаны (контактное подавление за счет супрессивных молекул CTLA-4 [4], PD-1 [5], секреция противовоспалительных цитокинов TGFβ [2], IL-10 и IL-35 [6]; секвестрация факторов роста IL-2, необходимых для активации эффекторных клеток [7], метаболическая активность, например расщепление АТФ до аденозина с ограничением провоспалительного действия иммунных клеток [8]), неизвестно, как и при каких ситуациях эти механизмы реализуются *in vivo*.

Нерешенные вопросы данной области нуждаются в изучении, так как их практическое применение может внести большой вклад в решение множества клинических проблем. В настоящий момент терапия

аутоиммунной патологии является несовершенной и в ряде случаев не способна привести к компенсации больных, а также сопряжена с серьезными побочными эффектами: инфекционными осложнениями, риском развития злокачественных новообразований [9]. Установление роли отдельных субпопуляций Treg в контроле над аутоиммунными процессами может дать важную информацию о новых мишенях для терапевтического вмешательства и создания новых эффективных и безопасных средств терапии аутоиммунных заболеваний.

МНОГООБРАЗИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ Treg

Клетки Treg можно классифицировать как наивные и активированные, которые прошли распознавание антигена и пролиферацию в периферических лимфоидных органах. Наивные Treg можно обозначить как клетки тимусного происхождения (tTreg) [10], которые не прошли активацию Т-клеточного рецептора (TCR). Их можно распознать по экспрессируемой изоформе CD45RA, в то время как клетки, прошедшие активацию, имеют изоформу CD45R0 [11]. Клетки Treg, дифференцировавшиеся из Th0 (наивные Т-лимфоциты, но не клетки Treg), обозначаются в литературе как периферические (pTreg), так как они дифференцируются в периферических лимфоидных органах после активации TCR; эти клетки принадлежат к активированным Treg [10].

Было предложено разделение групп tTreg и pTreg на основании экспрессии транскрипционного фактора Helios [12], который активируется клетками Treg тимусного происхождения. Показано, что уровень Helios в tTreg возрастал при активации, что позволяет выделять в группе регуляторных Т-клеток тимусного происхождения как наивные (CD45RA+), так и активированные клетки (CD45R0+) [12]. Наивные тимические клетки экспрессируют CCR7 и CD62L, что позволяет им мигрировать в лимфатические узлы, в

связи с чем эта популяция обозначалась в литературе как центральные Treg (сTreg) [3]. Эти клетки содержат большое количество CD25 (альфа-цепи высокоаффинного рецептора IL-2), что позволяет им лишать окружающие Т-клетки IL-2, ограничивая их пролиферацию [3]. Активированные клетки (CD45R0+) обладают иными функциональными особенностями, такими как экспрессия супрессивных молекул IL-10, CTLA-4, ICOS, TGIT, CD39 [13–15] и хемокиновых рецепторов, позволяющих им мигрировать в различные ткани [3]. Также в настоящее время в отдельную группу выделяют индуцированные *in vitro* Treg (iTreg) [10], которые получают путем культивации Т-лимфоцитов вне организма; эти клетки могут существенно отличаться от клеток Treg *in vivo*. Среди активированных Treg были найдены отличия между активированными клетками Treg, образовавшимися из tTreg, и клетками pTreg. Отмечено, что активированные Helios+ Treg (tTreg) и Helios- Treg (pTreg) могут отличаться по профилю цитокинов [16] (подробнее описано ниже, в разделе «Пары Th-Treg»).

По тропности можно разделить клетки Treg на тропные к лимфоидным образованиям (периферическим лимфатическим узлам) и тропные к нелимфоидным тканям [3]. В настоящее время есть данные, позволяющие выделять резидентные тканеспецифичные Treg (раздел «Тканеспецифичные Treg»). Эти клетки тропны к микроокружению определенных тканей, однако они не являются циркулирующими (мигрирующими) или рециркулирующими клетками, в связи с чем можно было бы дополнительно разделить популяцию Treg на циркулирующие (рециркулирующие) и резидентные.

Однако в настоящий момент сложно с точностью сказать, какие клетки подвергаются рециркуляции, т.е. выходу из одной ткани и перемещению через кровеносное русло в другую ткань. Также нельзя с точностью говорить о том, что резидентные клетки не могут при каких-либо обстоятельствах покинуть ткани и рециркулировать. Клетки Treg, исследуемые в периферической крови (т.е. циркулирующие популяции), также нельзя с точностью определить как мигрирующие в одном направлении либо же рециркулирующие из одной ткани в другую.

Вероятно, эти процессы достаточно динамичны, и в зависимости от контекста клетки с одинаковым происхождением и функциональным статусом могут стать как тканерезидентными, так и рециркулирующими популяциями. Тем не менее изучение этой области может дать многое для понимания функционирования толерогенной системы в целом, так как циркулирующие и резидентные клетки обладают разными свойствами (подробнее описано

в последующих разделах). Тропность клеток может устанавливаться по наличию соответствующих специфичных для тканей хемокиновых рецепторов. К центральным (тропным к лимфоидным образованиям) популяциям относят наивные тимические клетки Treg, однако в последнее время появились данные, позволяющие расширить эту группу. Согласно исследованию X. Wei и соавт. [6], у мышей существует две субпопуляции активированных клеток Treg: IL-10+Bcl-6+Treg и IL-35+Ebi-35+Treg. IL-35+Treg демонстрируют тропность ко вторичным лимфоидным органам (локализуются в периферических лимфатических узлах/белой пульпе селезенки и экспрессируют CCR7 и CD62L), что позволяет называть эту субпопуляцию центральной. Согласно предположениям авторов, данная субпопуляция дифференцируется из тимических Treg [6], которые после активации остаются тропными к лимфоидным органам. Стоит отметить также схожесть функций тимических наивных клеток Treg и IL-35+Treg. Располагаясь в лимфатических узлах, эти две субпопуляции способны подавлять инициацию иммунного ответа. IL-35 способствует дифференцировке клеток pTreg из наивных Т-лимфоцитов [17]. Более того, упоминалось, что дифференцировавшиеся клетки сами способны синтезировать IL-35 [17]. Это позволяет предположить, что поддержание постоянства IL-35+Treg может происходить в том числе и за счет превращения наивных клеток в IL-35 продуцирующие.

Группу активированных Treg в литературе обозначают как эффекторные Treg [3]. Эти клетки представляют собой подмножество CD45R0+CD45RA-FoxP3^{high} и являются тропными к нелимфоидным тканям. IL-35+ Treg клетки являются исключением из этого условия. Кроме того, в настоящее время имеются убедительные доказательства существования Treg памяти (раздел «Treg памяти»), которые также относятся к активированным клеткам. Активированные нерегуляторные Т-лимфоциты в настоящее время делятся на различные группы, в которые входят Т-клетки центральной памяти, Т-клетки эффекторной памяти и терминально дифференцированные Т-клетки памяти (TEMRA) [18].

Основываясь на этих данных, рационально разграничить группу эффекторных Treg клеток и клеток Treg памяти на основании ряда особенностей (подробно в разделе «Treg памяти»). Помимо этого, можно разделить активированные клетки на тканеспецифичные и по их специфичности к субпопуляциям хелперных Т-лимфоцитов. Таким образом, описывая активированные клетки Treg, можно выделить тканеспецифичные, хелпероспецифичные Treg и обозначить эффекторные клетки Treg и Treg памяти.

ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫЕ Treg

Группа тканевых Treg представляет собой подмножество регуляторных клеток, которые подавляют локальное тканевое воспаление и обеспечивают гомеостаз в периферических тканях. Функции данных клеток отличаются в зависимости от типа ткани. Так, клетки Treg мышечной ткани влияют на репарацию мышечных волокон, накапливаясь в ткани при повреждении [19]. В жировой ткани Treg обеспечивают подавление местного воспаления, которое проявляется нарушением толерантности к глюкозе [20]. Кишечные клетки Treg регулируют толерантность к антигенам пищи и комменсальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта [21]. Таким образом, разные группы тканевых Treg выполняют различные функции по поддержанию гомеостаза в ткани, а не только осуществляют надзор за деятельностью других иммунных клеток.

Стоит отметить, что в некоторых тканях, таких как мышцы или ЦНС, присутствие резидентных Treg ограничено, и только при повреждении происходит их накопление [3]. Однако для таких тканей значительную роль могут играть клетки Treg в регионарных лимфоузлах, которые быстро делятся и мигрируют в эти ткани при повреждении. Можно предполагать существование таких резидентных клеток Treg для лимфатических узлов тканей, в которых присутствие Treg ограничено. Показано, что часть Т-клеток памяти присутствует в периферических лимфатических узлах [22].

ПАРЫ TH-Treg (ХЕЛПЕРОСПЕЦИФИЧНЫЕ Treg)

Существуют подгруппы Treg, специфичные к определенным группам хелперных Т-лимфоцитов [16]. Данные клетки специализируются на подавлении определенной популяции клеток Th. Было установлено существование Treg, специфичных для Th1, Th2, Th17 [16] и Tfh [23]. Хелпероспецифичные Treg характеризуются определенным набором хемокинов и транскрипционных факторов. Например, клетки Treg, которые подавляют Th1, экспрессируют фактор транскрипции T-bet (который также экспрессируется в Th1), и зависят от цитокинов, ассоциированных с Th1: интерфероном гамма (IFN γ) и IL-27 [3, 16]. Для развития специфичных к Th2 лимфоцитам клеток Treg необходима экспрессия фактора транскрипции Th2-клеток GATA3 [24]. Между тем для подавления ответов герминативного центра лимфатического узла, которые обеспечиваются Tfh, необходимы клетки Treg, называемые Т-фолликулярными регуляторами (Tfr) [23].

Данная клеточная популяция экспрессирует Blimp-1 в отличие от клеток Tfh, развитие которых ингибируется Blimp-1 [25]. Необходимо дальнейшее исследование хелпероспецифичных субпопуляций Treg и их транскрипционной программы. Следует также отметить, что данные клетки обладают схожими с хелперами функциональными чертами, продуцируя вместе с супрессивными цитокинами провоспалительные цитокины, соответствующие их эффекторным аналогам (IL-17 для Th17, IL-4 для Th2, IFN γ для Th1) [16]. Данное обстоятельство может способствовать нарушению толерогенных механизмов хелпероспецифичных регуляторных Т-клеток за счет провоспалительных эффектов этих цитокинов. Показан переход клеток Treg в Th17 под влиянием различных стимулов [26], что может свидетельствовать об их функциональной нестабильности. Также было показано увеличение подобных субпопуляций при аутоиммунных патологиях, таких как рассеянный склероз [27] и сахарный диабет 1-го типа [28]. Однако, как справедливо отмечено в работе T. Duhon и соавт. [16], продукция провоспалительных цитокинов у клеток Treg может существенно отличаться от их эффекторных аналогов.

Так, IL-22 часто совместно продуцировался с IL-17 в клетках Th17, чего не наблюдалось в Th17-подобной популяции Treg [16]. Более того, все эти цитокины продуцируются совместно с IL-10; также установлено, что IFN γ и IL-17 при определенных условиях могут оказывать иммунорегулирующее действие [29, 30]. Можно предположить, что для таких субпопуляций Treg характерны определенные программы установления толерантности за счет сочетания про- и противовоспалительных цитокинов, механизмы которых еще предстоит выяснить. В связи с этим возможно, что повышение количества подобных Treg при рассеянном склерозе может быть компенсаторной реакцией организма на аутоиммунное воспаление [16].

В настоящий момент нельзя однозначно говорить о том, что хелпероспецифичные Treg, существующие в норме, и подобные клетки, увеличивающиеся во время аутоиммунных патологий, идентичны. Хелпероспецифичные Treg неоднородны по происхождению. Являясь активированными (CD45R0+) клетками, большинство таких Treg экспрессировало Helios [16], что может означать их появление из группы тимических Treg. Однако среди CD25hi CD127lo Th1- и Th17-подобных Treg была обнаружена также и группа клеток Helios-, вероятно pTreg [16]. Эти клетки производили IL-10 в больших количествах, чем клетки Helios+ [16]. Таким образом, уровень различных по происхождению хелпероспецифичных

Treg клеток может повышаться при аутоиммунных заболеваниях. Возможно, что экспрессия фактора Helios подавляется, что сопряжено с изменением функционирования клеток. Более глубокий анализ и сравнение разных групп хелперспецифичных Treg в норме и при патологиях позволят лучше понять роль этих клеток в иммунной системе.

Treg ПАМЯТИ

В настоящее время выделяют клетки регуляторной памяти – memory Treg [22]. Данные клетки могут сохранять жизнеспособность в отсутствии стимуляции антигеном (аутоантигеном) в течение длительного времени, а также эффективно подавлять иммунный ответ при активации. Memory Treg характеризуются повышенной способностью к подавлению эффекторных клеток [22]. Существование клеток memory Treg являлось достаточно спорным, так как сложно доказать то, что Treg памяти сохраняются в отсутствии постоянной стимуляции антигеном, при условии, что аутоантигены в норме постоянно презентуются в организме [22]. Биологический смысл существования таких клеток может складываться из следующих моментов.

С возрастом происходит угасание функции тимуса и производства наивных Т-лимфоцитов [2], что предполагает существование долгоживущих клеток памяти, поддерживающих лимфоидную популяцию в отсутствии постоянно обновляющегося пула наивных Т-лимфоцитов.

В отсутствии патологического процесса представление аутоантигенов осуществляется незрелыми дендритными клетками либо специализированными толерогенными клетками, которые содержат небольшое количество молекул костимуляторов, не производящих провоспалительные цитокины в достаточных количествах [1]. Такая презентация антигена вызывает анергию, апоптоз либо формирование регуляторного фенотипа у Т-лимфоцитов. При презентации же аутоантигенов с костимуляторными молекулами и провоспалительными цитокинами происходит активация аутореактивных Т-клеток, что может приводить к аутоиммунитету [2].

В данной ситуации существование Treg памяти, которые бы активировались параллельно с аутореактивными клетками, способствовало бы контролю над аутоиммунитетом. Таким образом, возможна ситуация, при которой представление аутоантигена в нормальных условиях не является достаточным для активации Treg памяти, а данные клетки могут активироваться только в провоспалительных условиях, когда представление аутоантигена может привести к экспансии аутореактивных клеток.

Доступ иммунных клеток в ткани, отделенные гистологическими барьерами от иммунной системы (иммунопривилегированные ткани), ограничен [2]. В случае повреждения барьеров в результате травмы либо воспаления, аутоантигены из этих тканей становятся доступными для распознавания иммунной системой, что может вызвать развитие аутоиммунного процесса [31]. Для предотвращения этого механизма могут существовать длительно персистирующие в отсутствии представления аутоантигена Treg (например, в регионарных лимфоузлах), которые при повторном эпизоде повреждения могут мигрировать вместе с эффекторными клетками в ткань для предотвращения аутоиммунного процесса.

Регуляторные клетки могут быть специфичны не только к аутоантигенам, но и чужеродным антигенам, которые не экспрессируются в организме. Было показано, что в модели острой инфекции гриппа количество вирусоспецифичных клеток Treg увеличилось в 50 раз во время первичного ответа [32]. В дальнейшем, как и в случае популяций эффекторных Т-клеток, количество вирусоспецифичных Treg клеток сокращалось после прекращения первичной инфекции.

Однако некоторая доля этих клеток Treg сохранялась в течение более 50 дней после заражения. При повторном заражении пул таких Treg подвергался 10-кратному расширению, что сопоставимо с увеличением популяции эффекторных Т-клеток памяти. Кроме того, Treg клетки памяти значительно подавляли клональную экспансию популяции эффекторных Т-клеток и продукцию их цитокинов. Более того, они уменьшали повреждение тканей без ущерба для клиренса вируса [32]. Эти результаты были воспроизведены другой группой с использованием сходной модели заражения [33]. Механизмы, которые позволяют клеткам Treg улучшать элиминацию патогенов, на данный момент неизвестны, но эти эксперименты демонстрируют необходимость взаимодействия различных звеньев иммунной системы для адекватного иммунного ответа, а также не только подавляющую, но и регуляторную функцию Treg.

Не все антигены могут экспрессироваться в тканях на постоянной основе; экспрессия некоторых молекул может активироваться при воспалении [34]. Treg, специфичные к таким маркерам, также могут являться клетками памяти.

Проведен ряд исследований, доказывающих существование Treg памяти [32, 33, 35]. Была создана экспериментальная модель, позволяющая подавлять или активировать экспрессию определенного антигена в коже [35]. Между тем экспрессия данного

антигена в тимусе не подавлялась. При презентации этого антигена в коже развивалась группа регуляторных Т-клеток, которая подавляла иммунный ответ на антиген. При выключении его экспрессии обнаруживалось существование специфичных к данному антигену регуляторных Т-лимфоцитов, которые сохранялись в коже длительное время в отсутствии презентации антигена и подавляли воспалительные реакции при повторной активации его экспрессии эффективнее, чем первичные клетки Treg [35].

Определение Treg памяти у человека несколько сложнее. Т-клетки человека экспрессируют изоформу CD45RO в тимусе и превращаются в CD45RA+ после миграции в периферические лимфатические узлы [36]. После распознавания антигена на периферии эти клетки переключаются обратно в форму CD45RO+. Почти все CD45RA+CD4+ Т-клетки *in vitro* теряют экспрессию CD45RA и переходят к фенотипу CD45RO+ после 4 дней стимуляции TCR [37].

На данный момент Treg памяти у человека обозначаются как Т-клетки, экспрессирующие маркер CD45R0, что свидетельствует о предшествующей активации. Однако экспрессия CD45R0 сама по себе не определяет Т-клетку как истинную клетку памяти [22]. Данный маркер не разграничивает клетки, которые сохраняются в отсутствие антигена, и клетки, которые постоянно распознают антиген. Однако изоформы CD45 в настоящее время широко применяются для разграничения наивных Treg и клеток, активированных распознаванием антигена (среди которых также представлены клетки памяти). В исследовании М. Miyara и соавт. на основании экспрессии CD25, CD45RA и FOXP3 Т-клетки периферической крови здоровых людей были разделены на два подмножества – CD45RA+FOXP3low и CD45RA+FOXP3hi, которые были названы «покоящиеся» и «активированные» клетки Treg [11]. Продemonстрировано, что после стимуляции антигеном покоящиеся Treg пролиферируют и дифференцируются в активированные Treg [11]. Показано, что количество CD45RA+ Treg клеток в периферической крови с возрастом снижается, что сопровождается увеличением популяции CD45R0+ Treg [38].

Эти результаты подтверждают гипотезу о том, что клетки CD45RA+ Treg представляют собой покоящуюся популяцию, которая превращается в активированные CD45R0+ (среди которых могут быть клетки Treg памяти) при воздействии антигена [22]. В свою очередь, CD45R0+Treg могут быть разделены на субпопуляции в соответствии с экспрессией HLA-DR [39]. Данные группы различаются по функциональным характеристикам: супрессирующей

способности и секреции цитокинов. HLA-DR+ Treg экспрессировали более высокие уровни маркеров активации (CTLA-4, ICOS), имели более выраженное супрессивное действие *in vitro*, но продуцировали более низкие уровни цитокинов. Возможно, данная группа может являться непосредственными Treg памяти, ввиду их более дифференцированного фенотипа [22].

Клетки HLA-DR могут считаться недавно активированными, но не полностью дифференцированными клетками Treg. Тем не менее было показано, что HLA-DR экспрессируется на недавно активированных обычных Т-клетках у людей [40]. В связи с этим, возможно, что CD45RA- HLA-DR+ Treg представляют собой недавно активированные «эффекторные» клетки Treg, а не клетки памяти Treg [22]. Также стоит отметить, что большинство Treg памяти могут находиться в периферических тканях [41], а в крови могут появляться только при перемещениях между тканями или тканью и лимфатическими узлами.

Показано, что почти все клетки Treg в коже взрослого человека экспрессируют CD45R0, тогда как значительная часть регуляторных клеток кожи плода была отнесена к субпопуляции CD45RA+ [42]. Treg в коже взрослого человека также экспрессируют высокие уровни других маркеров, ассоциированных с Т-клетками памяти, включая CD27 и BCL2 [42]. Важно отметить, что в сравнении с эффекторными Т-клетками, Treg памяти из кожи человека экспрессировали уникальные последовательности тканеспецифичных TCR, не экспрессировали CCR7, и не могли мигрировать из кожи [42]. Все эти данные позволяют заключить, что дифференцированные клетки памяти Treg могут находиться в тканях и не появляться в периферической крови.

В настоящее время не существует единого подхода к определению Т-клеток регуляторной памяти, однако многие отличительные черты, такие как экспрессия молекул активации (CD45R0, HLA-DR), хемокиновый профиль и метаболический профиль, могут помочь в решении этой задачи [22]. Также важно отметить, что Treg памяти могут использовать иные гомеостатические факторы. Было показано, что Treg памяти меньше зависят от IL-2 (необходимого для выживания наивных и активированных клеток), но более чувствительны к IL-7 (Treg памяти в коже демонстрировали повышенную экспрессию IL-7R, т.е. CD127, который в норме низко экспрессируется или не экспрессируется вовсе на клетках Treg в периферической крови) [43]. Данный факт демонстрирует различную биологию обычных Treg и Treg памяти и может служить одним из маркеров Т-клеток регуляторной памяти.

ИНТЕГРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании исследования IL-35+ и IL-10+ клеток Treg можно сформулировать два основных направления: превентивное, т.е. поддержание гомеостаза за счет снижения активации нерегуляторных Т-лимфоцитов или воздействия на другие клетки (например, антигенпрезентирующие); супрессивное, направленное на ограничение уже сложившегося очага воспаления. Эти два действия были разделены между лимфоидными IL-35+ Treg (превентивное) и нелимфоидными IL-10+ Treg (супрессивное) [6]. Такое разделение оправдано, так как в лимфатических узлах происходит инициация иммунного ответа, а в тканях воспалительная реакция. Однако в данном обзоре, используя как основу превентивный и супрессивный эффект регуляторных Т-клеток, предлагается модель не анатомического распределения этих эффектов, а функционального, т.е. по преимущественному типу клеток, оказывающих эти эффекты (рис. 1).

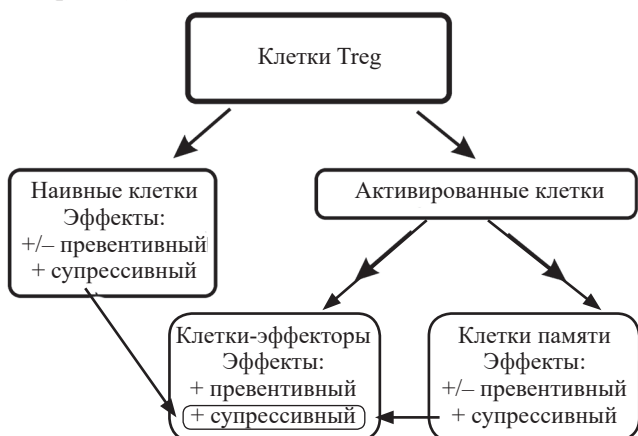


Рис. 1. Типы регуляторных Т-клеток

Регуляторные Т-клетки по статусу активации делятся на наивные и активированные. Активированные включают в себя эффекторные клетки и клетки памяти. Каждая из групп обладает превентивным и супрессивным эффектом в разной степени. Эффекторные клетки проявляют активный превентивный эффект (синтез цитокинов и контактных молекул супрессии) или супрессивный эффект в зависимости от их количества. Наивные клетки и клетки памяти обладают пассивным превентивным эффектом за счет конкуренции за ресурсы с другими Т-клетками; при активации данные популяции делятся и дифференцируются в эффекторные клетки, и за счет увеличения их количества проявляется супрессивный эффект.

И лимфоидные, и нелимфоидные популяции обладают обоими эффектами. Более того, можно говорить, что все популяции (наивные, эффекторные,

клетки памяти) обладают этими эффектами, однако реализуются они в разной степени. Об этом косвенно свидетельствуют результаты эксперимента [6], где при удалении одной из двух популяций (лимфоидной или нелимфоидной) не происходило развития аутоиммунных патологий, что свидетельствует о частичном перекрытии их функций.

Наивные клетки Treg обладают некоторым превентивным эффектом за счет конкуренции с Th0 за IL-2 (пассивным, так как они ничего не синтезируют) [7]. В то же время данные клетки обладают выраженным супрессивным эффектом при активации TCR, благодаря пролиферации и дифференцировке в эффекторные клетки Treg CD45R0+ [11]. Подобными же свойствами могут обладать клетки Treg памяти, конкурируя за IL-7 с другими Т-клетками памяти и обеспечивая пролиферацию и дифференцировку эффекторных Treg при повторной активации. Эффекторные же клетки Treg, которые постоянно распознают антигены и находятся в активном функциональном состоянии (продуцируют супрессивные цитокины и контактные молекулы супрессии), обладают как превентивным действием (активным), так и супрессивным, что зависит от их количества.

Увеличение количества эффекторных Treg при пролиферации наивных клеток и клеток памяти переводит превентивный эффект в супрессивный. Необходимо отметить, что благодаря высокой экспрессии контактных молекул супрессии [22], клетки памяти также могли бы оказывать превентивный эффект, сохраняя при этом состояние функционального покоя. С одной стороны, для этого необходимо присутствие достаточного количества этих клеток, и этот способ потенциально может проигрывать паракринным эффектам супрессивных цитокинов для поддержания превентивного эффекта. С другой стороны, в качестве супрессивного эффекта этот способ может быть более успешен. Как было указано ранее, HLA-DR+ Treg клетки демонстрировали более высокие уровни молекул контактной супрессии CTLA-4, имели более выраженное супрессивное действие *in vitro*, но продуцировали более низкие уровни цитокинов [39].

Лимфатические узлы содержат (по крайней мере у мышей) наивные клетки Treg и активированные клетки IL-35+ Treg. Клетки IL-35+ проявляют черты эффекторных, обладая функциональной активностью (об этом свидетельствуют профили экспрессии генов) [6]. Таким образом, лимфоидные ткани содержат группы клеток, проявляющие оба эффекта. Также не исключено существование клеток Treg памяти лимфоидной ткани.

В нелимфоидных тканях также представлены различные типы клеток, проявляющие как превентивные,

так и супрессивные свойства. Резидентные Treg клетки жировой ткани показаны как функционально активные клетки, которые распознают локальные тканевые антигены и за счет этого персистируют в жировой ткани и контролируют гомеостаз [20]. Это описание подходит эффекторным регуляторным Т-клеткам, обладающим превентивным действием. Также было показано следующее: при повышении IL-33, который выступает в роли алармина при повреждении ткани, эти резидентные Treg интенсивно пролиферировали, что демонстрирует их супрессивное действие [20]. Точно не ясно, однородна ли эта популяция и обладают ли данные эффекторные клетки пролиферативным потенциалом, либо же среди них есть покоящиеся клетки памяти.

Учитывая существование нескольких типов клеток памяти с разными функциональными статусами у Т-лимфоцитов (T_{scm}, T_{em}) [18], справедливо предполагать возможность такого разделения и среди клеток Treg. Может оказаться, что среди резидентных Treg жировой ткани есть активные эффекторные клетки с достаточным пролиферативным потенциалом. Однако важная особенность этих резидентных клеток заключается в том, что Treg жировой ткани пролиферировали в ответ на экзогенное введение IL-33, в то время как Treg в лимфатических узлах не демонстрировали подобной пролиферации [20]. Этот факт может означать, что есть специфические стимулы для каждой конкретной группы Treg, которые побуждают их к пролиферации. Следовательно, супрессивный эффект может наблюдаться при определенных условиях. Клетки Treg IL-35+ практически не пролиферировали по сравнению с IL-10+ Treg при активации моноклональными антителами к CD3 [6]. Данная популяция может являться эффекторной с низким пролиферативным потенциалом, либо же существует специфический стимул (стимулы), на которые данная популяция может ответить пролиферацией. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Несмотря на то, что как в лимфоидных, так и в нелимфоидных тканях есть клеточные популяции, ответственные и за превентивный, и за супрессивный эффект, эти ткани с входящими в них клетками Treg следует рассматривать как единую функциональную систему по поддержанию иммунологической толерантности. Некоторые изменения, например повышение уровня провоспалительных IFN γ + Т-клеток, наблюдались при отсутствии только IL-10+ Treg клеток [6], что свидетельствует о неполном функциональном перекрытии между IL-10+ и IL-35+ Treg. У данных мышей не возникала аутоиммунная патология, однако мог создаться фон, предрасполагающий к ее возникновению (не было исследовано), что воз-

можно рассматривать как одно из звеньев патогенеза аутоиммунных заболеваний.

Отсутствие подобных изменений у мышей с дефицитом IL-35+ Treg клеток можно объяснить наличием дополнительных функциональных резервов лимфоидных тканей в виде наивных популяций Treg (также обладающих обоими эффектами) или же действием IL-10+ Treg клеток, которые, несмотря на направленность в периферические ткани (хемокиновый профиль), определялись в лимфатических узлах (возможно они находились в процессе выхода из узлов) [6]. Хемокиновый профиль же IL-35+ Treg демонстрировал направленность этих клеток в лимфоидные ткани, следовательно, при отсутствии IL-10+ Treg данные клетки не могли бы мигрировать в периферические ткани. Это обстоятельство может объяснить увеличение количества эффекторных IFN γ + Т-клеток. При отсутствии лимфоидных эффекторных Treg клеток нелимфоидные Treg компенсировали их действие. Отсутствие нелимфоидных популяций приводило к повышению уровня провоспалительных клеток (частичная компенсация), но не к развитию заболевания. Спонтанный аутоиммунный колит развивался только при отсутствии обеих популяций [6], что свидетельствует о существовании связей между толерогенными системами лимфатических узлов и периферических тканей.

Можно говорить о том, что для осуществления иммунологической толерантности и контроля иммунитета лимфоидные (регионарные лимфатические узлы) и нелимфоидные ткани действуют согласованно, частично компенсируя и дополняя друг друга. Для описания работы этой системы предлагается следующая схема (рис. 2).

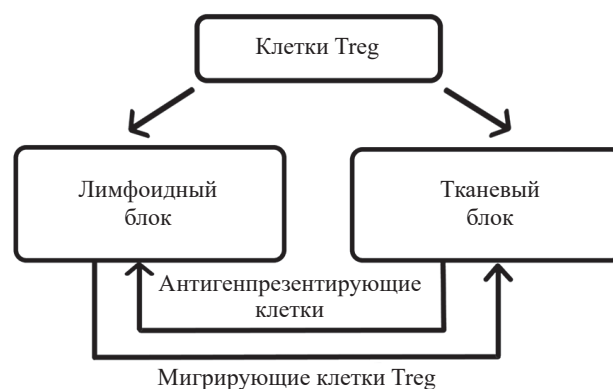


Рис. 2. Единая система иммунологического контроля

Лимфоидные и тканевые популяции регуляторных Т-клеток действуют как единая система иммунологического контроля. Тканевый блок влияет на лимфоидный с помощью антигенпрезентирующих клеток. Лимфоидный блок является источником

клеток для подавления тканевого воспаления (супрессивный эффект) и обновления тканевого блока (переход мигрирующих популяций в тканевые резидентные после выполнения супрессивных функций, либо вне выполнения супрессивных функций). Мигрирующие клетки конкурируют с тканевыми резидентными клетками; в конкуренции побеждают более приспособленные клетки, что приводит к динамической иммунорегуляции при изменяющихся условиях.

Между лимфатическими узлами и периферическими тканями происходит взаимодействие: из тканей мигрируют антигенпрезентирующие клетки [2], а из лимфатических узлов активированные клетки – в ткани, где могут стать предшественниками тканевых резидентных клеток [22]. Тканевые резидентные Treg жировой ткани были способны к пролиферации, т.е. к самообновлению популяции [20], что ставит под вопрос необходимость миграции предшественников из лимфатических узлов.

Тем не менее в условиях воспаления в связи с повышением количества провоспалительных клеток для реализации супрессивного эффекта может быть необходимо участие мигрирующих в ткань клеток Treg. Особенно это может быть важно в отношении хелпероспецифичных популяций, которые перемещаются в места скопления своих аналогов-хелперов. Некоторые из мигрирующих клеток могут оставаться после супрессии иммунного ответа в тканях [22] для поддержания гомеостаза (превентивного эффекта). В связи с наличием конкуренции за ресурсы (цитокины и комплексы р-МНС) у лимфоцитов [44] эти популяции будут конкурировать с резидентными клетками. В результате может происходить динамическое регулирование системы иммунологической толерантности (более функциональные клетки адаптируются для обеспечения превентивного эффекта).

Таким образом, периферические ткани влияют на лимфатические популяции клеток Treg за счет антигенпрезентирующих клеток, стимулируя как превентивный эффект (презентация антигена в небольших количествах для поддержания персистенции эффекторных популяций), так и супрессивный (презентация антигена в значительных количествах совместно с воспалительными сигналами для активации наивных клеток и клеток памяти). Лимфатические узлы обеспечивают супрессивный эффект для тканей за счет производства эффекторных Treg и регулируют превентивный эффект с помощью предшественников тканевых резидентных клеток, которые конкурируют с местными Treg клетками за ресурсы. В результате более приспособленные к тканевым стимулам клетки будут персистировать в тканях, обеспечивая их гомеостаз и иммунологическую толерантность.

Также важно отметить специфичность превентивного действия. Его направленность – снижение активации и предупреждение развития иммунного ответа – неспецифична. Однако способы, которыми достигается этот эффект, могут быть разными для каждой группы Treg. Об этом позволяет судить тот факт, что активированные Helios⁺ и Helios[–] Treg, являясь эффекторными клетками, отличались по количеству производимого IL-10 [16]. Также в исследовании X. Wei и соавт. [6] авторы отмечают, что активированные клетки, продуцирующие IL-10, воздействуют за счет этого цитокина на многие типы клеток, что обусловлено широкой экспрессией IL-10R, в то время как IL-35 действует в основном на Т-клетки. Таким образом, можно предполагать, что за счет различий в функциональных режимах (цитокиновый спектр), превентивный эффект определенной группы Treg будет избирателен в отношении различных клеточных популяций, что делает регуляцию иммунологической толерантностью более адаптивной к изменяющимся условиям.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Выделение различных популяций регуляторных Т-лимфоцитов влечет за собой множество значимых последствий. Различные популяции способны выступать в качестве диагностических и прогностических маркеров. Например, недостаточность подавляющих специфических популяций может быть прогностическим маркером развития связанной с данной группой клеток патологий (недостаточность субпопуляций Treg, подавляющей Th2, может быть фактором риска развития аллергических заболеваний).

Терапия аутоиммунных заболеваний в настоящее время является актуальной проблемой, но существующие на данный момент методики, основанные исключительно на подавлении иммунного ответа, несовершенны, так как не всегда позволяют добиться контроля заболевания и при этом имеют большое количество серьезных побочных эффектов [9]. Необходимо создание новых методов терапии аутоиммунных заболеваний, основанных не на полной иммуносупрессии, а на коррекции иммунного ответа. Одной из разновидностей новых методик являются толерогенные клеточные вакцины [45].

Данные методики основаны на введении в организм пациента аутологичных толерогенных клеток, специфичных в отношении причинно-значимого аутоантигена (т.е. аутоантигена, на который предполагается развитие аутоиммунной реакции) [45]. При аутоиммунных заболеваниях существуют нарушения регуляции иммунного ответа, в том числе и нарушения управления иммунологической толерант-

ностью [2]. Регуляторная система, как было показано выше, включает совместную работу регуляторных клеток лимфоидных и нелимфоидных тканей. Соответственно, воздействие на оба уровня функционирования системы иммунологической толерантности должно быть более эффективно, чем на какой-либо один уровень. Данный подход должен быть справедлив и для применения толерогенных клеточных вакцин. Воздействие сразу на оба уровня иммунологической регуляции либо с использованием двух типов толерогенных популяций, либо с использованием средств, влияющих на оба типа популяций, может существенно улучшить методику толерогенных клеточных вакцин.

Для реализации этой стратегии терапии аутоиммунитета необходимо дальнейшее изучение различных популяций и уровней осуществления иммунологической толерантности, а также их нарушений и сдвигов при аутоиммунных патологиях. Итогом таких исследований может стать появление новых методик иммунотерапии, восстанавливающих систему иммунологической толерантности, которые лишены недостатков иммуносупрессивной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время активно ведется изучение новых групп регуляторных Т-клеток и их влияния на процессы иммунологической толерантности, иммунного ответа, а также их роли в патологических состояниях. Однако на данный момент отсутствует четкое структурирование различных субпопуляций и их роли в осуществлении иммунологического контроля. В этом обзоре были предприняты попытки теоретической систематизации данных по субпопуляциям Тreg клеток. Дальнейшее изучение и систематизация различных групп Тreg могут открыть много новых практических направлений в диагностике и терапии различных заболеваний, особенно аутоиммунного характера.

ЛИТЕРАТУРА

- Gordon J.R., Ma Y., Churchman L., Gordon S.A., Dawicki W. Regulatory dendritic cells for immunotherapy in immunologic diseases. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5: 7. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00007.
- Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. Cellular and molecular immunology; 9th ed. 2018: 579.
- Teh P.P., Vasanthakumar A., Kallies A. Development and function of effector regulatory T cells. *Progress in molecular biology and translational science. Academic. Press*. 2015; 136: 155–174. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.08.005.
- Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T., Miyara M., Fehervari Z., Nomura T., Sakaguchi S. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science*. 2008; 322 (5899): 271–275. DOI: 10.1126 / science.1160062.
- Riella L.V., Paterson A.M., Sharpe A.H., Chandraker A. Role of the PD-1 pathway in the immune response. *American Journal of Transplantation*. 2012; 12 (10): 2575–2587. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04224.x.
- Wei X., Zhang J., Gu Q., Huang M., Zhang W., Guo J., Zhou X. Reciprocal expression of IL-35 and IL-10 defines two distinct effector Treg subsets that are required for maintenance of immune tolerance. *Cell Reports*. 2017; 21 (7): 1853–1869. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.10.090.
- Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008; 133 (5): 775–787. DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.009.
- Ohta A., Sitkovsky M. Extracellular adenosine-mediated modulation of regulatory T cells. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5: 304. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00304.
- Northrup L., Christopher M.A., Sullivan B.P., Berkland C. Combining antigen and immunomodulators: Emerging trends in antigen-specific immunotherapy for autoimmunity. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016; 98: 86–98. DOI: 10.1016/j.addr.2015.10.020.
- Abbas A.K., Benoist C., Bluestone J.A., Campbell D.J., Ghosh S., Hori S., Jiang S., Kuchroo V.K., Mathis D., Roncarolo M.G., Rudensky A., Sakaguchi S., Shevach E.M., Vignali D.A.A., Ziegler S.F. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. *Nature Immunology*. 2013; 14 (4): 307. DOI: 10.1038/ni.2554.
- Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A., Shima T., Wing K., Niwa A., Parizot C., Taffin C., Heike T., Valeyre D., Mathian A., Nakahata T., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M., Amoura Z., Gorochoy G., Sakaguchi S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity*. 2009; 30 (6): 899–911. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.03.019.
- Thornton A.M., Korty P.E., Tran D.Q., Wohlfert E.A., Murray P.E., Belkaid Y., Shevach E.M. Expression of Helios, an Ikaros transcription factor family member, differentiates thymic-derived from peripherally induced Foxp3+ T regulatory cells. *The Journal of Immunology*. 2010; 184 (7): 3433–3441. DOI: 10.4049/jimmunol.0904028.
- Ferraro A., D'Alise A.M., Raj T., Asinowski N., Phillips R., Ergun A., Replogle J.M., Bernier A., Laffel L., Stranger B.E., De Jager P.L., Mathis D., Benoist C. Interindividual variation in human T regulatory cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014; 111 (12): 1111–1120. DOI: 10.1073/pnas.1401343111.
- Ito T., Hanabuchi S., Wang Y.H., Park W.R., Arima K., Bover L., Qin F.F.X.F., Gilliet M., Liu Y.J. Two functional subsets of FOXP3+ regulatory T cells in human thymus and periphery. *Immunity*. 2008; 28 (6): 870–880. DOI: 10.1016/j.immuni.2008.03.018.
- Fuhrman C.A., Yeh W.I., Seay H.R., Lakshmi P.S., Chopra G., Zhang L., Perry D.J., McClymont S.A., Yadav M., Lopez M.C., Baker H.V., Zhang Y., Li Y., Whitley M., Schack D., Atkinson M.A., Bluestone J.A., Brusko T.M. Divergent phenotypes of human regulatory T cells expressing the receptors TIGIT and CD226. *The Journal of Immunology*. 2015; 195 (1): 145–155. DOI: 10.4049/jimmunol.1402381.

16. Duhen T., Duhen R., Lanzavecchia A., Sallusto F., Campbell D.J. Functionally distinct subsets of human FOXP3⁺ Treg cells that phenotypically mirror effector Th cells. *Blood*. 2012; 119 (19): 4430–4440. DOI: 10.1182/blood-2011-11-392324.
17. Collison L.W., Delgoffe G.M., Guy C.S., Vignali K.M., Chaturvedi V., Fairweather D., Satoskar A.R., Garcia K.C., Hunter C.A., Drake C.G., Murray P.J., Vignali D.A.A. The composition and signaling of the IL-35 receptor are unconventional. *Nature Immunology*. 2012; 13 (3): 290–299. DOI: 10.1038/ni.2227.
18. Farber D.L., Yudanin N.A., Restifo N.P. Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis. *Nature Reviews Immunology*. 2014; 14 (1): 24–35. DOI: 10.1038/nri3567.
19. Burzyn D., Kuswanto W., Kolodin D., Shadrach J.L., Cerletti M., Jang Y., Sefik E., Tan T.G., Wagers A.J., Benoist C., Mathis D. A special population of regulatory T cells potentiates muscle repair. *Cell*. 2013; 155 (6): 1282–1295. DOI: 10.1016/j.cell.2013.10.054.
20. Feuerer M., Herrero L., Cipolletta D., Naaz A., Wong J., Nayer A., Lee J., Goldfine A.B., Benoist C., Shoelson S., Mathis D. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nature Medicine*. 2009; 15 (8): 930–939. DOI: 10.1038/nm.2002.
21. Makita S., Kanai T., Nemoto Y., Totsuka T., Okamoto R., Tsuchiya K., Yamamoto M., Kiyono H., Watanabe M. Intestinal lamina propria retaining CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells is a suppressive site of intestinal inflammation. *The Journal of Immunology*. 2007; 178 (8): 4937–4946. DOI: 10.4049/jimmunol.178.8.4937.
22. Rosenblum M.D., Way S.S., Abbas A.K. Regulatory T cell memory. *Nature Reviews Immunology*. 2016; 16 (2): 90–101. DOI: 10.1038/nri.2015.1.
23. Sage P.T., Sharpe A.H. T follicular regulatory cells. *Immunological Reviews*. 2016; 271 (1): 246–259. DOI: 10.1111/imr.12411.
24. Wohlfert E.A., Grainger J.R., Bouladoux N., Konkel J.E., Oldenhove G., Ribeiro C.H., Ribeiro H., Hall J.A., Yagi R., Naik S., Bhairavabhotla R., Paul W.E., Bosselut R., Wei G., Zhao K., Oukka M., Zhu J., Belkaid Y. GATA3 controls Foxp3⁺ regulatory T cell fate during inflammation in mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 2011; 121 (11): 4503–4515. DOI: 10.1172/JCI57456.
25. Linterman M.A., Pierson W., Lee S. K., Kallies A., Kawamoto S., Rayner T.F., Srivastava M., Divekar D.P., Beaton L., Hogan J.J., Fagarasan S., Liston A., Smith K.G.C., Vinuesa C.G. Foxp3⁺ follicular regulatory T cells control the germinal center response. *Nature Medicine*. 2011; 17 (8): 975–982. DOI: 10.1038/nm.2425.
26. Valmori D., Raffin C., Raimbaud I., Ayyoub M. Human RORgammat⁺ TH17 cells preferentially differentiate from naive FOXP3⁺Treg in the presence of lineage-specific polarizing factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107 (45): 19402–19407. DOI: 10.1073/pnas.1008247107.
27. Dominguez-Villar M., Baecher-Allan C.M., Hafler D.A. Identification of T helper type 1-like, Foxp3⁺ regulatory T cells in human autoimmune disease. *Nature Medicine*. 2011; 17 (6): 673–675. DOI: 10.1038/nm.2389.
28. McClymont S.A., Putnam A.L., Lee M.R., Esensten J.H., Liu W., Hulme M.A., Hoffmüller U., Baron U., Olek S., Bluestone J.A., Brusko T.M. Plasticity of human regulatory T cells in healthy subjects and patients with type 1 diabetes. *The Journal of Immunology*. 2011; 186 (7): 3918–3926. DOI: 10.4049/jimmunol.1003099.
29. O'Connor Jr W., Kamanaka M., Booth C.J., Town T., Nakae S., Iwakura Y., Kolls J.K., Flavell R.A. A protective function for interleukin 17A in T cell-mediated intestinal inflammation. *Nature Immunology*. 2009; 10 (6): 603–609. DOI: 10.1038/ni.1736.
30. Willenborg D.O., Fordham S., Bernard C.C., Cowden W.B., Ramshaw I.A. IFN-gamma plays a critical down-regulatory role in the induction and effector phase of myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*. 1996; 157 (8): 3223–3227.
31. Root-Bernstein R., Fairweather D. Unresolved issues in theories of autoimmune disease using myocarditis as a framework. *Journal of Theoretical Biology*. 2014; 375: 101–123. DOI: 10.1016/j.jtbi.2014.11.022.
32. Sanchez A.M., Zhu J., Huang X., Yang Y. The development and function of memory regulatory T cells after acute viral infections. *The Journal of Immunology*. 2012; 189 (6): 2805–2814. DOI: 10.4049/jimmunol.1200645.
33. Brincks E.L., Roberts A.D., Cookenham T., Sell S., Kohlmeier J.E., Blackman M.A., Woodland D.L. Antigen-specific memory regulatory CD4⁺FOXP3⁺ T cells control memory responses to influenza virus infection. *The Journal of Immunology*. 2013; 190(7): 3438–3446. DOI: 10.4049/jimmunol.1203140.
34. Cotran R.S., Gimbrone M.A., Bevilacqua M.P., Mendrick D.L., Pober J.S. Induction and detection of a human endothelial activation antigen in vivo. *Journal of Experimental Medicine*. 1986; 164 (2): 661–666. DOI: 10.1084/jem.164.2.661.
35. Rosenblum M.D., Gratz I.K., Paw J.S., Lee K., Marshak-Rothstein A., Abbas A.K. Response to self-antigen imprints regulatory memory in tissues. *Nature*. 2011; 480(7378): 538–542. DOI: 10.1038/nature10664.
36. Hermiston M.L., Xu Z., Weiss A. CD45: a critical regulator of signaling thresholds in immune cells. *Annual Review of Immunology*. 2003; 21 (1): 107–137. DOI: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.140946.
37. Booth N.J., McQuaid A.J., Sobande T., Kissane S., Agius E., Jackson S.E., Salmon M., Falciani F., Yong K., Rustin M.H., Vukmanovic-Stejic M., Akbar A. N. Different proliferative potential and migratory characteristics of human CD4⁺ regulatory T cells that express either CD45RA or CD45RO. *The Journal of Immunology*. 2010; 184 (8): 4317–4326. DOI: 10.4049/jimmunol.0903781.
38. Seddiki N., Santner-Nanan B., Tangye S.G., Alexander S.I., Solomon M., Lee S., Nanan R., Fazekas de Saint Groth B. Persistence of naive CD45RA⁺ regulatory T cells in adult life. *Blood*. 2006; 107 (7): 2830–2838. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2403.
39. Dong S., Maiella S., Xhaard A., Pang Y., Wenandy L., Larghero J., Becavin C., Benecke A., Bianchi E., Socié G., Rog-

- ge L. Multiparameter single-cell profiling of human CD4+ FOXP3+ regulatory T-cell populations in homeostatic conditions and during graft-versus-host disease. *Blood*. 2013; 122 (10): 1802–1812. DOI: 10.1182/blood-2013-02-482539.
40. Moriya N., Sanjoh K., Yokoyama S., Hayashi T. Mechanisms of HLA-DR antigen expression in phytohemagglutinin-activated T cells in man. Requirement of T cell recognition of self HLA-DR antigen expressed on the surface of monocytes. *The Journal of Immunology*. 1987; 139 (10): 3281–3286.
41. Schenkel J.M., Masopust D. Tissue-resident memory T cells. *Immunity*. 2014; 41 (6), 886–897. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.12.007.
42. Rodriguez R.S., Pauli M.L., Neuhaus I.M., Siegrid S.Y., Aron S.T., Harris H.W., Yang S.H.Y., Anthony B.A., Sverdrup F.M., Krow-Lucal E., MacKenzie T.C., Johnson D.S., Meyer E.H., Löhr A., Hsu A., Koo J., Liao W., Gupta R., Debbaneh M.G., Butler D., Huynh M., Levin E.C., Leon A., Hoffman W.Y., McGrath M.H., Alvarado M.D., Ludwig C.H., Truong H.A., Maurano M.M., Gratz I.K., Abbas A.K., Rosenblum M.D., MacKenzie T. C. Memory regulatory T cells reside in human skin. *The Journal of Clinical Investigation*. 2014; 124 (3): 1027–1036. DOI: 10.1172/JCI72932.
43. Gratz I.K., Truong H.A., Yang S.H.Y., Maurano M.M., Lee K., Abbas A.K., Rosenblum, M.D. Cutting Edge: memory regulatory t cells require IL-7 and not IL-2 for their maintenance in peripheral tissues. *The Journal of Immunology*. 2013; 190 (9): 4483–4487. DOI: 10.4049/jimmunol.1300212.
44. Freitas A.A., Rocha B. Population biology of lymphocytes: the flight for survival. *Annual Review of Immunology*. 2000; 18 (1): 83–111. DOI: 10.1146/annurev.immunol.18.1.83.
45. Phillips B.E., Garciafigueroa Y., Engman C., Trucco M., Giannoukakis N. Tolerogenic dendritic cells and T-regulatory cells at the Clinical Trials Crossroad for the Treatment of Autoimmune Disease; Emphasis on Type 1 Diabetes Therapy. *Frontiers in Immunology*. 2019; 10: 148. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00148.

Сведения об авторах

Куприянов Семен Вадимович, лаборант, центральная научно-исследовательская лаборатория, ЮУГМУ, г. Челябинск.

Синицкий Антон Иванович, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой биохимии имени Р.И. Лифшица, ЮУГМУ, г. Челябинск.

Долгушин Илья Ильич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ЮУГМУ, г. Челябинск.

(✉) **Куприянов Семен Вадимович**, e-mail: pfft@mail.ru.

Поступила в редакцию 18.02.2019

Подписана в печать 16.06.2020

Возможности реабилитации детей с синдромом ДЦП с применением роботизированных устройств и биологической обратной связи

Ларина Н.В., Павленко В.Б., Корсунская Л.Л., Дягилева Ю.О., Фалалеев А.П., Михайлова А.А., Орехова Л.С., Пономарева И.В.

Крымский федеральный университет (КФУ) им. В.И. Вернадского
Россия, 295007, Республика Крым, г. Симферополь, пр. Академика Вернадского, 4

РЕЗЮМЕ

Обзор литературы посвящен систематизации имеющихся данных о применении методики биологической обратной связи, роботизированных устройств и интерфейсов «мозг – компьютер» в реабилитации детей с синдромом детского церебрального паралича (ДЦП).

Цель – изучить опыт применения, клиническую эффективность реабилитационных технологий у пациентов с ДЦП и возможные нейрофизиологические механизмы, лежащие в их основе. Поиск по ключевым словам (дети, ДЦП, биологическая обратная связь, роботизированные устройства, интерфейс «мозг – компьютер», экзоскелеты) был проведен с использованием баз научной литературы Pubmed, Web of Science, eLIBRARY.ru.

Результаты. Проведенный анализ данных литературы показывает, что в настоящее время в реабилитации детей с синдромом ДЦП активно развивается применение роботизированных устройств и интерфейсов «мозг – компьютер» с биологической обратной связью по параметрам электроэнцефалограммы и электромиограммы. Получены первые доказательства эффективности указанных методов и подходов. В то же время не полностью разработаны стандарты использования таких методов в реабилитационной практике и протоколы работы с детьми. Не всегда создавались контрольные группы из детей с ДЦП. Во многих исследованиях не оценивалась динамика нейрофизиологических и нейрохимических показателей до и после курса реабилитации. Такие данные позволили бы уточнить физиологические механизмы восстановления моторных функций и более корректно подходить к назначению реабилитационных процедур и медикаментозного лечения.

Ключевые слова: дети, ДЦП, биологическая обратная связь, роботизированные устройства, интерфейс «мозг – компьютер», экзоскелеты.

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

Источник финансирования. Обзор подготовлен в рамках выполнения темы «Разработка комплекса экзоскелета кисти с внешним программным управлением и биологической обратной связью для процедуры реабилитации детей с синдромом ДЦП» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (RFMEFI60519X0186).

Для цитирования: Ларина Н.В., Павленко В.Б., Корсунская Л.Л., Дягилева Ю.О., Фалалеев А.П., Михайлова А.А., Орехова Л.С., Пономарева И.В. Возможности реабилитации детей с синдромом ДЦП с применением роботизированных устройств и биологической обратной связи. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 156–165. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-156-165>.

Rehabilitation possibilities for children with cerebral palsy through the use of robotic devices and biofeedback

Larina N.V., Pavlenko V.B., Korsunskaya L.L., Dyagileva Yu.O., Falaleev A.P., Mikhailova A.A., Orekhova L.S., Ponomareva I.V.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University

4, Academic Vernadsky Av., Simferopol, 295007, Crimea, Russian Federation

ABSTRACT

This article overviews and systemizes published data on the ways of implementing different methods of biofeedback, robotic devices, and brain-computer interfaces (BCI) for rehabilitation of children with cerebral palsy (CP).

Aim. To survey implementation practices and clinical outcomes of rehabilitation technologies and possible neurophysiological mechanisms underlying their efficacy in patients with CP. We searched PubMed, Web of Science and eLIBRARY.ru databases for relevant publications using specified keywords.

Results. The analysis of relevant literature has shown that robotic technologies and BCIs with biofeedback based on electroencephalography and electromyography parameters are rapidly developing and implemented for the rehabilitation of children with CP. The first evidence of effectiveness for such methods and approaches has been found. However, there is a lack of fully developed conventional standards for the use of such rehabilitation methods and protocols in children. Control groups comprising of children with CP are often absent in such studies. In many cases, the variations of neurophysiological and neurochemical parameters before and after a course of rehabilitation are not evaluated. Having such data would help clarify physiological mechanisms underlying effective rehabilitation of motor functions and then design more adequate rehabilitation procedures and medication protocols.

Keywords: children, cerebral palsy, biofeedback, robotic exoskeleton, brain-computer interfaces.

Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Source of financing. The review was supported by the Federal Target Program of the Ministry of Science and Higher Education "Development of hand exoskeleton with external programmed control and biofeedback for rehabilitation of children with cerebral palsy" (RFMEFI60519X0186).

For citation: Larina N.V., Pavlenko V.B., Korsunskaya L.L., Dyagileva Yu.O., Falaleev A.P., Mikhailova A.A., Orekhova L.S., Ponomareva I.V. Rehabilitation possibilities for children with cerebral palsy through the use of robotic devices and biofeedback. *Bulletin of Siberian Medicine*. 156–165. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-156-165>.

ВВЕДЕНИЕ

Среди заболеваний нервной системы главной причиной детской инвалидности является детский церебральный паралич [1, 2]. В Российской Федерации распространенность зарегистрированных случаев ДЦП составляет 2,2–3,3 случая на 1 000 новорожденных [3].

В современной литературе ДЦП характеризуют как группу непрогрессирующих синдромов, широко варьирующих по этиологии, манифестации клинических проявлений, их тяжести и прогнозу, обусловленных нарушением развития или повреждением двигательных центров головного мозга ребенка в антенатальном, интранатальном или неонатальном пе-

риоде [4–6]. Причины развития данного заболевания множественны. Выявлено несколько факторов риска беременности, родов и перинатального периода, среди которых – преждевременные роды, многоплодная беременность, нарушение внутриутробного развития, внутриутробное инфицирование, плацентарная патология, врожденные пороки развития, асфиксия, перинатальная инфекция, перинатальный инсульт, травмы шейного отдела позвоночника и ряд других [7].

Для клинической картины заболевания характерным является нарушение двигательной функции, связанное с неправильным развитием статокинетических рефлексов, патологией тонуса, парезами. Кроме того, вторично в течение жизни возникают изменения в нервных и мышечных волокнах, суставах,

связках, хрящах. Также нередко наблюдаются различные когнитивные и психические расстройства [8]. Выраженность таких расстройств может варьировать от легких отклонений в эмоциональной сфере до тяжелых интеллектуальных нарушений. Двигательные нарушения при ДЦП часто сочетаются с умственной отсталостью, эпилептическими припадками, трудностями обучения. Иногда у ребенка параллельно отмечаются патологические изменения со стороны зрения, слуха, чувствительности и со стороны внутренних органов, которые усугубляют степень задержки психомоторного развития [9].

В связи с разнообразием клинических проявлений ДЦП существующие медикаментозные и физиотерапевтические методы помощи таким детям оказываются не всегда эффективными. Многие авторы отмечают важность поиска и оценки эффективности новых восстановительных методик [10]. Особую актуальность в настоящее время приобретают методы реабилитации с применением биологической обратной связи (БОС), роботизированных устройств и интерфейсов «мозг – компьютер», поскольку такие методы позволяют активизировать природные физиологические ресурсы головного мозга ребенка.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБРАТНАЯ СВЯЗЬ ПО ПАРАМЕТРАМ ЭЛЕКТРОМИОГРАММЫ

БОС по параметрам электромиограммы (ЭМГ), или функциональное биоуправление, применяется для лечения ДЦП с 1980-х гг. [11]. Сущность метода заключается в организации тренировок активных движений с использованием зрительной и звуковой информации о выполняемом движении в режиме реального времени. Ориентируясь на такую информацию, пациент получает возможность сознательно корректировать выполняемое движение [12, 13]. В ранних исследованиях использованы автоматизированные устройства, которые звуковыми или цветовыми сигналами информировали пациентов об оптимальном уровне активации или расслабления мышц. В качестве управляющих устройствами сигналов у детей с ДЦП при выполнении движений использовалась ЭМГ мышц антагонистов (сгибателей и разгибателей кисти и пальцев, двуглавой и трехглавой мышц плеча, большеберцовой и икроножной мышц и т.д.).

В одной из таких работ [11] автоматизированное устройство было применено при лечении 53 больных в возрасте 8–14 лет со спастической диплегией. Контрольная группа насчитывала 15 человек с той же формой заболевания. В результате серии занятий (в среднем 20 сеансов по 10–30 мин) с применением БОС по ЭМГ у детей значительно улучшились функ-

циональные свойства пораженных мышц, их регуляция и координация движений, чего не наблюдалось в контрольной группе.

Недавнее исследование, проведенное в Республике Корея [14], продемонстрировало преимущества применения БОС по ЭМГ в том случае, когда сигнал обратной связи представлен наглядным изображением в среде виртуальной реальности. В исследовании приняло участие 18 детей 7–15 лет со спастической формой ДЦП и восемь здоровых детей того же возраста, показатели движений и ЭМГ-активность которых использовались в качестве контрольных значений. Все дети с ДЦП сначала прошли один сеанс БОС по ЭМГ (30 мин), в котором ЭМГ-активность бицепса или трицепса руки при сгибании и разгибании ее в локте отражалась в виде простого графика на мониторе компьютера.

После недельного перерыва проводился аналогичный по длительности сеанс БОС по ЭМГ, в котором в качестве сигнала обратной связи использована компьютерная игра, – персонаж надувает воздушный шарик. Увеличение объема шарика зависело от мощности ЭМГ-сигналов мышц антагонистов при движении рук. Такой вариант БОС приводил к значимому большему улучшению параметров движений и контроля нервно-мышечного баланса в локтевом суставе, чем использование в качестве обратной связи простого графика ЭМГ-активности. Авторы исследования считают, что при обратной связи в виде параметров видеоигры увеличивались мотивация и позитивные эмоции ребенка, а также более эффективно проходил процесс мультисенсорной интеграции для планирования и исполнения движения.

ПРИМЕНЕНИЕ РОБОТИЗИРОВАННЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ХОДЬБЫ

В последнее время для коррекции двигательных функций человека и помощи пациентам в социальной адаптации широко используются роботизированные устройства. Основным принципом реабилитации при использовании таких устройств является двигательное научение [15]. Наиболее физиологически адекватным средством реабилитации при двигательных нарушениях считают экзоскелеты, непосредственно управляющие движениями в суставах конечностей [16]. Такие устройства облегчают длительные тренировки, улучшают схему движений, повышают двигательную активность и выносливость. Несмотря на то, что характер движений задается извне, без биологических сигналов от тела пациента, в результате перемещений конечностей возникает поток обратной афферентации, благоприятно влияющий на состояние неокортекса.

Для коррекции ходьбы детей, страдающих ДЦП, разработаны носимые экзоскелеты ног со встроенными электродвигателями, управляемые сигналами тела ребенка. Они позволяют скорректировать нарушенную при ДЦП походку пациента с чрезмерным сгибанием в колене (crouch-ходьба). Запуск двигателей обеспечивается собственными движениями конечности ребенка с помощью механодатчиков. Такой экзоскелет был сначала протестирован на одном шестилетнем испытуемом со спастической диплегией. Результаты исследования показали, что характеристики походки ребенка улучшились. Использование экзоскелета не привело к неблагоприятным побочным эффектам – активность мышц разгибателей колена при этом не снизилась [17]. В продолжении данного исследования приняло участие шесть участников с подобной патологией в возрасте 6–19 лет [18].

После шести занятий по 2–4 ч у половины участников улучшились параметры разгибания колена. Анализ активности мозга показал, что при движениях экзоскелета сохраняется паттерн изменений электроэнцефалограммы (ЭЭГ) неокортекса ребенка, соответствующий самоинициируемому запуску и выполнению движения. Таким образом, вовлеченность коры мозга в организацию двигательных актов, по крайней мере, не снижается. Отметим, что исследования с применением данного устройства носят пока пилотный, предварительный характер, и в них приняло участие лишь небольшое количество детей с ДЦП.

В настоящее время достаточно широко применяются стационарные роботизированные устройства Lokomat (Швейцария), в состав которых входят система поддержки тела, автоматически движущиеся ортезы ног и беговая дорожка. Группа итальянских исследователей (Университет Вероны) использовала Lokomat в сочетании с традиционными методами терапии (20 сеансов роботизированной ходьбы и 20 – физиотерапии, по 60 мин каждый) в лечении небольшой группы детей – 16 мальчиков и девочек 4–18 лет [19]. После лечения выявлено повышение выносливости детей при шестиминутной ходьбе, но тест Gross Motor Function Measure (GMFM) и модифицированная шкала Эшворта не показали значимого улучшения состояния.

Наиболее представительным по количеству пациентов было ретроспективное исследование группы итальянских авторов из научно-исследовательского института IRCCS E. Medea коммуны Лекко и Детского госпиталя г. Рима [20]. Они проанализировали эффекты роботизированной реабилитации, проводимой с помощью Lokomat в 2012–2017 гг., у 72 детей

с ДЦП и 110 – с приобретенными после рождения повреждениями головного мозга, вызвавшими двигательные нарушения (возраст больных 4–18 лет). В течение 1 мес дети проходили 20 сеансов роботизированной ходьбы и 20 сеансов физиотерапии продолжительностью по 45 мин. Оценка двигательных функций с помощью теста шестиминутной ходьбы показала значимое улучшение у детей обеих групп. Однако применение теста GMFM выявило статистически значимое улучшение по сравнению с исходным состоянием лишь для группы детей с приобретенными повреждениями мозга.

В исследовании сотрудников Мюнхенского университета [21] применялась последняя версия Lokomat, позволяющая выводить на экран параметры движения в среде виртуальной реальности. Это дало возможность увеличить степень вовлеченности ребенка в контролирование своей ходьбы. В течение 24 мес 20 детей с ДЦП (средний возраст 5,9 лет) проходили три блока по 12 сеансов (продолжительность 30–60 мин) роботизированной ходьбы. При этом сохранялись все виды традиционной терапии, которые были назначены ребенку. Тест Gross Motor Function Classification System (GMFCS) показал значимое улучшение моторных функций как после каждого блока, так и после всего курса лечения.

Следует отметить, что в описанных выше исследованиях применение роботизированных устройств проводилось в комплексе с другими, традиционными методами лечения, в частности с физиотерапией. Контрольная группа из детей с ДЦП не создавалась. Для оценки реальной эффективности роботизированной ходьбы в лечении ДЦП предлагают применить рандомизированный перекрестный дизайн [22]. При этом должны сравниваться эффекты традиционной терапии и роботизированных устройств, применяемых изолированно. Однако, насколько нам известно, такие исследования пока не проводились.

ПРИМЕНЕНИЕ РОБОТИЗИРОВАННЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДВИЖЕНИЙ РУК

Для коррекции двигательных функций рук детей с ДЦП разработан целый ряд роботизированных устройств. Наиболее популярными являются три роботизированных устройства: InMotion 2 (коммерческая версия MIT MANUS), NJIT-RAVR и CosmoBot [23].

При использовании системы InMotion 2 (рис. 1) дети с ДЦП с помощью роботизированного ортеза руки повышают точность выполнения движений по достижению цели. Ребенок обучается тренировать движения «тянуть руку к предмету» в определенных

направлениях с заданным уровнем поддержки со стороны устройства [24–26]. Сразу в нескольких исследованиях [27–29] отмечается положительная динамика после 6–8-недельного курса использования системы InMotion 2 у детей с ДЦП. Выявлено снижение мышечного тонуса и улучшение кинематических показателей: увеличение скорости и улучшение плавности движений руки.



Рис. 1. Система InMotion 2 (коммерческая версия MIT MANUS) [26]

Система NJIT-RAVR сочетает в себе роботизированную руку с играми виртуальной реальности для тренировки движений у детей с гемиплегией. Подобно InMotion2, система NJIT-RAVR может оказывать помощь или сопротивление движениям ребенка. В исследовании [30] использовалось несколько игр виртуальной реальности, например игра «достань кружку». В этой игре на экране отображается трехмерная комната с особым образом оформленными полками и столом (рис. 2).

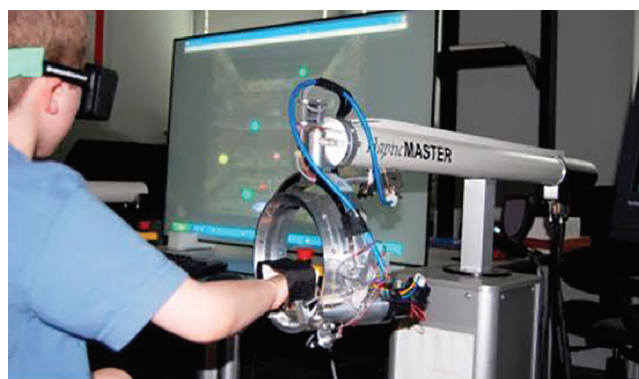


Рис. 2. Система NJIT-RAVR [30]

Цель игры – выполнять движения по размещению кружков на полках. В исследовании приняли участие четыре ребенка с ДЦП и четыре здоровых ребенка. После реабилитационного курса, состоящего из 1-часового тренинга 3 раза в неделю в течение

3 нед, отмечена положительная динамика таких показателей, как время достижения цели, увеличение показателя точности движений и улучшение траектории движения [30].

Еще одним вариантом роботизированной реабилитационной системы является система CosmoBot (рис. 3), разработанная фирмой AnthroTronix (США). Эта бесконтактная система служит для обеспечения автоматической визуальной и слуховой обратной связи с пациентом при достижении поставленных двигательных задач. Система оценивает изменение угла движения (супинацию и пронацию) по отношению к нейтральному первичному положению, которое настраивается индивидуально для каждого пациента.



a



b

Рис. 3. Система с обратной связью CosmoBot: a – графический интерфейс пользователя позволяет терапевтам устанавливать пороги движения ребенка, необходимые для активации движения робота; b – ребенок со светоотражающими маркерами для одновременного измерения движения правого плеча, локтя, предплечья и запястья во время выполнения задачи «тянуться вверх» [31]

В исследовании с помощью данной системы приняли участие шесть детей с различной степенью спастической квадриплегии и гемиплегии в возрасте 5–18 лет. Дети проходили физиотерапию и роботизированную реабилитацию.

зированной реабилитации (перекрестный дизайн). Реабилитация с использованием системы CosmoBot проводилась в течение 20 мин 2 раза в неделю на протяжении 5 нед. После роботизированной терапии у детей улучшались показатели выполнения тренируемых движений в большей степени, чем после традиционного лечения [31].

Несмотря на положительные эффекты, выявленные при применении каждого из описанных выше роботизированных устройств, сравнить их по эффективности между собой на сегодняшний день не представляется возможным. Протоколы экспериментов в каждом исследовании были различными как по длительности сеанса, так и по продолжительности всего курса. Кроме того, некоторые исследования проводились только с использованием роботизированной терапии InMotion 2 [27–29, 32] или NJIT-RAVR с играми виртуальной реальности [30, 33, 34], другие – с использованием комбинированной роботизированной терапии InMotion 2 и инъекций ботулинического токсина типа А (ВТХ-А) [35]. В большинстве исследований дети имели разный диагноз, а объем выборки был крайне незначительным (до 10 человек). Все это накладывает существенные ограничения на возможность сопоставления результатов существующих исследований.

ИНТЕРФЕЙСЫ «МОЗГ – КОМПЬЮТЕР» И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ РЕАБИЛИТАЦИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ

Эффективность реабилитационных процедур, как отмечают А.А. Фролов и соавт. [16], зависит от той степени, в которой они запускают пластические механизмы мозга по перестройке сенсомоторной системы. Для этого движения экзоскелета должны совершаться в моменты, когда мозг наиболее восприимчив к принятию периферических сигналов, а именно когда пациент пытается совершить движение. Однако такой подход не может использоваться у полностью парализованных больных или при нарушении нормальной коактивации мышц, что встречается у многих пациентов с ДЦП. В ряде работ, направленных на реабилитацию больных, перенесших инсульт [36–38], для распознавания намерений пациента использовались интерфейсы «мозг – компьютер» (ИМК), основанные на кинестетическом воображении движений.

ИМК – это программно-аппаратный комплекс, позволяющий управлять внешними техническими системами с помощью сигналов, отводимых от мозга. Общая схема ИМК включает систему для регистрации биопотенциалов и ввода их в компьютер; средства фильтрации сигналов и выбора показателей

активности, наиболее значимых для распознавания намерений человека; классификатор активности и средство сопряжения классификатора с внешним техническим устройством, которым может быть протез, экзоскелет или экран монитора [38]. При управлении ИМК испытуемый должен иметь обратную связь от технического устройства, позволяющую сравнить его действие со своим намерением. Это обеспечивает концентрацию внимания испытуемого на управлении ИМК и подкрепляет успешное выполнения задания. В качестве сигналов обратной связи обычно используется зрительная информация, и, если ИМК управляет экзоскелетом, дополнительно используется проприоцептивная афферентация.

ИМК классифицируют по необходимости проведения хирургической операции для регистрации сигналов мозга (инвазивный – неинвазивный ИМК). В качестве сигналов электрофизиологической активности для инвазивных ИМК отводят электрокортикограмму или нейронную активность. Для неинвазивных ИМК используют ЭЭГ и магнитоэнцефалограмму. По типу используемых паттернов неинвазивные ИМК делят на синхронные и асинхронные [38]. Синхронные ИМК основаны на анализе паттернов ЭЭГ-активности, возникающих в ответ на внешние стимулы, асинхронные – на анализе паттернов ЭЭГ, возникающих произвольно в соответствии с интенциями испытуемых. Большинство ИМК, управляющих движением внешнего технического устройства, в качестве ментальных задач используют воображение движений в ответ на внешнюю команду. Управление таким ИМК является эффективной процедурой восстановления двигательных функций у постинсультных и посттравматических больных [15].

Многие современные ИМК, входящие в состав систем для восстановления двигательных функций, основаны на анализе динамики сенсомоторного ритма ЭЭГ. Данный ритм включает альфа- и бета-компоненты [39]. Альфа-компонент (10–12 Гц у взрослых), или мю-альфа-ритм, предположительно отражает уровень активации постцентральной соматосенсорной коры, в то время как мю-бета-компонент (частота пика около 20 Гц) является индикатором активности прецентральной моторной коры. Реакция десинхронизация мю-ритма ЭЭГ считается признаком активации соответствующих зон коры больших полушарий. Такая реакция проявляется при выполнении движений, а также при их представлении, при наблюдении за движением другого человека, восприятии звуков, сопровождающих движения. Десинхронизация мю-ритма начинается примерно за 1,5–2 с до начала собственного движения. Частота

мю-ритма зависит от возраста испытуемых. На протяжении 1-го года жизни детей частота пика данного ритма возрастает от 3 до 8 Гц. В последующие годы рост частоты замедляется и ко взрослому возрасту стабилизируется в районе 10 Гц [40].

Считают, что существуют, по меньшей мере, две составляющие мю-альфа-ритма. Низкочастотная (8–10 Гц) – демонстрирует «неспецифическую» десинхронизацию при разных двигательных задачах. Десинхронизация ритма в диапазоне частот 10–12 Гц сфокусирована и специфически локализована, отчетливо различается при движениях пальцев руки и стопы [41]. Поскольку представительства различных органов (например, руки и ноги, правой и левой стороны тела) разнесены по коре на довольно большие расстояния, по локализации данной составляющей мю-ритма можно достаточно точно определить, движение какого исполнительного органа воображает испытуемый [38]. Классификатор активности мозга при этом активирует внешнее роботизированное устройство или запускает движения экзоскелета. Исследования показали, что намерение пациента, перенесшего инсульт, совершить движение удается успешно связать с реальными движениями, производимыми экзоскелетом [42].

Возможны два типа клинического применения ИМК: нейрореабилитация и социальная реабилитация. Нейрореабилитация предполагает восстановление двигательных функций в результате тренировки с ИМК, в то время как социальная реабилитация способствует адаптации к реальной жизни, включая самообслуживание в быту и взаимодействие с другими людьми [16, 43].

Несмотря на то, что ряд авторов [44, 45] указывает на огромную перспективу использования ИМК в реабилитации детей с ДЦП, в настоящее время имеются лишь единичные экспериментальные работы в этой области. Одной из первых исследовательских работ явилось исследование, в котором показана потенциальная возможность использования ИМК у пациентов с ДЦП на основе анализа динамики сенсомоторного ритма или зрительных вызванных ЭЭГ-потенциалов, запущенных внешней стимуляцией [46]. Выполнение пациентами заданий на представление движений верхних и нижних конечностей приводило к таким изменениям мощности мю- и бета-ритмов, которые адекватно оценивались программой-классификатором.

В работе исследователей из Южной Кореи [47] использовался ИМК, интегрированный с электростимулятором мышц разгибателей запястья. Электростимуляция запускалась на основе on-line анализа параметров ЭЭГ – при увеличении отношения мощности

бета-ритма к тета-ритму во фронтальных отведениях (рост так называемого индекса внимания) и представлении пациентом движения разгибания кисти. После серии сеансов у детей с ДЦП улучшались параметры выполнения движений рук, а также показатели концентрации внимания. Результаты данного исследования показывают, что электростимуляция, контролируемая с помощью ИМК, может эффективно использоваться в нейрореабилитации пациентов с ДЦП.

В рамках социальной реабилитации имеются данные об успешном применении ИМК, управляемого по параметрам потенциала Р300, для выполнения когнитивных заданий на компьютере у детей с тяжелыми формами ДЦП, имеющими не только моторные, но и речевые нарушения [48]. Подобные данные получены и при использовании гибридной системы ИМК, управляемой одновременно связанным с событием потенциалом Р300 и параметрами ЭМГ у людей с тяжелыми двигательными нарушениями. Такая система была разработана для управления программой-помощником для написания слов [49]. Авторы работы показали, что использование алгоритма обработки двух сигналов повышает точность написания слов и снижает количество ошибок.

Как уже отмечалось, наиболее оптимальным для нейрореабилитации считают применение ИМК вместе с управляемым им экзоскелетом [38]. В этом случае центральная моторная команда подкрепляется афферентными кинестетическими сигналами о ее исполнении экзоскелетом, т.е. дополнена БОС. Однако, насколько нам известно, подобная система применена для коррекции двигательных функций верхних конечностей у детей с ДЦП пока лишь в одном клиническом исследовании, выполненном сотрудниками Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского [50]. В этой работе применялся комплекс «Экзокисть-2» с неинвазивным ИМК (рис. 4), отводящим ЭЭГ от фронтальных, центральных и париетальных областей коры.



Рис. 4. Сеанс реабилитации с использованием комплекса «Экзокисть-2»

Данный комплекс произведен консорциумом в составе НПО «Андронидная техника» (Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова и Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН).

В исследовании участвовали 50 мальчиков и девочек с ДЦП (основная группа – 30, группа контроля – 20) с уровнем двигательной активности по критериям классификации больших моторных функций (GMFCS) не больше III. Всем пациентам в течение 21 дня проводили стандартный курс санаторно-курортной реабилитации. Пациентам основной группы дополнительно проводили реабилитацию с использованием комплекса «Экзокисть-2» с неинвазивным ИМК. Результаты использования комплекса показали, что у 70% пациентов основной группы достоверно снижается спастичность по шкалам Эшворта (MAS) и Тардье (MTS). У половины пациентов значительно выросла сила мышц паретичной руки по шкале оценки силы мышц Британского совета медицинских исследований (MRC-SS). По модифицированной шкале Френчай (MFS) выявлено улучшение манипуляторных возможностей руки. Наиболее значительно увеличилась способность пациентов выполнять повседневные действия в быту по шкале ABILHAND-Kids. Изменение двигательных функций у пациентов группы контроля на фоне стандартной терапии не были статистически значимыми. Нужно отметить, что динамика параметров ЭЭГ и ЭМГ детей в процессе применения комплекса «Экзокисть-2» в данной публикации не анализировалась.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ данных литературы показывает, что в настоящее время повышается интерес к применению роботизированных устройств в реабилитации детей с синдромом ДЦП. Показана возможность управления роботизированными устройствами на основе анализа активности головного мозга таких пациентов. Получены доказательства эффективности различных методов и подходов, использующих принцип биологической обратной связи. В то же время не полностью разработаны стандарты использования таких методов в реабилитационной практике и протоколы работы с детьми. Во многих исследованиях не оценивается динамика нейрофизиологических показателей (ЭЭГ, ЭМГ) и нейрохимических показателей до и после курса реабилитации с применением роботизированных устройств. Такие данные позволили бы анализировать физиологические механизмы восстановления моторных функций и более корректно подходить к назначению реабилитационных процедур и медикаментозного лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Johnson A. Prevalence and characteristics of children with cerebral palsy in Europe. *Dev. Med. Child Neurol.* 2002; 44 (9): 633–640.
2. Батышева Т.Т., Быкова О.В., Виноградов А.В. Детский церебральный паралич – современные представления о проблеме (обзор литературы). *Русский медицинский журнал.* 2012; 8: 401–405.
3. Детский церебральный паралич у детей. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации; 2016. <https://www.pediatr-russia.ru>.
4. Бадалян Л.О., Журба Л.Т., Тимонина О.В. Детские церебральные параличи. Киев: Здоровье, 1988: 328.
5. Peacock J. Cerebral palsy. Mankato MN: Capstone Press, 2000: 64.
6. Комфорт А.В., Семенова Ж.Б. Селективная дорсальная ризотомия в коррекции спастического синдрома у больных ДЦП: исторические аспекты (обзор литературы). *Нейрохирургия и неврология детского возраста.* 2016; 3 (49): 75–86.
7. Исаева Р.Б., Сейсебаева Р.Ж., Жакупова М.Н., Каржаубаева Ш.Е., Мырзабекова Г.Т., Нурбақыт А.Н., Ансабай К.Р., Рахимова А.Г., Болат А.Н., Калдаров С.О., Нурымбетова З.С. Факторы риска ДЦП в неонатальном периоде. *Вестник КазНМУ.* 2018; (3): 69–74.
8. Немкова С.А., Маслова О.И. Эффективность применения метода динамической проприоцептивной коррекции у больных детским церебральным параличом с когнитивными нарушениями. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2013; 8: 26–32.
9. Bjornson K., Zhou C., Fatone S., Orendurff M., Stevenson R., Rashid S. The Effect of Ankle Foot Orthoses on Community Based Walking in Cerebral Palsy: A Clinical Pilot Study. *Pediatr. Phys. Ther.* 2016; 28 (2): 179–186. DOI: 10.1097/PEP.0000000000000242.
10. Варфоломеева З.С., Подолька О.Б., Панова Н.А., Добрякова В.А. Оценка двигательных умений подростков с ДЦП в процессе гидрореабилитации. *Здоровье и образование в 21 веке.* 2017; 19 (11): 203–234. DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2017-19-11-230-234.
11. Богданов О.В., Варман Б.Г., Алиев А.Т. Восстановление двигательных расстройств с помощью приемов функционального биоуправления. *Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 1985; 85 (3): 359–365.
12. Тупиков М.В., Тупиков В.А., Чурилов Н.М. Применение метода функционального биоуправления при хирургическом лечении двигательных нарушений у детей с ДЦП. *Известия ЮФУ. Технические науки.* 2014; 10 (159): 135–144.
13. He M.X., Lei C.J., Zhong D.L., Liu Q.C., Zhang H., Huang Y.J., Li Y.X., Liu X.B., Li J., Jin R.J., Wan L. The effectiveness and safety of electromyography biofeedback therapy for motor dysfunction of children with cerebral palsy: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Balt.).* 2019; 98 (33): e16786. DOI: 10.1097/MD.00000000000016786.
14. Yoo J.W., Lee D.R., Cha Y.J., You S.H. Augmented effects of EMG biofeedback interfaced with virtual reality on neuromuscular control and movement coordination during reaching in children with cerebral palsy. *NeuroRehab.* 2017; 40 (2): 175–185. DOI: 10.3233/NRE-161402.

15. Королева Е.С., Алифиров В.М., Латыпова А.В., Чебан С.В., Отт В.А., Бразовский К.С., Толмачев И.В., Бразовская Н.Г., Сёмкина А.А., Катаева Н.Г. Принципы и опыт применения роботизированных реабилитационных технологий у пациентов после инсульта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (2): 223–233. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-223–233.
16. Фролов А.А., Козловская И.Б., Бирюкова Е.В., Бобров П.Д. Роботизированные устройства в реабилитации после инсульта. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2017; 67 (4): 394–413. DOI: 10.7868/S004446771704-0017.
17. Lerner Z.F., Damiano D.L., Park H.S., Gravunder A.J., Bulea T.C. A robotic exoskeleton for treatment of crouch gait in children with cerebral palsy: design and initial application. *IEEE Trans. Neural. Syst. Rehabil. Eng.* 2017; 25 (6): 650–659. DOI: 10.1109/TNSRE.2016.2595501.
18. Bulea T.C., Lerner Z.F., Gravunder A.J., Damiano D.L. Exergaming with a pediatric exoskeleton: facilitating rehabilitation and research in children with cerebral palsy. *Int. Conf. Rehabil. Robot. (ICORR)*. 2017: 1087–1093. DOI: 10.1109/ICORR.2017.8009394.
19. Digiaco F., Tamburin S., Tebaldi S., Pezzani M., Tagliaferro M., Casale R., Bartolo M. Improvement of motor performance in children with cerebral palsy treated with exoskeleton robotic training: A retrospective explorative analysis. *Restor. Neurol. Neurosci.* 2019; 37 (3): 239–244. DOI: 10.3233/RNN-180897.
20. Beretta E., Storm F.A., Strazzer S., Frascarelli F., Petrarca M., Colazza A., Cordone G., Biffi E., Morganti R., Maghini C., Piccinini L., Reni G., Castelli E.E. Effect of robot-assisted gait training in a large population of children with motor impairment due to cerebral palsy or acquired brain injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2020; 101 (1): 106–112. DOI: 10.1016/j.apmr.2019.08.479.
21. Weinberger R., Warken B., König H., Vill K., Gerstl L., Borggraeve I., Heinen F., von Kries R., Schroeder A.S. Three by three weeks of robot-enhanced repetitive gait therapy within a global rehabilitation plan improves gross motor development in children with cerebral palsy – a retrospective cohort study. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2019; 23 (4): 581–588. DOI: 10.1016/j.ejpn.2019.05.003.
22. Ammann-Reiffer C., Bastiaenen C.H., Meyer-Heim A.D., van Hedel H.J. Effectiveness of robot-assisted gait training in children with cerebral palsy: a bicenter, pragmatic, randomized, cross-over trial (PeLoGAIT). *BMC Pediatrics*. 2017; 17(1): 64. DOI: 10.1186/s12887-017-0815-y.
23. Chen Y.P., Howard A.M. Effects of robotic therapy on upper-extremity function in children with cerebral palsy: A systematic review. *Dev. Neurorehabil.* 2016; 19(1): 64–71. DOI: 10.3109/17518423.2014.899648.
24. Krebs H.I., Ladenheim B., Hippolyte C., Monterosso L., Mast J. Robot-assisted task-specific training in cerebral palsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 2009; 51(4): 140–145. DOI: 10.1111/j.1469-8749.2009.03416.x.
25. Fasoli S.E., Ladenheim B., Mast J., Krebs H.I. New horizons for robot-assisted therapy in pediatrics. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 2012; 91 (11): S280–S289. DOI: 10.1097/PHM.0b013e31826bcff4.
26. Seth D., Vardhan Varma V.K.H., Anirudh P., Kalyan P. Preliminary design of soft exo-suit for arm rehabilitation. *Lect. Notes Comput. Sci.* 2019; 284–294. DOI: 10.1007/978-3-030-22219-2_22
27. Fasoli S.E., Fragala-Pinkham M., Hughes R., Hogan N., Krebs H.I., Stein J. Upper limb robotic therapy for children with hemiplegia. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 2008; 87 (11): 929–936. DOI: 10.1097/PHM.0b013e31818a6aa4.
28. Frascarelli F., Masia L., Di Rosa G., Cappa P., Petrarca M., Castelli E., Krebs H.I. The impact of robotic rehabilitation in children with acquired or congenital movement disorders. *Eur. J. Phys. Rehabil. Med.* 2009; 45 (1): 135–141.
29. Krebs H.I., Fasoli S.E., Dipietro L., Fragala-Pinkham M., Hughes R., Stein J., Hogan N. Motor learning characterizes habilitation of children with hemiplegic cerebral palsy. *Neurorehabil. Neural Repair.* 2012; 26 (7): 855–860. DOI: 10.1177/1545968311433427.
30. Qiu Q., Ramirez D.A., Saleh S., Fluet G.G., Parikh H.D., Kelly D., Adamovich S.V. The New Jersey Institute of Technology Robot-Assisted Virtual Rehabilitation (NJIT-RAVR) system for children with cerebral palsy: A feasibility study. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2009; 6: 40. DOI: 10.1186/1743-0003-6-40.
31. Wood K.C., Lathan C.E., Kaufman K.R. Feasibility of gestural feedback treatment for upper extremity movement in children with cerebral Palsy. *IEEE Trans. Neural. Syst. Rehabil. Eng.* 2013; 21 (2): 300–305. DOI: 10.1109/TNSRE.2012.2227804.
32. Masia L., Frascarelli F., Morasso P., Di Rosa G., Petrarca M., Castelli E., Cappa P. Reduced short term adaptation to robot generated dynamic environment in children affected by cerebral palsy. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2011; 8: 28. DOI: 10.1186/1743-0003-8-28.
33. Fluet G.G., Qiu Q., Kelly D., Parikh H.D., Ramirez D., Saleh S., Adamovich S.V. Interfacing a haptic robotic system with complex virtual environments to treat impaired upper extremity motor function in children with cerebral palsy. *Dev. Neurorehabil.* 2010; 13 (5): 335–345. DOI: 10.3109/17518423.2010.501362.
34. Qiu Q., Adamovich S., Saleh S., Lafond I., Merians A.S., Fluet G.G. A comparison of motor adaptations to robotically facilitated upper extremity task practice demonstrated by children with cerebral palsy and adults with stroke. *IEEE Int. Conf. Rehabil. Robot.* 2011; 2011: 5975431. DOI: 10.1109/ICORR.2011.5975431.
35. Fasoli S.E., Fragala-Pinkham M., Hughes R., Krebs H.I., Hogan N., Stein J. Robotic therapy and botulinum toxin type A: A novel intervention approach for cerebral palsy. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 2008; 87 (12): 1022–1025. DOI: 10.1097/PHM.0b013e31817fb346.
36. Котов С.В., Турбина Л.Г., Бобров П.Д., Фролов А.А., Павлова О.Г., Курганская М.Е., Бирюкова Е.В. Реабилитация больных, перенесших инсульт, с помощью биоинженерного комплекса «интерфейс мозг–компьютер + экзоскелет». *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2014; 114 (12–2): 66–72.
37. Мокиенко О.А., Люкманов Р.Х., Черникова Л.А., Супонева Н.А., Пирадов М.А., Фролов А.А. Интерфейс мозг–компьютер: первый опыт клинического применения в

- России. *Физиология человека*. 2016; 42 (1): 31–39. DOI: 10.7868/S0131164616010136.
38. Фролов А.А., Бобров П.Д. Интерфейс мозг-компьютер: нейрофизиологические предпосылки и клиническое применение. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2017; 67 (4): 365–376. DOI: 10.7868/S0044467717040013.
 39. Démas J., Bourguignon M., Périvier M., De Tiège X., Dinomais M., Van Bogaert P. Mu rhythm: State of the art with special focus on cerebral palsy. *Ann. Phys. Rehabil. Med.* 2019; S18770657(19): 30094–30096. DOI: 10.1016/j.rehab.2019.06.007.
 40. Berchicci M., Zhang T., Romero L., Peters A., Annett R., Teuscher U. Development of mu rhythm in infants and pre-school children. *Dev. Neurosci.* 2011; 33: 130–143. DOI: 10.1159/000329095.
 41. Pfurtscheller G., Neuper C., Krausz G. Functional dissociation of lower and upper frequency mu rhythms in relation to voluntary limb movement. *Clin. Neurophysiol.* 2000; 111: 1873–1879. DOI: 10.1016/S1388-2457(00)00428-4.
 42. Frolov A.A., Biryukova E.V., Bobrov P.D., Alexandrov A.V., Húsek D., Mokienko O.A. Principles of motor recovery in post-stroke patients using hand exoskeleton controlled by the brain-computer interface based on motor imagery. *Neural Netw. World.* 2017; 27(1): 107–137. DOI: 10.14311/NNW.2017.27.006.
 43. Котов С.В., Бирюкова Е.В., Турбина Л.Г., Кондур А.А., Зайцева Е.В. Динамика восстановления у пациентов с постинсультными двигательными нарушениями при повторных курсах нейрореабилитации с применением экзоскелета кисти, управляемого интерфейсом мозг-компьютер. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2017; 67(4): 445–452. DOI: 10.7868/S0044467717040062.
 44. Ponce P., Molina A., Balderas D.C., Grammatikou D. Brain computer interfaces for cerebral palsy. In book «Cerebral palsy challenges for the future»; ed. by Emira Suraka. 2014. DOI: 10.5772/57084.
 45. Jochumsen M., Shafique M., Hassan A., Niazi I.K. Movement intention detection in adolescents with cerebral palsy from single-trial EEG. *J. Neural Eng.* 2018; 15 (6): 066030. DOI: 10.1088/1741-2552/aae4b8.
 46. Daly I., Billinger M., Laparra-Hernández J., Aloise F., Lloria García M., Faller J., Scherer R., Müller-Putz G. On the control of brain-computer interfaces by users with cerebral palsy. *Clin. Neurophysiol.* 2013; 124: 1787–1797. DOI: 10.1016/j.clinph.2013.02.118.
 47. Kim T.-W., Lee B.-H. Clinical usefulness of brain-computer interface-controlled functional electrical stimulation for improving brain activity in children with spastic cerebral palsy: a pilot randomized controlled trial. *J. Phys. Ther. Sci.* 2016; 28: 2491–2494. DOI: 10.1589/jpts.28.2491.
 48. Alcaide-Aguirre R.E., Warschawsky S.A., Brown D., Aref A., Huggins J.E. Asynchronous brain-computer interface for cognitive assessment in people with cerebral palsy. *J. Neural Eng.* 2017; 14: 066001. DOI: 10.1088/1741-2552/aa7fc4.
 49. Riccio A., Holz E.M., Arico P., Leotta F., Aloise F., Desideri L., Rimondini M., Kubler A., Mattia D., Cincotti F. Hybrid P300-Based Brain-Computer Interface to Improve Usability for People With Severe Motor Disability: Electromyographic Signals for Error Correction During a Spelling Task. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2015; 96: 54–61. DOI: 10.1016/j.apmr.2014.05.029.
 50. Ларина Н.В., Корсунская Л.Л., Власенко С.В. Комплекс «Экзокисть-2» в реабилитации верхней конечности при детском церебральном параличе с использованием неинвазивного интерфейса «мозг-компьютер». *Нервно-мышечные болезни*. 2019; 9 (4): 44–50. DOI: 10.17650 / 2222-8721-2019-9-4-44-50.

Сведения об авторах

Ларина Наталья Валерьевна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра нервных болезней и нейрохирургии, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0002-6996-4823.

Павленко Владимир Борисович, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой общей психологии и психофизиологии, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-3311-3688.

Корсунская Лариса Леонидовна, д-р мед. наук, зав. кафедрой нервных болезней и нейрохирургии, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-0958-130X.

Дягилева Юлия Олеговна, канд. биол. наук, доцент, кафедра общей психологии и психофизиологии, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0002-8906-7740.

Фалалеев Андрей Павлович, д-р техн. наук, и.о. ректора КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-3624-4544.

Михайлова Анна Андреевна, канд. биол. наук, ст. преподаватель, кафедра физиологии человека и животных и биофизики, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0002-6386-9147.

Орехова Лилия Сергеевна, вед. специалист по научно-аналитической работе, Таврическая академия, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-0353-641X.

Пономарева Ирина Валерьевна, аспирант, кафедра нервных болезней и нейрохирургии, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-4092-4534.

(✉) Павленко Владимир Борисович, e-mail: vpav55@gmail.com.

Поступила в редакцию 04.03.2020

Подписана в печать 16.06.2020

Хронический эндометрит и репродуктивные нарушения: версии и контраверсии

Лещенко О.Я.

*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (НЦ ПЗСРЧ)
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16*

РЕЗЮМЕ

Частота бесплодия в разных регионах России и в мире среди супружеских пар репродуктивного возраста колеблется от 10 до 21%. Существует два основных фактора, определяющих эффективность результатов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и переноса эмбрионов: функциональная полноценность эмбриона на стадии бластоцисты и отсутствие внутриматочной патологии. Одной из главных причин неполноценной или неудачной имплантации являются нарушенная функция и поврежденная структура эндометрия, часто обусловленная хроническим воспалительным процессом в эндометрии. Хронический эндометрит (ХЭ) – это состояние, связанное с нарушением сосуществования между микроорганизмами и иммунной системой макроорганизма в эндометрии. В большинстве случаев ХЭ не имеет заметных клинических признаков, а его распространенность на основании гистологического заключения биопсии эндометрия составляет около 10%. Связь между ХЭ и репродуктивными нарушениями, такими как имплантационная недостаточность и повторный выкидыш, стала предметом пристального внимания многих современных исследований. Обращает на себя внимание распространенность хронического эндометрита у женщин с необъяснимым бесплодием, а диагностика и лечение хронического эндометрита повышают частоту спонтанных беременностей и живорождений у таких пациенток. Диагноз хронического эндометрита является не простым, а зачастую противоречивым и требует тесного сотрудничества специалистов – репродуктологов и патоморфологов.

В этом обзоре мы рассмотрели литературу по вопросам патофизиологии ХЭ, возможных причин, ассоциированных с бесплодием, а также привели результаты научных исследований, касающихся диагностики и лечения ХЭ, которые были опубликованы в коллекции PubMed по состоянию на май 2019 г. в формате изложения версий и контраверсий.

Ключевые слова: хронический эндометрит, эндометрий, оплодотворение, ВРТ, ЭКО, гистероскопия, повторная имплантационная недостаточность, периодическая потеря беременности.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Статья подготовлена в рамках государственной бюджетной темы «Патогенетически обоснованные эффективные технологии сохранения и восстановления репродуктивного здоровья при социально значимых инфекционных заболеваниях» (№ 0542-2014-0005).

Для цитирования: Лещенко О.Я. Хронический эндометрит и репродуктивные нарушения: версии и контраверсии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 166–176. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-166-176>.

Chronic endometritis and reproductive disorders: versions and contraversions (review)

Leshchenko O.Ya.

*Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems
16, Timiryazeva Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation*

ABSTRACT

Among married couples of childbearing age, the frequency of infertility in different regions of Russia and the world ranges from 10 to 21%. The effectiveness of the results of in vitro fertilization (IVF) and embryo transfer is determined by two factors: the functional completeness of the embryo at the blastocyst stage and the absence of intrauterine pathology. One of the main causes of imperfect or unsuccessful implantation is an impaired function and damaged endometrial structure, which is often caused by a chronic inflammatory process in the endometrium.

Chronic endometritis (CE) is a condition associated with a violation of the coexistence between microorganisms and the immune system of a macroorganism in the endometrium. A majority of CE cases produce no noticeable clinical signs or mild symptoms and the CE prevalence rate is approximately 10% based on the histological findings of an endometrial biopsy.

The interconnection between CE and reproductive dysfunctions, such as implant damage and repeated miscarriage, has been studied by many researchers at the present stage. Chronic endometritis is common among patients with unexplained infertility. Diagnosis and treatment of chronic endometritis increase the frequency of spontaneous pregnancies and live births in such patients. The diagnosis of chronic endometritis is not simple, often contradictory, and, thus, requires close cooperation between the fertility specialist and the pathologist. In this study, we reviewed the literature on the pathophysiology of chronic endometritis and how it may be associated with infertility, as well as the literature regarding the diagnosis and treatment of CE, published at PubMed as on May 2019 in a version and contra-version format.

Key words: ART, chronic endometritis, endometrium, female infertility, hysteroscopy, IVF, repeated implantation failure, recurrent pregnancy loss.

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

Source of financing. This article was prepared as part of the State Budget Topic "Pathogenetically substantiated effective technologies for maintaining and restoring reproductive health in socially significant infectious diseases" (No. 0542-2014-0005).

For citation: Leshchenko O.Ya. Chronic endometritis and reproductive disorders: versions and contraversions (review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 166–176. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-166-176>.

ВВЕДЕНИЕ

Среди супружеских пар детородного возраста частота бесплодия в разных регионах России и в мире варьирует от 10 до 21% [1–3]. Во многих странах эффективность результатов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и переноса эмбрионов (ПЭ) определяется двумя факторами – функциональной полноценностью эмбриона на стадии бластоцисты и отсутствием внутриматочной патологии. Одной из главных причин неполноценной или неудачной имплантации являются нарушенная функция и поврежденная структура эндометрия, часто обусловленная хроническим воспалительным процессом в эндометрии. Хронический эндометрит

(ХЭ) – клиничко-морфологический синдром, при котором в результате персистирующего повреждения эндометрия инфекционным агентом возникают множественные вторичные морфофункциональные изменения, нарушающие циклическую биотрансформацию и рецептивность слизистой оболочки тела матки [1].

НОЗОЛОГИЧЕСКАЯ ФОРМА ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА И ЕГО РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ

Необходимость выделения хронического эндометрита в отдельную нозологическую формулировку долгое время обсуждалась в научной среде, причина

этой дискуссии является существование двух разнонаправленных мнений о роли инфекционного агента в генезе ХЭ. Одни исследователи [4] придерживались точки зрения, что полость матки стерильна, и в случаях проникновения в эндометрий условно-патогенной микрофлоры (УПМ) примерно в 60% случаев возникает патологический процесс. Другие авторы [5] утверждали, что слизистая оболочка матки не может быть стерильной из-за перманентной микробной колонизации из нижних отделов полового тракта. В настоящее время ХЭ выделен как самостоятельная нозологическая единица в Международной классификации болезней и причин смерти 10-го пересмотра: класс XIV. N071.1 [1].

Распространенность ХЭ варьирует от 10 до 85%, что связано с трудностями диагностики, клинической и морфологической верификации заболевания [6, 7]. По различным данным, среди больных с бесплодием число случаев ХЭ составляет в среднем 10% (от 7,8 до 15,4%). В 80–90% ХЭ выявляется у женщин детородного возраста и обуславливает у них нарушения менструальной и репродуктивной функций, приводя, в конечном итоге, к развитию бесплодия, неудачам в программах ЭКО и ПЭ, невынашиванию беременности и осложненному течению гестационного процесса и родов [6, 7]. Среди женщин с верифицированным ХЭ у 60% диагностируется бесплодие (в 22,1% – первичное, 36,5% – вторичное), неудачные попытки ЭКО и ПЭ в анамнезе отмечены у 40% женщин. У пациенток с несколькими неудачными попытками ЭКО распространенность ХЭ достигает 80%, причем среднее количество неудач в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) приблизительно равняется трем на одну женщину. По данным других исследований [8], ХЭ является единственной диагностированной причиной невынашивания беременности в 47–52%.

Зарубежные исследования демонстрируют показатель распространенности ХЭ 10–11% на основании гистологического заключения биопсии эндометрия у пациенток, перенесших гистерэктомию из-за доброкачественных гинекологических состояний [9]. У 15% бесплодных женщин, перенесших циклы экстракорпорального оплодотворения, выявляли ХЭ, а показатель распространенности ХЭ составлял 42% у пациенток с рецидивирующей имплантационной недостаточностью (РИФ) [10]. Согласно недавнему проспективному исследованию пациентов с РИФ, показатель распространенности ХЭ составил 14 и 27% в группе привычного невынашивания беременности (ПНБ) [11]. Учитывая эти результаты, ХЭ может рассматриваться гинекологическим заболеванием, которое нельзя игнорировать в контексте лече-

ния бесплодия и вспомогательных репродуктивных технологий.

Однако J.C. Kasius и соавт. [12] сообщили, что клинические проявления хронического эндометрита являются минимальными, объясняя этот факт низкой верификацией – диагностировали это состояние только у 2,8% бессимптомных бесплодных женщин с нормальным трансвагинальным ультразвуковым исследованием. Те же авторы сообщили, что хронический эндометрит не оказал негативного влияния на репродуктивный исход при обычных циклах экстракорпорального оплодотворения или внутритоплазматической инъекции сперматозоидов, но подчеркнули, что низкая распространенность и неизвестная клиническая значимость эндометрита требуют дальнейших клинических исследований [12].

Большинство исследований склоняются, что ХЭ, как правило, протекает бессимптомно или имеет неспецифические клинические проявления, такие как аномальное маточное кровотечение (АМК), хроническая тазовая боль и лейкоррея [13]. ХЭ также называют причиной ПНБ, определяемой как три или более выкидышей до 20 нед беременности (у 3% всех пар) [14].

В недавних исследованиях было продемонстрировано, что у женщин с повторными абортами часто обнаруживается хронический эндометрит (68,3%), и что женщины, которые получали адекватное лечение антибиотиками, имели значительно более высокую частоту успешных беременностей по сравнению с женщинами, которые не лечились. Также в этой популяции наиболее распространенными инфекционными агентами были обычные условно-патогенные бактерии и микоплазмы [14]. Авторы выделяют и другие симптомы, которые связывают с хроническим эндометритом [13]: АМК (такая симптоматика может проявляться в виде межменструальных выделений или метрорагий); однако до настоящего времени связь между аномальным маточным кровотечением и хроническим эндометритом окончательно не ясна. Еще один симптом – это дисменорея. Текущая гипотеза определяет в качестве основной причины дисменореи действие простагландинов, которые высвобождаются через клеточные мембраны эндометрия, поврежденные воспалительным процессом. Диспареуния – болезненные ощущения при половом сношении. Лейкоррея и симптомы со стороны мочевыводящих путей: иногда появляются неприятные, гнойные выделения из влагалища с повышенной частотой мочеиспускания и (или) симптомами, сходными с циститом, а также с сопутствующим раздражением

мочевого пузыря. Лихорадка: повышенная в острой фазе; в некоторых случаях умеренная лихорадка в хронической форме.

ПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

Традиционно предполагается, что полость матки стерильна, но на самом деле в полости матки небеременных женщин были обнаружены микроорганизмы [15]. Микроорганизмы, восходящие от нижних половых путей, могут колонизировать полость матки; однако ожидается, что защитные механизмы хозяина ограничивают пролиферацию и инвазию бактерий [15, 16]. Эти механизмы включают слизистую оболочку шейки матки [17, 18], эпителий эндометрия и его иммунные клеточные компоненты (нейтрофилы, макрофаги и естественные клетки-киллеры), а также элементы врожденной иммунной системы, в том числе природные антимикробные пептиды, присутствующие в эндометрии [18].

В пользу того, что ХЭ является первичным, развиваясь непосредственно в эндометрии из-за внедрения экзогенных штаммов микроорганизмов, передаваемых половым путем, или размножения УПМ в эндометрии после внутриматочных лечебных и диагностических манипуляций, свидетельствуют 95% наблюдений. И лишь в 5% воспаление слизистой внутренней оболочки матки носит вторичный характер, развиваясь при попадании инфекции в эндометрий гематогенным, лимфогенным или нисходящим путями из экстрагенитальных очагов [19, 20].

Микробиом эндометрия стали изучать не так давно. Z. Koen впервые в 1978 г. опубликовал исследование о персистенции микоплазм в эндометрии [21]. Впоследствии в эндометрии были обнаружены более 20 видов персистенции микроорганизмов условно-патогенной группы. Известно и точное число выделенных 129 штаммов, и в их числе обнаружены облигатные анаэробы – 64% (бактероиды, эубактерии, пептострептококки, клостридии), микроаэрофилы – 31,8% (генитальные микоплазмы и дифтероиды), факультативные анаэробы – 12%. Примечательно, что только у 14% женщин выделены монокультуры микробов, тогда как у остальных обнаружены ассоциации 2–6 видов микроорганизмов.

У женщин с хроническим эндометритом микробиота вагинального биотопа характеризуется дефицитом лактобактерий (52,5%), низкой концентрацией лактобактерий (44,3%), высокой частотой выделения энтерококков (59%), коагулазонегативных стафилококков (57,4%) и многокомпонентных ассоциаций (67,2%). У тех же женщин микробиота кишечного

биотопа характеризовалась высокой частотой обнаружения энтерококков (62,2%) и дисбиозом 1-й и 2-й степени (89,2%); микробиота носоглоточного биотопа характеризовалась дефицитом индигенной флоры и высокой частотой *S. pneumoniae* (25,5%) [22, 23].

Авторами сделано предположение, что у женщин с хроническим эндометритом представители нормобиоты во всех исследованных биотопах открытых полостей состоят в симбиотических отношениях с УПМ, что свидетельствует о снижении колонизационной резистентности нормобиоты и ее неспособности подавлять патогенную биоту [22, 23].

Микроорганизмы образуют биопленки (т.е. матрицы из полимерных соединений) в качестве стратегий против иммунных механизмов хозяина, а также против природных и синтетических антибиотиков [24]. Фактически хронические инфекции, такие как клапанный эндокардит, средний отит, хронический бактериальный простатит и периодонтит, связаны с наличием бактериальных биопленок, которые способствуют субклинической колонизации полости матки [25, 26].

Одной из основных и сложных проблем при лечении бесплодия, невынашивания беременности и преждевременных родов является устойчивое влияние микробного фактора на качество эндометрия [6, 27]. В септических условиях микроорганизмы являются лишь частью проблемы, сепсис также связан с проблемами контроля воспаления и (или) противовоспалительной реакции хозяина [28]. В исследовании механизмов, вовлеченных в преждевременные роды, было обнаружено, что микроорганизмы, присутствующие на поверхности эндометрия, не вызывают провоспалительной реакции и поддерживают мирное сосуществование с хозяином в течение нормальной беременности [24, 29, 30]. Однако, если хозяин (мать, эмбрион/плод или оба) «узнал» о микроорганизмах через рецепторы распознавания и инициировал провоспалительный ответ, мирное сосуществование больше не будет возможным. Изменения в паттернах вирулентности, таких как планктонные бактерии, высвобождаемые из биопленок, также вызвали изменение баланса между микроорганизмами и хозяином, что приводило к преждевременным родам, вызванным воспалением.

Успешная имплантация эмбриона и поддержание беременности являются результатом тонкого баланса между эмбрионом и эндометрием и отражают преобладание профиля цитокинов Th2 по сравнению с профилем цитокинов Th1 в эндометрии. Поэтому любые условия, которые нарушают этот баланс, могут повредить восприимчивость эндометрия.

Было обнаружено, что различные иммунокомпетентные клетки эндометрия секретируют хемокины, привлекая естественные киллеры и макрофаги из циркулирующей периферической крови в эндометрий [31, 32]. Кроме того, трофобласты способствуют выработке провоспалительных цитокинов из рекрутированных моноцитов и макрофагов, которые играли значительную роль в имплантации, а также формировании плаценты [32]. Увеличение количества НК-клеток в периферической крови приводит к увеличению цитокинового баланса в пользу пути Th1 [33]. Это может оказать негативное влияние на инвазию и имплантацию трофобласта, что увеличивает вероятность преждевременной потери беременности.

Версия, что инфекция является основой ХЭ [34], подкреплена исследованием 438 случаев гистероскопически диагностированного ХЭ. Авторы сообщили, что 73,1% случаев показали ≥ 1 положительного обнаружения патогенов. Большинство инфекций эндометрия были распространенными бактериальными инфекциями (58%), включая грамотрицательные бактерии, а *Ureaplasma urealyticum* обнаружена в 10% случаев. Хламидиоз был обнаружен в 2,7% случаев. Также отмечено, что грамотрицательная бактериальная колонизация эндометрия может снизить скорость имплантации эмбрионов при одновременном увеличении частоты выкидышей. Эндотоксины грамотрицательных бактерий могут вызывать более преобладающий ответ Th1 на децидуальные ткани, чтобы стимулировать выработку провоспалительных цитокинов, создавая тем самым паракринную среду, которая может привести к повреждению эмбриона, нарушению имплантации или самопроизвольному выкидышу [35].

Таким образом, хроническое воспаление эндометрия может изменять выработку цитокинов эндометрия, нарушать функцию эндометрия [36], приводить к формированию патологических структур подмножеств лимфоцитов в эндометрии и индуцировать измененную секрецию паракринных факторов, что в конечном итоге может снизить восприимчивость эмбрионов к эндометрию [33]. Фактически в случаях ХЭ наблюдалась отсроченная дифференцировка эндометрия в средней секреторной фазе [37]. Пролиферативный эндометрий был обнаружен в случаях ХЭ даже во время секреторной фазы из-за увеличения рецепторов эстрогена и связанной с пролиферацией клеток ядерной экспрессии маркера Ki-67 [38].

Е. Cicinelli и соавт. [39] в недавнем пилотном исследовании продемонстрировали, что хронический эндометрит был состоянием, часто связанным с РИФ (66,0%). Это было примерно вдвое больше по

сравнению с 30,3% таких случаев в исследовании Е.В. Johnston-MacAnanny и соавт. [40]. В этом популяционном исследовании наиболее распространенными инфекционными агентами были обычные бактерии и микоплазмы. Кроме того, нормализация гистероскопической картины эндометрия была связана со значительным улучшением репродуктивных результатов цикла ЭКО, проведенного после лечения антибиотиками.

ДИАГНОСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

Как правило, ХЭ диагностируется с помощью биопсии эндометрия, а наличие плазматических клеток в строме эндометрия является общепринятым гистологическим диагностическим критерием [9, 12]. Однако точность гистологических диагнозов может быть поставлена под сомнение такими состояниями, как инфильтрация мононуклеарных воспалительных клеток, пролиферация стромальных клеток, появление плазматоцитоподобных клеток стромы или выраженная преддецидивная реакция в позднем секреторном эндометрии. Поэтому частота ошибочного диагноза может быть выше идеальной [12, 13]. Кроме того, гистологическое обнаружение ХЭ является достаточно трудоемким.

Окрашивание гематоксилином и эозином (Н & Е) у женщин с бесплодием и повторными самопроизвольными выкидышами в анамнезе имело низкий уровень диагностики ХЭ (<10%) [41]. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование, способное обнаруживать антигены, специфичные для клеток плазмы CD38 и CD138, подтверждало их присутствие внутри эндометрия [42] и показало значительно более высокую чувствительность диагностики ХЭ (56% по сравнению с 13% для метода окрашивания Н & Е) [43]. Фактически обнаружено, что «плазматический эндометрит» не коррелирует с бактериальной колонизацией эндометрия или клинической картиной воспалительных заболеваний органов малого таза [44].

В реальных случаях клинической практики «плазматический эндометрит» был гистологически диагностирован у 39% женщин, которым выполнена биопсия эндометрия, при этом у 82% женщин отмечены положительные результаты в микробных культурах образцов биопсии ХЭ. Так, С.Л. Haggerty и соавт. [45] сообщили, что «гистологический эндометрит» не выявил связи с репродуктивными потерями в рандомизированных контролируемых исследованиях использования антибиотиков у пациенток с репродуктивными нарушениями. Эти данные свидетельствуют о том, что гистологический диагноз ХЭ не может определить, какие пациенты могут полу-

чить пользу от дальнейшего лечения антибиотиками, а какие нет, с точки зрения связанных с фертильностью исходов.

Жидкостная гистероскопия является еще одним мощным инструментом для диагностики ХЭ [46, 47]. Диагностические признаки ХЭ при жидкостной гистероскопии включают микрополипы, отек стромы, очаговую или диффузную гиперемию. Гистероскопическая оценка воспалительных заболеваний эндометрия показала гораздо большую диагностическую чувствительность, чем культуральный метод исследования эндометрия [48]. По сравнению с гистологическим диагнозом, жидкостная гистероскопия показала очень высокую диагностическую точность (93,4%) [46, 47, 49]. Расхождения между гистероскопическими данными и гистологическими наблюдениями могут быть связаны со множеством ограничений, относящихся к гистологическому диагнозу ХЭ [50].

Другие исследования анализируют изменения качественно-количественного состава вагинального и других биотопов открытых полостей организма и наличие у микроорганизмов генов патогенности, а также выяснение вопроса об их взаимосвязи с маркерами воспаления и факторами, способствующими хроническому процессу в матке. Исследователи отмечают повышенный уровень патогенности у доминирующего вида *E. faecalis* и *E. faecium* в биотопах открытых полостей (вагинальный, кишечный и носоглоточный) у женщин с ХЭ, что проявляется в увеличении количества аутоштаммов энтерококков с нуклеотидными последовательностями гена патогенности, синтезирующего сериновую протеиназу (*sprE*) (пенетрация, колонизация, повреждение тканей). А наличие морфологических признаков ХЭ (воспалительных инфильтратов, фиброза стромы эндометрия, склеротических изменений стенок артерий и плазматических клеток) ассоциируется с наличием гена сериновой протеиназы (*sprE*) у преобладающих энтерококков в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах [22, 23, 51].

ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

Все обнаруженные нами исследования иностранных коллег сводятся к тому, что терапия хронического эндометрита основана на применении антибиотиков широкого спектра действия [52, 53]. Как правило, лекарством выбора является доксициклин в дозах 100 мг каждые 12 ч в течение 2 нед или альтернативно возможно введение цефалоспоринов, макролидов или хинолонов. Для партнера предпочтительно также проходить такое же лечение антибиотиками. В случае неудачи антибиотикотерапии и

(или) при сохранении наличия эндометрита следует рассмотреть культуру эндометрия с относительной антибиограммой и назначить соответствующее лечение антибиотиками.

В частности, в соответствии с руководящими принципами Центра по контролю заболеваний, рекомендуются методы лечения в случае [39] положительного результата на грамотрицательные бактерии: ципрофлоксацин 500 мг два раза в сутки в течение 10 сут в качестве терапии первой линии; грамположительные бактерии: амоксициллин + клавуланат 1 г два раза в сутки в течение 8 сут; инфекции микоплазмы и *U. urealyticum*: джозамицин 1 г два раза в сутки в течение 12 сут; в то время как в случае персистенции: миноциклин 100 мг два раза в сутки в течение 12 сут; грамотрицательные культуры: цефтриаксон 250 мг в/м в однократной дозе плюс доксициклин 100 мг перорально два раза в сутки в течение 14 сут с метронидазолом 500 мг перорально два раза в сутки в течение 14 сут. В случае сохранения признаков хронического эндометрита при последующей гистероскопии протокол может повторяться до трех раз.

При наличии подтвержденного туберкулезного эндометрита пациенту следует назначить специальную антибактериальную терапию по поводу туберкулеза (изониазид, этамбутол, рифампицин и пипразинамид в течение 2 мес, затем изониазид и рифампицин в течение еще 4 мес) [54, 55].

В ретроспективном исследовании пациенток с необъяснимой рецидивирующей имплантационной недостаточностью и ХЭ, диагностированным при помощи диагностической гистероскопии, E. Cicinelli и соавт. [14] сообщили, что частота наступления клинической беременности в группе, где гистероскопические показатели нормализовались через 1 год после лечения антибиотиками, была значительно выше, чем в группе сравнения – 74,8% (88 из 118) против 24,4% (22 из 90). Проспективное исследование D.B. McQueen и соавт. [41] показало, что частота живорождений на одну беременность у пациентов с привычным невынашиванием беременности и ХЭ значительно увеличилась, до 56% после лечения антибиотиками по сравнению с 7% до лечения.

Были проведены исследования у пациентов с РИФ и ХЭ, проходящих циклы экстракорпорального оплодотворения – переноса эмбрионов (ЭКО-криоперенос). Согласно ретроспективному исследованию R. Yang и соавт. [56], уровень удач имплантации вырос до 18,6% (18 из 97) против 4,9% (3 из 61), частота наступления беременности – до 29,3% (12 из 41) против 7,4% (2/27), ЭКО-циклы значительно увеличились после лечения антибиотиками по сравнению

с результатами до лечения. Е. Cicinelli и соавт. [48] провели ретроспективное исследование пациентов с РИФ, перенесших новые циклы ЭКО-крио-перенос, и обнаружили, что частота клинических беременностей и частота живорождений в группе с нормальными гистероскопическими показателями после лечения антибиотиками были значительно выше, чем в группе с последовательными результатами КЭ – 65% против 33% и 60,8% против 13,3% соответственно. Приведенные выше результаты свидетельствуют о том, что ХЭ играет важную роль в генезе бесплодия.

В клинической практике активно обсуждается целесообразность диагностической гистероскопии в лечении ХЭ. В некоторых исследованиях было высказано предположение, что царапина или повреждение эндометрия, связанные с диагностической гистероскопией, могут увеличить частоту имплантации и клинических беременностей у женщин с предшествующими неудачами ЭКО-крио-перенос [57–59]. Гипотетическая биологическая основа для этого предложения заключается в следующем [60]: во-первых, местная травма в эндометрии может увеличить скорость имплантации, что приведет к децидивации. Во-вторых, цитокины и гормон роста, выделяемые в процессе восстановления после искусственного повреждения эндометрия, могут оказывать хорошее влияние на имплантацию эмбрионов. В-третьих, искусственное повреждение эндометрия может задерживать более раннее созревание эндометрия, связанное с гиперстимулированными яичниками в следующем цикле ЭКО-крио-перенос.

Недавние метаанализы [61, 62], касающиеся гистероскопии или искусственных повреждений эндометрия при ВРТ, сообщили о значительном улучшении частоты клинической беременности. Тем не менее эта возможность еще не подтверждена хорошо разработанными РКИ, поэтому предложение должно пока оставаться гипотетическим.

Анализ отечественной литературы и исследований, посвященных принципам и методам лечения хронического эндометрита, характеризуется наличием второго этапа лечения (после антибиотикотерапии) и многообразием используемых методов. Большое количество авторов указывают на высокую эффективность физиолечения: применяют электроимпульсную терапию, интерференционные токи, инфракрасное лазерное облучение, магнитотерапию, гирудотерапию. Физиотерапевтические методы способствуют улучшению гемодинамики органов малого таза, стимуляции функции рецепторов, ускорению процессов регенерации эндометрия, повышению иммунного статуса [63].

Дискуссионным остается вопрос о целесообразности использования гормональной терапии. Одни авторы считают ее неэффективной при данной патологии, кроме случаев наличия у пациенток гипопункции яичников или ановуляции [64]. Другие утверждают, что при хроническом воспалении и наличии патологической регенерации ткани заместительная гормональная терапия оказывает положительный противовоспалительный эффект [6, 65]. Коррекция иммунного статуса занимает особое место в лечении хронического эндометрита в отечественной литературе. При персистенции инфекции в организме особое значение имеет применение индукторов интерферонгенеза. На основании данных изучения иммунного и интерферонового статуса пациенток с хроническим эндометритом коррекцию иммунных нарушений проводят с помощью ряда лекарственных препаратов: галавит, иммуномакс, полиоксидоний [65, 66]. Сеансы внутриматочной озонотерапии и внутриматочной лазеротерапии эндометрия с помощью He-Ne-лазера показали эффективность у женщин с бесплодием и привычным невынашиванием [66, 67]. Контроль за эффективностью комплексных терапевтических мероприятий рекомендуется проводить не ранее, чем через 2 мес после окончания всего курса лечения с учетом физиотерапии. При этом оценивают динамику клинических симптомов, эхографических и доплерометрических показателей, элиминацию микробных агентов, а также восстановление морфологической структуры ткани по данным контрольной аспирационной биопсии.

Есть исследования по терапии бактериофагами, которые оказывали хороший лечебный эффект в 78,3–93,6% случаев, также имеются данные о проведении внутриматочных орошений жидким бактериофагом в дозе 20 мл ежедневно в течение 5 сут с выраженным клиническим эффектом [68]. Лечебный эффект бактериофагов связан с литической активностью, иммуномодулирующим антигенным свойством находящихся в фаголизатах компонентов разрушенных микробных клеток, особенно при неоднократном введении препарата [69]. Большинство авторов едины во мнении, что использование бактериофаготерапии не означает полный отказ от антибиотиков, однако будет способствовать их назначению строго по показаниям [65, 66].

На эффективность метаболической терапии, включающей применение рибоксина, вобэнзима, витаминотерапии, глутаминовой кислоты, системной энзимотерапии, актовегина указывают несколько наблюдений [65]. Некоторые исследователи считают необходимым и целесообразным прием пробиотиков

вторым этапом после антибактериального лечения, апеллируя тем, что снижается риск развития гастроинтестинальных расстройств, вызванных антибиотикотерапией, и инициируется восстановление кишечного, влагалищного микробиоценоза [69]. Однако все эти исследования не являются рандомизированными и плацебо-контролируемыми, поэтому необходимо проведение хорошо спланированных РКИ.

Критериями эффективности лечения хронического эндометрита являются: купирование клинических проявлений в сочетании с элиминацией патогенной микрофлоры из полости матки на фоне нормализации в эндометрии уровня иммунокомпетентных клеток, провоспалительных цитокинов; восстановление микроциркуляции эндометрия; улучшение реологических свойств крови, снижение интенсивности процессов фиброобразования и склерозирования. Заключительным критерием успешного лечения является восстановление репродуктивной функции с последующим наступлением беременности и последующим живорождением [70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время ограниченные доказательства подтверждают, что гистероскопия может быть мощным инструментом для физического удаления бактериальных биопленок в эндометрии, которые способствуют патогенетическому развитию ХЭ. После гистероскопии репродуктивные результаты в последующих циклах ЭКО могут улучшаться у пациенток с РИФ на фоне латентного ХЭ. Недавние метаанализы, касающиеся гистероскопии или искусственных повреждений эндометрия при ВРТ (*hatching*), сообщили о значительном улучшении частоты клинической беременности. Тем не менее эта возможность еще не подтверждена хорошо разработанными РКИ, поэтому предложение должно пока оставаться гипотетическим.

До настоящего времени ХЭ остается довольно сложной проблемой с точки зрения нозологии, патогенетических механизмов, диагностики и лечения в аспекте репродуктивных нарушений, в том числе это было связано с плохими репродуктивными результатами в контексте ВРТ. В случаях ХЭ мирное сосуществование между иммунитетом хозяина и микроорганизмами нарушается, распределение лимфоцитов, участвующих в имплантации эмбрионов, и, в конечном счете, восприимчивость к эндометрию снижаются из-за неадекватной секреции различных цитокинов. Недавние клинические исследования пациенток с ПНБ показали, что лечение антибиотиками при ХЭ может привести к значительным изме-

нениям в будущих исходах беременности. Применение и эффективность различных методов лечения, как второй этап лечения ХЭ, хорошо разработанных РКИ. Из-за отсутствия качественных данных в литературе такие методы лечения до сих пор остаются гипотетическими и эмпирическими. Должны быть проведены хорошо спланированные проспективные исследования или РКИ, чтобы прояснить возможные корреляции между ХЭ и плохими репродуктивными исходами, а также эффективность вмешательств в эндометрий. ХЭ является клинически значимой нозологической единицей с позиции репродуктологии, и требуется дальнейшее изучение особенностей его этиологии и патогенеза с целью улучшения понимания течения воспалительного процесса и усовершенствования методов лечения и профилактики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: современные взгляды на проблему. *Consilium Medicum*. 2011; 13: 6: 36–39.
2. Боева А.В., Лещенко Я.А., Кулешова М.В., Лещенко О.Я., Черкашин А.К. Семейно-демографические процессы в Иркутской области. Иркутск, 2017: 212.
3. Лещенко О.Я., Генич Е.В. Репродуктивные нарушения и их патогенетические механизмы у ВИЧ-инфицированных женщин. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2019; 11 (4): 20–29. DOI: 10.22328/2077-9828-2019-11-4-20-29.
4. Ansbacher R., Boyson W.A., Morris J.A. Sterility of the uterine cavity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1967; 99 (3): 394–396. DOI: 10.1016/s0002-9378(16)34549-5.
5. Haggerty C.L., Hiller S.L., Bass D.C., Ness R.B. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39: 990–995. DOI: 10.1086/423963.
6. Адамян Л.В., Артымук Н.В., Белокриницкая Т.Е., Захарова У.А., Ксенофонтова О.Л., Куликов А.В., Лещенко О.Я., Мартиросян С.В., Обоскалова Т.А., Оленев А.С., Перевозкина О.В., Радзинский В.Е., Салимова И.В., Севостьянова О.Ю., Симоновская Х.Ю., Тетруашвили Н.К., Шифман Е.М., Филиппов О.С. Истмико-цервикальная недостаточность. *Проблемы репродукции*. 2018; 24 (S6): 578–602.
7. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013: 64.
8. Judlin P.G., Thiebaugeorges O. Pelvic inflammatory diseases. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 2009; 37 (2): 82–172. DOI: 10.1016/j.gyobfe.2008.12.005.
9. Kitaya K., Yasuo T. Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2011; 66 (5): 410–415. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.01051.x.
10. Romero R., Espinoza J., Mazor M. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization? *Fertil. Steril.* 2004; 82: 799–804. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.05.076.
11. Bouet P.E., El Hachem H., Monceau E., Garipey G., Kadoch I.J., Sylvestre C. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure:

- prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil. Steril.* 2016; 105 (1): 106–110. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.025.
12. Kasius J.C., Fatemi H.M., Bourgain C., Sie-Go D.M., Eijkemans R.J., Fauser B.C., Devroey P. et al. The impact of chronic endometritis on reproductive outcome. *Fertility and Sterility.* 2011; 96 (6): 1451–1456. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.09.039.
13. Greenwood S.M., Moran J.J. Chronic endometritis: morphologic and clinical observations. *Obstet. Gyn.* 1981; 58 (2): 176–184.
14. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., Pinto V., Marinaccio M., Indraccolo U., De Ziegler D. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment. *Reproductive Sciences.* 2014; 21 (5): 640–647. DOI: 10.1177/1933719113508817.
15. Cowling P., McCoy D.R., Marshall R.J., Padfield C.J., Reeves D.S. Bacterial colonization of the non-pregnant uterus: a study of premenopausal abdominal hysterectomy specimens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1992; 11 (2): 204–205. DOI: 10.1007/BF01967084.
16. Simhan H.N., Caritis S.N., Krohn M.A., Hillier S.L. Elevated vaginal pH and neutrophils are associated strongly with early spontaneous preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2003; 189 (4): 1150–1154. DOI: 10.1067/s0002-9378(03)00582-9.
17. Hein M., Helmig R.B., Schonheyder H.C., Ganz T., Uldbjerg N. An in vitro study of antibacterial properties of the cervical mucus plug in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2001; 185 (3): 586–592. DOI: 10.1067/mob.2001.116685.
18. King A.E., Critchley H.O., Kelly R.W. Innate immune defences in the human endometrium. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2003; 1: 116. DOI: 10.1186/1477-7827-1-116.
19. Judlin P.G., Thiebaugeorges O. Pelvic inflammatory diseases. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 2009; 37 (2): 82–172. DOI: 10.1016/j.gyobfe.2008.12.005.
20. Smith M., Hagerty K., Skipper B., Bocklage T. Chronic endometritis: a combined histopathologic and clinical review of cases from 2002 to 2007. *Int. J. Gyn. Pathol.* 2010; 29 (1): 44–50.
21. Hyun J.P., You S.K., Tae K.Y., Woo S.L. Chronic endometritis and infertility. *Clin. Exp. Reprod. Med.* 2016; 43 (4): 185–192. DOI: 10.5653/cerm.2016.43.4.185.
22. Кунгурцева Е.А., Белькова Н.Л., Приставка А.А., Иванова Е.И., Даренская М.А., Сердюк Л.В., Лещенко О.Я. Структура условно-патогенной микробиоты носоглотки и вагинального тракта у женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62 (4): 252–256. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-4-252-256.
23. Кунгурцева Е.А., Попкова С.М., Лещенко О.Я. Взаимоформирование микрофлоры слизистых оболочек открытых полостей различных биотопов у женщин как важный фактор их репродуктивного здоровья. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2014; 69 (9–10): 27–32. DOI: 10.15690/vramn.v69i9-10.1128.
24. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15: 167–193. DOI: 10.1128/cmr.15.2.167-193.2002.
25. Costerton W., Veeh R., Shirtliff M., Pasmore M., Post C., Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J. Clin. Invest.* 2003; 112: 1466–1477. DOI: 10.1172/JCI20365.
26. Stepanovic S., Jovanovic M., Lavadinovic L., Stosovic B., Pelemis M. Enterococcus durans endocarditis in a patient with transposition of the great vessels. *J. Med. Microbiol.* 2004; 53: 259–261. DOI: 10.1099/jmm.0.05382-0.
27. Eckert L.O., Moore D.E., Patton D.L., Agnew K.J., Eschenbach D.A. Relationship of vaginal bacteria and inflammation with conception and early pregnancy loss following in-vitro fertilization. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2003; 11: 11–17. DOI: 10.1155/S1064744903000024.
28. Hotchkiss R.S., Karl I.E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 138–150. DOI: 10.1056/NEJMra021333.
29. Fazeli A., Bruce C., Anumba D.O. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. *Hum. Reprod.* 2005; 20: 1372–1378. DOI: 10.1093/humrep/deh775.
30. Kim Y.M., Romero R., Chaiworapongsa T., Kim G.J., Kim M.R., Kuivaniemi H. et al. Toll-like receptor-2 and -4 in the chorioamniotic membranes in spontaneous labor at term and in preterm parturition that are associated with chorioamnionitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004; 191: 1346–1355. DOI: 10.1016/j.ajog.2004.07.009.
31. Guzeloglu-Kayisli O., Kayisli U.A., Taylor H.S. The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions. *Semin. Reprod. Med.* 2009; 27: 62–79. DOI: 10.1055/s-0028-1108011.
32. Jones R.L., Hannan N.J., Kaitu'u T.J., Zhang J., Salamonsen L.A. Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 6155–6167. DOI: 10.1210/jc.2004-0507.
33. Matteo M., Cicinelli E., Greco P., Massenzio F., Baldini D., Falagario T. Abnormal pattern of lymphocyte subpopulations in the endometrium of infertile women with chronic endometritis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2009; 61: 322–329. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2009.00698.x.
34. Cicinelli E., De Ziegler D., Nicoletti R., Colafiglio G., Saliani N., Resta L. et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil. Steril.* 2008; 89: 677–684. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.074.
35. Tortorella C., Piazzolla G., Matteo M., Pinto V., Tinelli R., Sabba C. Interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor α in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis. *Fertil. Steril.* 2014; 101: 242–247. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.041.
36. Maybin J.A., Critchley H.O., Jabbour H.N. Inflammatory pathways in endometrial disorders. *Mol. Cell Endocrinol.* 2011; 335: 42–51. DOI: 10.1016/j.mce.2010.08.006.
37. Kitaya K., Yasuo T. Aberrant expression of selectin E, CXCL1, and CXCL13 in chronic endometritis. *Mod. Pathol.* 2010; 23: 1136–1146. DOI: 10.1038/modpathol.2010.98.
38. Mishra K., Wadhwa N., Guleria K., Agarwal S. ER, PR and Ki-67 expression status in granulomatous and chronic

- non-specific endometritis. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2008; 34: 371–378. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2007.00700.x.
39. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., Lepera A., Alfonso R., Indraccolo U., Marrocchella S. et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Human Reproduction*. 2015; 30 (2): 323–330. DOI: 10.1093/humrep/deu292.
 40. Johnston-MacAnanny E.B., Hartnett J., Engmann L.L., Nulsen J.C., Sanders M.M., Benadiva C.A. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 2010; 93: 437–441. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.131.
 41. McQueen D.B., Bernardi L.A., Stephenson M.D. Chronic endometritis in women with recurrent early pregnancy loss and/or fetal demise. *Fertil. Steril.* 2014; 101: 1026–1030. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.12.031.
 42. Bayer-Garner I.B., Nickell J.A., Korourian S. Routine syn- decan-1 immunohistochemistry aids in the diagnosis of chronic endometritis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2004; 128 (9): 1000–1003. DOI: 10.1043/1543-2165(2004)128<1000:RSIAIT>2.0.CO;2.
 43. McQueen D.B., Peretto C.O., Hazard F.K., Lathi R.B. Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertil. Steril.* 2015; 104 (4): 927–931. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.06.044.
 44. Andrews W.W., Goldenberg R.L., Hauth J.C., Cliver S.P., Conner M., Goepfert A.R. Endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis after spontaneous or indicated preterm versus term delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2005; 193 (3 Pt. 1): 739–745. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.02.128.
 45. Haggerty C.L., Ness R.B., Amortegui A., Hendrix S.L., Hillier S.L., Holley R.L. Endometritis does not predict reproductive morbidity after pelvic inflammatory disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2003; 188: 141–148. DOI: 10.1067/mob.2003.87.
 46. Cicinelli E., Resta L., Nicoletti R., Zappimballo V., Tartagni M., Saliani N. Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis. *Hum. Reprod.* 2005; 20 (5): 1386–1389. DOI: 10.1093/humrep/deh779.
 47. Cicinelli E., De Ziegler D., Nicoletti R., Colafiglio G., Saliani N., Resta L. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil. Steril.* 2008; 89 (3): 677–684. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.074.
 48. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., Lepera A., Alfonso R., Indraccolo U. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum. Reprod.* 2015; 30 (2): 323–330. DOI: 10.1093/humrep/deu292.
 49. Cicinelli E., Tinelli R., Lepera A., Pinto V., Fucci M., Resta L. Correspondence between hysteroscopic and histologic findings in women with chronic endometritis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2010; 89 (8): 1061–1065. DOI: 10.3109/00016349.2010.498496.
 50. Adegbayega P.A., Pei Y., McLarty J. Relationship between eosinophils and chronic endometritis. *Hum. Pathol.* 2010; 41 (1): 33–37. DOI: 10.1016/j.humpath.2009.07.008.
 51. Колесникова Л.И., Кунгурцева Е.А., Даренская М.А., Иванова Е.И., Лещенко О.Я., Михалевич И.М., Колесников С.И. Выявление патогенетически значимых показателей микробиома при хроническом эндометрите у женщин с репродуктивными нарушениями. *Патогенез.* 2018; 16 (3): 66–71. DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.68-73.
 52. Andrews W.W., Goldenberg R.L., Hauth J.C., Cliver S.P., Cooper R., Conner M. Intercon-ceptional Antibiotics to Prevent Spontaneous Preterm Birth: a Randomized Clinical Trial. *American Journal Obstetrics and Gynecology.* 2006; 194 (3): 617–23. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.11.049.
 53. Cravello L., Porcu G., D’Ercole C., D’Ercole C., Roger V., Blanc B. Identification and treatment of endometritis. *Contracept Fertil Sex.* 1997; 25 (7–8): 585–586.
 54. Лещенко О.Я., Маланова А.Б., Аталян А.В. Нарушения репродуктивного здоровья, ассоциированные с туберкулезом половых органов у женщин. *Акушерство и гинекология.* 2018; 6: 107–112. DOI: 10.18565/aig.2018.6.107-112.
 55. Лещенко О.Я., Маланова А.Б. Этнические особенности сочетания инфекций, передающихся половым путем, у женщин с бесплодием и генитальным туберкулезом. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2019; 11 (3): 30–36. DOI: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-30-36.
 56. Yang R., Du X., Wang Y., Song X., Yang Y., Qiao J. The hysteroscopy and histological diagnosis and treatment value of chronic endometritis in recurrent implantation failure patients. *Arch Gynecol. Obstet.* 2014; 289 (6): 1363–1369. DOI: 10.1007/s00404-013-3131-2.
 57. Gibreel A., El-Adawi N., Elgindy E., Al-Inany H., Allakany N., Tournaye H. Endometrial scratching for women with previous IVF failure undergoing IVF treatment. *Gynecol. Endocrinol.* 2015; 31 (4): 313–316. DOI: 10.3109/09513590.2014.994603.
 58. Almog B., Shalom-Paz E., Dufort D., Tulandi T. Promoting implantation by local injury to the endometrium. *Fertil Steril.* 2010; 94 (6): 2026–2029. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.12.075.
 59. Bosteels J., Weyers S., Puttemans P., Panayotidis C., Van Herendaal B., Gomel V. The effectiveness of hysteroscopy in improving pregnancy rates in subfertile women without other gynaecological symptoms: a systematic review. *Hum. Reprod. Update.* 2010; 16 (1): 1–11. DOI: 10.1093/humupd/dmp033.
 60. Simon C., Bellver J. Scratching beneath ‘The Scratching Case’: systematic reviews and meta-analyses, the back door for evidence-based medicine. *Hum. Reprod.* 2014; 29 (8): 1618–1621. DOI: 10.1093/humrep/deu126.
 61. Di Spiezio Sardo A., Di Carlo C., Minozzi S., Spinelli M., Pistotti V., Alvisi C. Efficacy of hysteroscopy in improving reproductive outcomes of infertile couples: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update.* 2016; 22 (4): 479–496. DOI: 10.1093/humupd/dmw008.
 62. Lensen S.F., Manders M., Natri C.O., Gibreel A., Martins W.P., Templer G.E. Endometrial injury for pregnancy following sexual intercourse or intrauterine insemination. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; (6): CD011424. DOI: 10.1002/14651858.CD011424.pub2.
 63. Лебедев В.А., Вашков В.М., Клиндухов И.А. Современные принципы терапии больных с хроническим эндометритом. *Трудный пациент.* 2012; 10 (5): 30–38.
 64. Kasius J.C., Fatemi H.M., Bourgain C. The impact of chronic endometritis on reproductive outcome. *Fertil. Steril.* 2011; 96 (6): 1451–1456.

65. Кулаков В.И., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит. *Гинекология*. 2005; 7 (5): 7–10.
66. Серова В.Н., Коган Е.А., Силантьева Е.С. Комплексное лечение хронического эндометрита: клинико-морфологическое обоснование использования физиотерапии. *Акушерство и гинекология*. 2006; 3: 46–50.
67. Сидорова И.С., Макаров И.О., Унанян А.Л. Патогенез и патогенетически обоснованная терапия хронического эндометрита. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2010; 3: 21–24.
68. Красильников И.В., Лыско К.А., Отрашевская Е.В., Лобастова А.К. Препараты бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития. *Сиб. мед. журн.* 2011; 2-2: 22–25.
69. Урсова Н.И. Антибиотик-ассоциированная диарея: выбор пробиотика с позиций медицины, основанной на доказательствах. *Трудный пациент*. 2013; 2-3: 22–28.
70. Корсак В.С., Забелкина О.В. Исследование эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием на этапе подготовки ЭКО. *Проблемы репродукции*. 2005; 11 (2): 39–42.

Сведения об авторе

Лещенко Ольга Ярославна, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, отдел научных технологий, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск. ORCID 0000-0002-5335-1248.

(✉) Лещенко Ольга Ярославна, e-mail: loyairk@mail.ru.

Поступила в редакцию 03.07.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Молекулярно-биологические особенности анапластических астроцитом и выделение молекулярных подгрупп их IDH1-мутантных форм с помощью анализа *in silico*

Никитин П.В., Беляев А.Ю., Рыжова М.В.

Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко
Россия, 125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Проблема анапластических астроцитом достаточно актуальна в наши дни. В классификации Всемирной организации здравоохранения выделяются анапластическая астроцитома с мутацией в генах *IDH1* и *IDH2*, анапластическая астроцитома без мутаций в генах *IDH1* и *IDH2*, анапластическая астроцитома без дополнительного генетического уточнения.

Целью данной работы стало кластерирование анапластических астроцитом с мутацией в гене *IDH1* на основе их цитогенетического профиля для выделения прогностически значимых молекулярных подгрупп, которые могут иметь как клиничко-практическое, так и фундаментально-научное значение.

Проведен кластерный анализ анапластических астроцитом по их цитогенетическим профилям на основе доступных генетических баз данных опухолей и крупных когортных исследований, а также сравнение кривых выживаемости Каплана – Мейера для различных молекулярных подгрупп пациентов.

Результаты. Нам удалось изучить основные генетические особенности межопухолевой гетерогенности анапластических астроцитом и выделить на основе цитогенетического профиля семь молекулярных подгрупп – эмбриональноподобную, инфламмоподобную, делеционную, матриксную, циклиновую, GATA3-зависимую и тирозинкиназную. При этом каждая из этих подгрупп имеет не только отличительные молекулярные характеристики, но и важные клинические особенности.

Заключение. Детальное изучение молекулярных свойств анапластических астроцитом позволит не только оптимизировать процесс прогнозирования исходов лечения, но и создать инновационные форматы для таргетной терапии в рамках концепции персонализированной медицины.

Ключевые слова: анапластическая астроцитома, мутация гена *IDH1*, межопухолевая гетерогенность.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-01034.

Для цитирования: Никитин П.В., Беляев А.Ю., Рыжова М.В. Молекулярно-биологические особенности анапластических астроцитом и выделение молекулярных подгрупп их IDH1-мутантных форм с помощью анализа *in silico*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 177–187. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-3-177-187](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-177-187).

Molecular characteristics of anaplastic astrocytomas and isolation of molecular subgroups of their IDH1 mutant forms using *in silico* analysis

Nikitin P.V., Belyaev A.Yu., Ryzhova M.V.

Burdenko Neurosurgical Institute

16, 4th Tverskaya-Yamskaya Str., Moscow, 125047, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. The problem of anaplastic astrocytomas is quite relevant today. The WHO classification distinguishes *IDH1/IDH2* mutant anaplastic astrocytomas, anaplastic astrocytomas without *IDH1/IDH2* mutations, and anaplastic astrocytomas not otherwise specified. The aim of this work was to cluster *IDH1*-mutant anaplastic astrocytomas based on their cytogenetic profile to select prognostically significant molecular subgroups, which can have both clinical and fundamental scientific value.

Materials and methods. In this work, we performed a cluster analysis of anaplastic astrocytomas according to their cytogenetic profiles based on available genetic databases of tumors and large cohort studies, as well as a comparison of Kaplan – Meyer survival curves for various molecular subgroups of patients.

Results. We studied the main genetic features of the inter-tumor heterogeneity of anaplastic astrocytomas and distinguished seven molecular subgroups based on the cytogenetic profile: embryo-like, inflammatory-like, deletion, matrix, cyclin, *GATA3*-dependent and tyrosine kinase. Moreover, each of these subgroups has not only distinctive molecular characteristics, but also important clinical features.

Conclusion. A detailed study of the molecular properties of anaplastic astrocytomas will not only optimize the process for predicting treatment outcomes, but also create innovative formats for targeted therapy within the framework of the concept of personalized medicine.

Key words: anaplastic astrocytoma, *IDH1* mutation, inter-tumor heterogeneity.

Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Source of financing. The study was funded by RFBR according to the research project No. 18-29-01034.

For citation: Nikitin P.V., Belyaev A.Yu., Ryzhova M.V. Molecular characteristics of anaplastic astrocytomas and isolation of molecular subgroups of their *IDH1* mutant forms using *in silico* analysis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 177–187. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-3-177-187](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-177-187).

ВВЕДЕНИЕ

Проблема анапластических глиом достаточно актуальна в наши дни. Анапластические глиомы в классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) опухолей центральной нервной системы (ЦНС) 4-го пересмотра 2016 г. представлены анапластической астроцитомой и анапластической олигодендроглиомой [1]. По данным отечественной и зарубежной статистики, средняя частота встречаемости анапластических астроцитом составляет 1,7% от числа всех опухолей ЦНС, распространенность анапластических астроцитом – 1 307 случаев на 100 тыс. населения [2, 3].

В классификации ВОЗ выделяются анапластическая астроцитома с мутацией в генах *IDH1* и *IDH2*, анапластическая астроцитома без мутаций в генах *IDH1* и *IDH2*, анапластическая астроцитома без до-

полнительного генетического уточнения. Таким образом, ключевыми генетическими классифицирующими показателями являются мутации в генах *IDH1* и *IDH2* [1]. Гены *IDH1* и *IDH2* служат матрицей для продукции двух изоформ фермента изоцитратдегидрогеназы. Ген *IDH1* кодирует цитоплазматическую, а ген *IDH2* – митохондриальную. Оба фермента участвуют в окислительном декарбоксилировании изоцитрата с его превращением в 2-оксоглутарат [4]. Было показано, что мутация генов *IDH1* и *IDH2* служит самым точным прогностическим фактором в отношении прогрессирования астроцитарных опухолей, наличие мутации в данных генах ассоциируется с лучшей выживаемостью пациентов [5].

Также было выявлено, что в клетках, несущих мутацию гена *IDH1* или *IDH2*, возникает гиперпродукция онкометаболита – 2-гидроксиглутарата (2HG), которая

приводит к значительным перестройкам в эпигенетическом ландшафте генома [6]. При этом отсутствие рассматриваемой мутации сказывается на существенном росте пролиферативного потенциала клеток астроцитарной глиомы [7]. В ряде работ было выявлено как активирующее, так и инактивирующее влияние мутации *IDH1* и *IDH2* на различные протоонкогены, такие как *PIK3CA*, *KRAS*, *AKT*, *N-MYC* и др. [8]. Часть эффектов данной мутации реализуется через метаболические молекулярные пути, в первую очередь посредством модификации липидного обмена [9].

В современной онкологии вопросы молекулярно-биологической гетерогенности опухолей играют существенную роль. Генетические, эпигенетические, протеомические особенности патологического процесса могут иметь значительные индивидуальные особенности в каждой конкретной опухоли. Только при учете этих особенностей возможно сформировать по-настоящему персонализированный подход к диагностике и лечению опухолевых заболеваний, в рамках которого современные высокотехнологичные методы диагностики и лечения позволят производить наиболее прецизионную оценку основных свойств и характеристик опухолевого процесса и, основываясь на этом, реализовывать программы эффективной таргетной терапии и индивидуализированного лечебного подхода. Все вышесказанное крайне актуально для анапластических глиом, так как существующие диагностические и лечебные подходы, очевидно, недостаточно эффективны [10].

В данной работе мы решили провести анализ и обзор данных нескольких крупных исследований генетических особенностей анапластических астроцитов, в том числе с целью определения различных закономерностей, которые могут иметь как клинико-практическое, так и фундаментально-научное значение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Аналитическое исследование было проведено в соответствии с международными принципами наблюдательных исследований в эпидемиологии (MOOSE) [11]. Для оценки генетической гетерогенности и связанных с ней особенностей клинических аспектов течения анапластических астроцитом проводился анализ данных крупных многоцентровых исследований, в том числе были использованы данные The Cancer Genome Atlas.

Поиск и отбор литературы

Нами был проведен тщательный поиск литературы с использованием баз данных PubMed, Medline, Scopus, Embase и Кокрановской библиотеки. В качестве ключевых слов для поисковых запросов использовались

«astrocytoma ИЛИ anaplastic astrocytoma ИЛИ diffuse anaplastic astrocytoma ИЛИ astrocytoma Grade III» (все поля) И «genomic data ИЛИ genome-wide analysis ИЛИ mutations ИЛИ multi-omics ИЛИ genome sequencing» (все поля). Для того, чтобы не пропустить работы по данной тематике, список ссылок полнотекстовых статей также был полностью проверен.

В качестве критериев включения выступали наличие хотя бы у части или у всей исследованной группы пациентов данных полногеномного секвенирования с определением мутационных событий и цитогенетических перестроек; наличие у тех же пациентов клинических данных, в том числе показателей общей (ОВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ); наличие у пациентов установленной мутации в гене *IDH1*; достаточный объем данных для оценки отношения рисков (ОР) и 95%-го доверительного интервала. Статьи исключались из анализа в случае, если были представлены обзорами, тезисами докладов, письмами в редакцию или экспериментальными работами на животных. Если в одной и той же группе пациентов проводилось более одного исследования, то в анализ включалось только самое последнее или полное исследование. Полный текст принятых для проведения анализа статей был тщательно изучен для всесторонней оценки.

Извлечение данных и оценка качества

Два автора извлекали данные независимо. Извлекаемая информация включала фамилию первого автора, год публикации, страну происхождения статьи, гистологический тип опухоли, время наблюдения, методологические особенности полногеномного секвенирования, показатели ОВ и БРВ. В исследуемую когорту включались только пациенты с установленным гистологическим диагнозом «анапластическая астроцитома», Grade III по ВОЗ, несущие мутацию гена *IDH1* или *IDH2*. Качество каждого исследования оценивалось независимо двумя исследователями в соответствии со шкалой оценки качества Ньюкасл–Оттава [12]. Данные из когорт пациентов The Cancer Genome Atlas [13, 14], Glioma (MSK) [15], Low-Grade Gliomas (UCSF) [16], а также Merged Cohort of LGG and GBM (TCGA) [17] извлекались с помощью инструмента CBioPortal (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, США). Также в анализ были включены данные еще девять крупных полногеномных исследований глиом различной степени злокачественности [18–26].

Статистический анализ данных

Был проведен кластерный анализ всех включенных в исследование случаев анапластических астроцитов. Для кластерного анализа применялся метод

к-средних. Кластерный анализ проводился на основе данных о цитогенетических перестройках в образцах опухолей. Чтобы определить количество кластеров, первоначально был проведен иерархический анализ, указывающий на возможность разделения с наибольшей достоверностью 6, 7 или 8 кластеров. Кластерный анализ проводился с выделением 5, 6, 7, 8 и 9 кластеров, наибольшая точность наблюдалась при идентификации 7 кластеров (молекулярных подгрупп). В каждом кластере (молекулярной подгруппе) отдельно оценивалась частота цитогенетических модификаций и мутаций. Проводилась оценка ОВ и БРВ отдельно для каждой молекулярной подгруппы с использованием кривых Каплана – Мейера, а также сравнительный анализ показателей выживаемости с помощью логарифмического рангового критерия (ЛР), критерия Кокса – Мантеля (КМ), критерия Гехана – Вилкоксона (ГВ). Применялись скорректированные коэффициенты отношения рисков с 95%-м доверительным интервалом. Уровень p менее 0,05 считался статистически значимым. Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 23 (IBM, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая характеристика сформированной когорты

В когорте пациентов, включенных в исследование и удовлетворявших всем критериям включения, в том числе критерию наличия мутации в гене *IDH1*, в целом насчитывалось 886 пациентов, что составило 69,66% от всех рассмотренных случаев анапластических астроцитом. Средний возраст пациентов составил ($36,72 \pm 4,58$) года. Мужчины составили 58,24% от всей когорты, женщины – 41,76%. Средний показатель ОВ составил ($9,18 \pm 0,24$) года, средний уровень БРВ – ($2,34 \pm 0,18$) года.

Краткая молекулярная характеристика

В анапластических астроцитомах с мутацией в гене *IDH1* в рамках нашего анализа наиболее частой сопутствующей мутацией была точечная модификация гена *TP53*, выявлявшаяся в 96,15% случаев. Группа опухолей, несущих в себе одновременно мутации в генах *IDH1* и *TP53*, отличалась высокой частотой мутации гена *ATRX*, встречающейся в 64% случаев. Кроме того, относительно часто выявлялись мутации генов *SMARCA4*, *APOB* и *FLG*, каждая из которых наблюдалась в 10% случаев. Анапластические астроцитомы с мутацией в гене *ATRX* демонстрировали большую частоту мутаций в гене *CDKN2A* (8,57%) по сравнению с опухолями, не несущими данную мутацию (3,85%). Рецептор эпидер-

мального фактора роста (EGFR) мутировал в 4,26% случаев, однако при этом в сочетании с мутацией *ATRX* практически не встречался. Среди цитогенетических событий, сопровождавших мутацию гена *ATRX*, наиболее частым являлась амплификация гена *EXT1*, встречающаяся в 21,43% случаев.

Молекулярные подгруппы анапластических астроцитом с мутацией в гене *IDH1* и их характеристика

Первой подгруппой, которую можно выделить среди анапластических астроцитом с мутацией в гене *IDH1* на основании цитогенетического профиля, стали анапластические астроцитомы, несущие в себе амплификации генов *EXT1* и *MYC*. Ген *EXT1* кодирует белок экзостозин гликозилтрансфераза 1, необходимый для экзосомального высвобождения факторов SDCBP, CD63, синдекана и играющий роль в раннем развитии тканей и прогрессировании опухолей [27]. Участие гена *MYC* в реализации генетических пролиферативных программ широко известно, равно как и его участие в патогенезе опухолевых заболеваний различной локализации [28]. В то же время активация гена *MYC* применительно к опухолям ЦНС встречается наиболее часто в опухолях и отдельных популяциях клеток опухолей, имеющих эмбриональные свойства, в частности медуллобластомах [29, 30]. Причем, как и в случае с анапластическими астроцитомами, активация данного гена происходит наиболее часто именно за счет его амплификации. Таким образом, данную молекулярную подгруппу можно условно назвать подгруппой эмбрионально-подобного типа. Она встречается в 21,67% случаев анапластических астроцитом. Интересно отметить, что в данной подгруппе опухолей в 86,5% случаев встречается амплификация гена *PTK2*, продукт которого протеин-тирозин киназа 2-го типа также связан с клетками, в различной степени проявляющими эмбриональные свойства, и активно вовлекается в процессы пролиферации и стабилизации нейрональных и глиальных элементов на ранних этапах развития ЦНС [31].

При этом клинически данная группа, как и в случае с медуллобластомами, характеризуется худшим прогнозом в отношении ОВ и БРВ. Так, ОВ (ЛР: $p = 0,0086$; КМ: $p = 0,00051$; ГВ: $p = 0,00038$) наравне с БРВ (ЛР: $p = 0,00776$; КМ: $p = 0,00138$; ГВ: $p = 0,00368$) статистически значимо ниже в эмбрионально-подобной подгруппе по сравнению с аналогичными показателями в остальной части проанализированной когорты (рис. 1).

Вторая подгруппа включает в себя опухоли, несущие амплификацию гена *ERC1*.

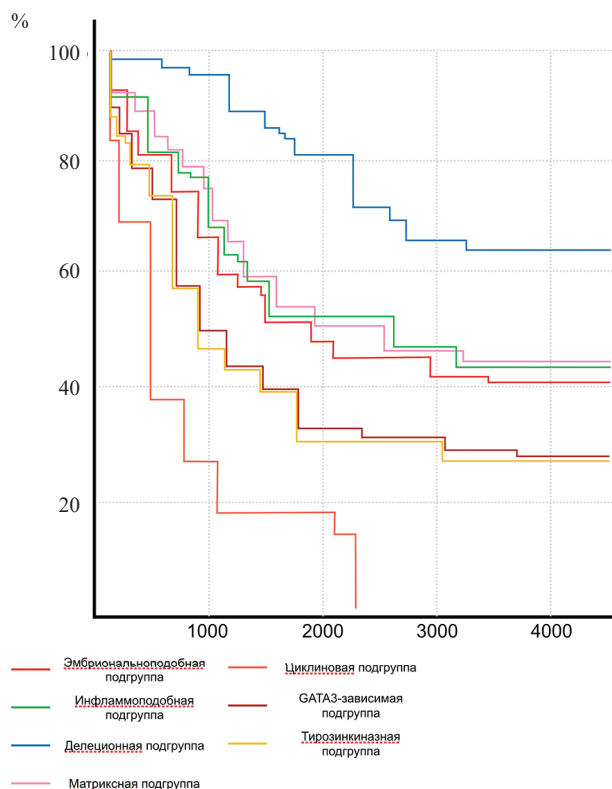


Рис. 1. Кривые Каплана – Мейера для общей выживаемости пациентов раздельно в каждой молекулярной подгруппе: время общей выживаемости, сут (ось абсцисс). В правом верхнем углу цветовые обозначения различных подгрупп

В аспекте канцерогенеза крайне важным является участие белка ERK1 в активации транскрипционного фактора NF-κB, повышенная активность этого механизма была выявлена в качестве одного из ключевых молекулярных событий в опухолях молочной железы [33]. В физиологических условиях NF-κB является ключевым фактором реализации воспалительных программ и стрессового ответа клетки [34].

Впоследствии была показана роль данного транскрипционного фактора в канцерогенезе ряда опухолей [35]. Поэтому данную молекулярную подгруппу можно назвать инфламмо-подобной или воспалительно-подобной, выявляющейся в 18,51% случаев опухоли. Для данной группы характерна высокая частота амплификации гена циклина D2 (*CCND2*) – в 94,36% случаев, представляющего собой регуляторный компонент комплекса циклина D2-CDK4, ингибирующего компоненты семейства белка ретинобластомы (РБ), включая белок RB1, обуславливая переход клетки в S-фазу клеточного цикла. Это повышает пролиферативную активность клеток [36].

Кроме того, высока частота амплификаций генов, относящихся к семейству факторов роста фибробластов – фактора роста фибробластов 6 (*FGF6*) и

23 (*FGF23*) типов. Данные факторы приводят к активации тирозинкиназного каскада с существенным повышением митотической активности и выживания клеток [37]. Клинические особенности данной подгруппы заключаются в аналогичном уровне ОБ и БРВ в сравнении с эмбрионально-подобной подгруппой (см. рис. 1). Данные наблюдения подтверждаются и статистическими критериями, которые не выявляют значимых различий как в отношении БРВ (ЛР: $p = 0,0878$; КМ: $p = 0,0615$; ГВ: $p = 0,5895$), так и ОБ (ЛР: $p = 0,0781$; КМ: $p = 0,05845$; ГВ: $p = 0,0568$).

В третью подгруппу входят опухоли, несущие делеции генов *BRSK1*, *ZNF331*, *TFPT* и *U2AF2*. Ген *BRSK1* кодирует мозг-специфичную серин/треонин протеинкиназу 1, фосфорилирующую и активирующую ряд вторичных посредников и выступающую в качестве ключевого регулятора поляризации корковых нейронов, а также формирования цитоскелета глиоцитов. Кроме того, он участвует в реализации целого ряда других функций, в частности, может играть роль негативного регулятора протекания клеточного цикла, тормозя его развитие при возникновении повреждений в цепи ДНК и параллельно способствуя ее быстрой репарации [38].

Ген *TFPT* обеспечивает развитие апоптоза в независимости от мутационного статуса гена *TP53*, что крайне актуально для анапластических астроцитом, несущих мутацию *TP53* в 96,15% случаев [39]. Ген *U2AF2* кодирует вспомогательный фактор малой ядерной РНК 2-го типа, играющий существенную роль в процессах сплайсинга ряда генов, в том числе связанных с пролиферативным потенциалом клеток [40]. Поскольку наиболее характерным с генетических позиций для данного типа является целый комплекс сочетанных делеций, рассматриваемую подгруппу можно условно назвать делеционной. Она выявляется в 17,49% случаев.

Подобная картина цитогенетических изменений приводит к лучшим клиническим последствиям (см. рис. 1). ОБ в данной подгруппе не только выше среднего уровня для всех молекулярных подгрупп, но и значимо выше как эмбрионально-подобной (ЛР: $p = 0,00864$; КМ: $p = 0,00546$; ГВ: $p = 0,000324$), так и инфламмо-подобной подгрупп (ЛР: $p = 0,00953$; КМ: $p = 0,00486$; ГВ: $p = 0,000472$). БРВ также существенно выше в сравнении с эмбрионально-подобной (ЛР: $p = 0,00623$; КМ: $p = 0,00399$; ГВ: $p = 0,000285$) и инфламмо-подобной (ЛР: $p = 0,00694$; КМ: $p = 0,00512$; ГВ: $p = 0,000421$) подгруппами.

Следующая группа содержит случаи с амплификацией гена *MSN* и сочетающейся с ней в 83,33% случаев амплификацией гена *AMER1*. Ген *MSN* кодирует белок моззин, вовлеченный в обеспечение

соединения между компонентами цитоскелета клетки и цитоплазматической мембраной. При этом он может участвовать в регуляции процессов контактного торможения пролиферации некоторых клеток и их подвижности [41]. Белок, кодируемый геном *AMER1*, является одним из ключевых регуляторов Wnt/бета-катенинового каскада, способным как повышать, так и снижать его активность. Элементы данного каскада так же, как и продукт гена *MSN*, вовлечены в контакты клеток с межклеточным матриксом и другими клетками, данный каскад аналогично принимает участие в процессах контактной матричной и межклеточной регуляции пролиферации клеток [42]. В связи с описанными особенностями данную подгруппу можно обозначить как матричную. Встречается она в 14,79% случаев анапластических астроцитов. Клинические особенности этой подгруппы близки к эмбрионально- и инфламмо-подобной – ОБ была аналогична как эмбрионально-подобной (ЛР: $p = 0,84651$; КМ: $p = 0,8245$; ГВ: $p = 0,6278$), так и инфламмо-подобной подгруппам (ЛР: $p = 0,8231$; КМ: $p = 0,6731$; ГВ: $p = 0,7392$), БРВ также была аналогична эмбрионально-подобной (ЛР: $p = 0,09284$; КМ: $p = 0,07645$; ГВ: $p = 0,06245$) и инфламмо-подобной подгруппам (ЛР: $p = 0,06127$; КМ: $p = 0,06045$; ГВ: $p = 0,06012$).

Также выявляется подгруппа анапластических астроцитов, в которых сочетаются делеции генов *MTAP*, *CDKN2A* и *CDKN2B*. Ген *CDKN2A* кодирует несколько вариантов транскрипта, отличающихся по составу своих первых экзонов и действующих как регуляторы протекания клеточного цикла, ингибирующие переход клетки к митозу. Кроме того, под влиянием белков, кодируемых геном *CDKN2A*, стабилизируется и активируется белок p53 [43]. Продукт гена *CDKN2B* ингибитор циклин-зависимой киназы образует комплекс с CDK4 или CDK6 и предотвращает их активацию, поэтому кодируемый белок также функционирует как регулятор роста клеток, замедляющий прогрессию G1-фазы клеточного цикла [44]. Ген *MTAP* кодирует белок метилтеноаденозин-фосфорилазу, играющий важную роль в метаболизме полиаминов. Снижение активности данного гена наблюдается при многих опухолевых заболеваниях вследствие частой ко-делеции с генами *CDKN2A* и *CDKN2B*. В связи с тем, что существенную роль в патогенезе данной подгруппы опухолей играют белки-регуляторы циклиновой системы, наиболее подходящим вариантом названия выглядит циклиновая подгруппа. Данная подгруппа встречается в 14,33% случаев. Примечательно, что мутация гена *ATR*X встречается в 100% случаев опухолей рассматриваемой подгруппы.

ОБ у пациентов данной подгруппы крайне низкая, при этом рассматриваемая подгруппа достоверно отличается в негативную сторону как по уровню ОБ, так и БРВ от всех обозначенных выше подгрупп: эмбрионально-подобной (ЛР: $p = 0,00852$; КМ: $p = 0,00712$; ГВ: $p = 0,00556$ и ЛР: $p = 0,00973$; КМ: $p = 0,00848$; ГВ: $p = 0,00468$ соответственно), инфламмо-подобной (ЛР: $p = 0,00751$; КМ: $p = 0,00706$; ГВ: $p = 0,00513$ и ЛР: $p = 0,00957$; КМ: $p = 0,00759$; ГВ: $p = 0,00365$ соответственно), матричной (ЛР: $p = 0,00725$; КМ: $p = 0,00606$; ГВ: $p = 0,00472$ и ЛР: $p = 0,00908$; КМ: $p = 0,00704$; ГВ: $p = 0,003145355$ соответственно) и делеционной (ЛР: $p = 0,00453$; КМ: $p = 0,00317$; ГВ: $p = 0,00159$ и ЛР: $p = 0,00509$; КМ: $p = 0,00251$; ГВ: $p = 0,00084$ соответственно). Таким образом, принадлежность к циклиновой подгруппе является крайне неблагоприятным фактором в отношении прогноза пациентов (см. рис. 1). Эти выводы согласуются с данными недавнего исследования М. Shirahata с коллегами, показавшего, что делеция *CDKN2A* и *CDKN2B* является неблагоприятным прогностическим молекулярным событием для анапластических астроцитов [45].

Небольшая подгруппа пациентов имела амплификацию гена *GATA3*. Продукт данного гена представляет собой транскрипционный активатор, который связывается с энхансером генов Т-клеточного рецептора. Проканцерогенные эффекты *GATA3* могут быть связаны с дерегулированием трех генов – *BCL2*, *DACH1*, *THSD4*, участвующих в процессах дифференцировки клеток [46]. *GATA3*-зависимая подгруппа немногочисленная, встречается в 11,63% случаев анапластических астроцитов, но так же, как и циклиновая, характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом, тем не менее прогноз ОБ несколько лучше, нежели в циклиновой подгруппе (ЛР: $p = 0,03499$; КМ: $p = 0,03207$; ГВ: $p = 0,03168$), а вот БРВ достоверно не различается в данных подгруппах (ЛР: $p = 0,07207$; КМ: $p = 0,06628$; ГВ: $p = 0,06266$). При этом ОБ и БРВ были достоверно ниже в сравнении с эмбрионально-подобной (ЛР: $p = 0,00824$; КМ: $p = 0,00723$; ГВ: $p = 0,00649$ и ЛР: $p = 0,00948$; КМ: $p = 0,00813$; ГВ: $p = 0,00689$ соответственно), инфламмо-подобной (ЛР: $p = 0,00809$; КМ: $p = 0,00749$; ГВ: $p = 0,00582$ и ЛР: $p = 0,00942$; КМ: $p = 0,00765$; ГВ: $p = 0,00667$ соответственно), матричной подгруппами (ЛР: $p = 0,00784$; КМ: $p = 0,00689$; ГВ: $p = 0,00381$ и ЛР: $p = 0,00935$; КМ: $p = 0,00749$; ГВ: $p = 0,00648$ соответственно).

Последняя подгруппа характеризовалась сочетанной амплификацией генов *FIP1L1*, *CHIC2*, *PDGFRA*, *KIT* и *KDR*. Ген *FIP1L1* кодирует белок, осуществляющей полиаденилирование 3'-конца пре-мРНК

[47]. *PDGFRA* кодирует рецептор тромбцитарного фактора роста типа А, тирозинкиназный рецептор клеточной мембраны, обладающий выраженными митогенными эффектами, реализуемыми за счет активации RAS/RAF/MAPK каскада [48]. Продукт гена *KIT* – белок c-kit – представляет собой тирозин-протеинкиназу, которая действует как рецептор клеточной поверхности для цитокинов KITLG/SCF и играет существенную роль в регуляции процессов выживания и пролиферации клеток, гемопоэза, поддержания стволовых свойств клеток, а также их миграции. При этом, как и *PDGFRA*, c-kit реализует значительную часть своих эффектов посредством активации RAS/RAF/MAPK тирозинкиназного каскада [49]. В связи с этим условно данную подгруппу можно назвать тирозинкиназной. Принадлежность к ней выявляется в 1,58% случаев.

Тирозинкиназная подгруппа характеризуется сходством как в ОБ, так и БРВ с GATA3-зависимой подгруппой, при этом статистические критерии не обнаруживают значимых различий между подгруппами в данных показателях (ЛР: $p = 0,37488$; КМ: $p = 0,28652$; ГВ: $p = 0,25913$ и ЛР: $p = 0,34975$; КМ: $p = 0,27728$; ГВ: $p = 0,25105$ соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, по результатам нашего анализа были выявлены семь молекулярных подгрупп анапластических астроцитов, различающихся по своему цитогенетическому профилю, а также имеющих различный прогноз и особенности мутационных изменений. Эмбриональная и инфламмо-подобная подгруппы являются самыми частыми и встречаются в 21,67 и 18,51% случаев соответственно. Делеционная подгруппа составляет в общей сложности 17,49% случаев, матриксная – 14,79%, недалеко расположились циклиновая подгруппа – 14,33% случаев и GATA3-зависимая подгруппа, которая встречается в 11,63%.

Самой редкой является тирозинкиназная подгруппа, она выявляется всего в 1,58% случаев. Самый худший прогноз наблюдается в циклиновой подгруппе, относительно неблагоприятный прогноз выявляется в GATA3-зависимой и тирозинкиназной подгруппах, средний прогноз в эмбриональной, инфламмо-подобной и матриксной подгруппах, наилучший прогноз обнаруживается в делеционной подгруппе (рис. 2).

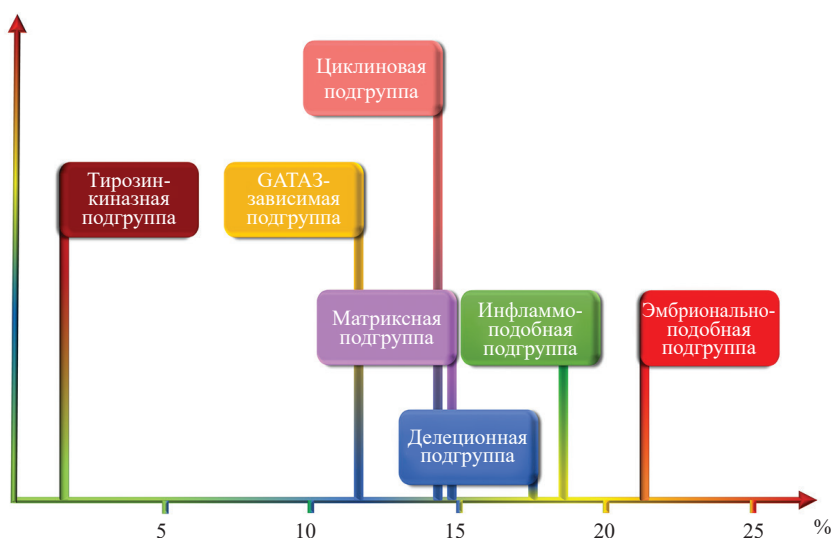


Рис. 2. Соотношение различных подгрупп по степени агрессивности опухолей и частоте встречаемости. Повышение степени агрессивности опухолей в каждой подгруппе тем выше, чем выше данная подгруппа расположена по отношению к оси ординат. Распространенность молекулярных подгрупп приведена по оси абсцисс в процентах от общего числа проанализированных случаев

Чем же может быть обусловлена подобная межопухолевая гетерогенность в рамках одной нозологической единицы? Попробуем проследить потенциальные пути возникновения генетической многоликости анапластических астроцитов, изучив доступные на сегодняшний день литературные данные в отношении канцерогенеза глиом и схематично

начертив возможную траекторию прогрессирования данных опухолей.

Самым ранним и важным мутационным событием в анапластических астроцитах считается мутация гена *IDH1* [50]. Это событие затрагивает в первую очередь нейрональные стволовые клетки, которые и могут быть первичным клеточным

субстратом опухоли [51]. Однако далее, по-видимому, опухолевые клетки могут следовать различными путями под влиянием множества факторов, в том числе генетических и эпигенетических конституциональных особенностей и стохастических эффектов в экспрессии генов, приводящих к возникновению не только межопухолевой, но и внутриопухолевой гетерогенности. Возникают различные типы клеток, в частности, в составе анапластической астроцитомы появляются три принципиальные клеточные популяции: астроцитоподобные клетки, олигодендроподобные клетки и прогениторные клетки со стволовыми свойствами [18].

Любопытно, что маркерным генетическим событием для олигодендроподобных клеток, содержание которых является крайне низким в анапластических астроцитомах, выступает амплификация гена *PDGFRA*. В проанализированной когорте в рамках данного исследования тирозинкиназная подгруппа, для которой это также служит одним из маркерных событий, встречается крайне редко. В рамках нашего исследования самый худший прогноз наблюдался у пациентов, чьи опухоли относятся к циклиновой подгруппе, характеризующейся в первую очередь дерегуляцией белков клеточного цикла. Примечательно, что похожие изменения при применении технологий *single-cell* обнаруживаются в опухолевых глиомных клетках, получивших название мезенхимально-подобных. Данный тип клеток практически не встречается в классических анапластических астроцитомах и характерен в большей степени для глиобластом, для которых типична большая степень злокачественности.

Таким образом, опухолевые клеточные субклоны в рамках одной опухоли создают ту самую мозаичную картину, собирающуюся в единый молекулярный опухолевый рисунок, который и послужил основанием для выделения подгрупп в нашем исследовании. Различия в деталях этой мозаики могут давать разные молекулярные подтипы анапластических астроцитом. Каждый подтип, соответственно, будет обладать различными биологическими свойствами и различной агрессивностью, что и находит свое отражение в прогностических аспектах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диффузные глиальные опухоли представляют собой непростую проблему как в фундаментальном, так и в клиническом плане. Существенная гетерогенность молекулярных свойств анапластических астроцитом отражается не только на скорости прогрессирования патологического процесса, но и на эффективности различных видов лечения. При

этом подобная разнородность является отражением индивидуальных особенностей опухолей у каждого конкретного пациента. Учет подобных особенностей крайне важен для разработки по-настоящему эффективных персонализированных подходов к диагностике и лечению у таких больных. Молекулярное кластерирование опухолей позволит не только оптимизировать процесс прогнозирования исходов лечения, но и создать инновационные форматы для таргетной, прецизионной терапии в рамках концепции персонализированной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Louis D.N., Perry A., Reifenberger G., von Deimling A., Figarella-Branger D., Cavenee W.K., Ohgaki H., Wiestler O.D., Kleihues P., Ellison D.W. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016; 131 (6): 803–820. DOI: 10.1007/s00401-016-1545-1.
2. Ostrom Q.T., Gittleman H., Liao P., Vecchione-Koval T., Wolinsky Y., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010–2014. *Neur. Oncol.* 2017; 19 (1–5): v1–88. DOI: 10.1093/neuonc/now158.
3. Кобяков Г.Л., Бекашев А.Х., Голанов А.В., Коновалов А.Н., Насхлеташвили Д.Р., Потапов А.А., Рзаев Д.А., Рыжова М.В., Смолин А.В., Трунин Ю.Ю., Улитин А.Ю. *Практические рекомендации по лекарственному лечению первичных опухолей центральной нервной системы. Злокачественные опухоли.* 2017; 7 (3): 77–92.
4. Geisbrecht B.V., Gould S.J. The human PICD gene encodes a cytoplasmic and peroxisomal NADP(+)–dependent isocitrate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (43): 30527–30533.
5. Hartmann C., Hentschel B., Simon M., Westphal M., Schackert G., Tonn J.C., Loeffler M., Reifenberger G., Pietsch T., von Deimling A., Weller M.; German Glioma Network. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations. *Clin. Cancer Res.* 2013; 19 (18): 5146–5157. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0017.
6. Turcan S., Rohle D., Goenka A., Walsh L.A., Fang F., Yilmaz E., Campos C., Fabius A.W., Lu C., Ward P.S., Thompson C.B., Kaufman A., Guryanova O., Levine R., Heguy A., Viale A., Morris L.G., Huse J.T., Mellinghoff I.K., Chan T.A. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature.* 2012; 483 (7390): 479–483.
7. Демяшкин Г.А., Никитин П.В., Чмутин Е.Г., Дшилкашиев Б.С. Роль мутации гена IDH-1 в развитии астроцитом головного мозга и моделирование антионкогенной внутриклеточной защиты. *Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии.* 2017; 9: 34–42.
8. Wakimoto H., Tanaka S., Curry W.T., Loebel F., Zhao D., Tateishi K., Chen J., Klotas L.K., Lelic N., Kim J.C., Dias-Santagata D., Ellisen L.W., Borger D.R., Fendt S.M., Vander Heiden M.G., Batchelor T.T., Iafrate A.J., Cahill D.P., Chi A.S. Targetable signaling pathway mutations are associated with malignant phenotype in IDH-mutant gliomas. *Clin. Cancer Res.* 2014; 20 (11): 2898–2909.

9. Никитин П.В., Потапов А.А., Рыжова М.В., Шурхай В.А., Куликов Е.Е., Жванский Е.С., Попов И.А., Николаев Е.Н. Роль нарушений липидного обмена, атипических изоформ протеинкиназы С и мутационного статуса цитозольной и митохондриальной форм изоцитратдегидрогеназы в канцерогенезе глиальных опухолей. *Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко*. 2018; 82 (3):112–120. DOI: 10.17116/neiro2018823112.
10. Bush N.A., Chang S.M., Berger M.S. Current and future strategies for treatment of glioma. *Neurosurg. Rev.* 2017; 40 (1): 1–14. DOI: 10.1007/s10143-016-0709-8.
11. Stroup D.F., Berlin J.A., Morton S.C., Olkin I., Williamson G.D., Rennie D., Moher D., Becker B.J., Sipe T.A., Thacker S.B. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *JAMA*. 2000; 283 (15): 2008–2012.
12. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur. J. Epidemiol.* 2010; 25 (9): 603–605. DOI: 10.1007/s10654-010-9491-z.
13. The Cancer Genome Atlas, National Institutes of Health, USA. <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>.
14. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (26): 2481–2498. DOI: 10.1056/NEJMoal402121.
15. Cheng D.T., Mitchell T.N., Zehir A., Shah R.H., Benayed R., Syed A., Chandramohan R., Liu Z.Y., Won H.H., Scott S.N., Brannon A.R., O'Reilly C., Sadowska J., Casanova J., Yannes A., Hechtman J.F., Yao J., Song W., Ross D.S., Oultache A., Dogan S., Borsu L., Hameed M., Nafa K., Arcila M.E., Ladanyi M., Berger M.F. Memorial sloan kettering-integrated mutation profiling of actionable cancer targets (MSK-IMPACT): A hybridization capture-based next-generation sequencing clinical assay for solid tumor molecular oncology. *J. Mol. Diagn.* 2015; 17 (3): 251–264. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2014.12.006.
16. Johnson B.E., Mazar T., Hong C., Barnes M., Aihara K., McLean C.Y., Fouse S.D., Yamamoto S., Ueda H., Tatsuno K., Asthana S., Jalbert L.E., Nelson S.J., Bollen A.W., Gustafson W.C., Charron E., Weiss W.A., Smirnov I.V., Song J.S., Olshen A.B., Cha S., Zhao Y., Moore R.A., Mungall A.J., Jones S.J.M., Hirst M., Marra M.A., Saito N., Aburatani H., Mukasa A., Berger M.S., Chang S.M., Taylor B.S., Costello J.F. Mutational analysis reveals the origin and therapy-driven evolution of recurrent glioma. *Science*. 2014; 343 (6167): 189–193. DOI: 10.1126/science.1239947.
17. Ceccarelli M., Barthel F.P., Malta T.M., Sabedot T.S., Salama S.R., Murray B.A., Morozova O., Newton Y., Radenbaugh A., Pagnotta S.M., Anjum S., Wang J., Manyam G., Zoppoli P., Ling S., Rao A.A., Grifford M., Cherniack A.D., Zhang H., Poisson L., Carlotti C.G. Jr., Tirapelli D.P., Rao A., Mikkelsen T., Lau C.C., Yung W.K., Rabadan R., Huse J., Brat D.J., Lehman N.L., Barnholtz-Sloan J.S., Zheng S., Hess K., Rao G., Meyerson M., Beroukhi R., Cooper L., Akbani R., Wrensch M., Haussler D., Aldape K.D., Laird P.W., Gutmann D.H.; TCGA Research Network, Nounmehr H., Iavarone A., Verhaak R.G. Molecular profiling reveals biologically discrete subsets and pathways of progression in diffuse glioma. *Cell*. 2016; 164 (3): 550–563. DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.028.
18. Venteicher A.S., Tirosh I., Hebert C., Yizhak K., Neftel C., Filbin M.G., Hovestadt V., Escalante L.E., Shaw M.L., Rodman C., Gillespie S.M., Dionne D., Luo C.C., Ravichandran H., Mylvaganam R., Mount C., Onozato M.L., Nahed B.V., Wakimoto H., Curry W.T., Iafrate A.J., Rivera M.N., Frosch M.P., Golub T.R., Brastianos P.K., Getz G., Patel A.P., Monje M., Cahill D.P., Rozenblatt-Rosen O., Louis D.N., Bernstein B.E., Regev A., Suvà M.L. Decoupling genetics, lineages, and microenvironment in IDH-mutant gliomas by single-cell RNA-seq. *Science*. 2017; 355 (6332). DOI: 10.1126/science.aai8478.
19. Amirian E.S., Armstrong G.N., Zhou R., Lau C.C., Claus E.B., Barnholtz-Sloan J.S., Il'yasova D., Schildkraut J., Ali-Osman F., Sadetzki S., Johansen C., Houlston R.S., Jenkins R.B., Lachance D., Olson S.H., Bernstein J.L., Merrell R.T., Wrensch M.R., Davis F.G., Lai R., Shete S., Amos C.I., Scheurer M.E., Aldape K., Alafuzoff I., Brännström T., Broholm H., Collins P., Giannini C., Rosenblum M., Tihan T., Melin B.S., Bondy M.L. The Glioma International Case-Control Study: A Report From the Genetic Epidemiology of Glioma International Consortium. *Am. J. Epidemiol.* 2016; 183 (2): 85–91. DOI: 10.1093/aje/kwv235.
20. Shete S., Hosking F.J., Robertson L.B., Dobbins S.E., Sanson M., Malmer B., Simon M., Marie Y., Boisselier B., Delattre J.Y., Hoang-Xuan K., El Hallani S., Idhah A., Zelenika D., Andersson U., Henriksson R., Bergenheim A.T., Feychting M., Lönn S., Ahlbom A., Schramm J., Linnebank M., Hemminki K., Kumar R., Hepworth S.J., Price A., Armstrong G., Liu Y., Gu X., Yu R., Lau C., Schoemaker M., Muir K., Swerdlow A., Lathrop M., Bondy M., Houlston R.S. Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for glioma. *Nat. Genet.* 2009; 41 (8): 899–904. DOI: 10.1038/ng.407.
21. Kinnersley B., Labussière M., Holroyd A., Di Stefano A.L., Broderick P., Vijayakrishnan J., Mokhtari K., Delattre J.Y., Gousias K., Schramm J., Schoemaker M.J., Fleming S.J., Herms S., Heilmann S., Schreiber S., Wichmann H.E., Nöthen M.M., Swerdlow A., Lathrop M., Simon M., Bondy M., Sanson M., Houlston R.S. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for glioma. *Nat. Commun.* 2015; 6: 8559. DOI: 10.1038/ncomms9559.
22. Rajaraman P., Melin B.S., Wang Z., McKean-Cowdin R., Michaud D.S., Wang S.S., Bondy M., Houlston R., Jenkins R.B., Wrensch M., Yeager M., Ahlbom A., Albanes D., Andersson U., Freeman L.E., Buring J.E., Butler M.A., Braganza M., Carreon T., Feychting M., Fleming S.J., Gapstur S.M., Gaziano J.M., Giles G.G., Hallmans G., Henriksson R., Hoffman-Bolton J., Inskip P.D., Johansen C., Kitahara C.M., Lathrop M., Liu C., Le Marchand L., Linet M.S., Lonn S., Peters U., Purdue M.P., Rothman N., Ruder A.M., Sanson M., Sesso H.D., Severi G., Shu X.O., Simon M., Stampfer M., Stevens V.L., Visvanathan K., White E., Wolk A., Zeleniuch-Jacquotte A., Zheng W., Decker P., Enciso-Mora V., Fridley B., Gao Y.T., Kosel M., Lachance D.H., Lau C., Rice T., Swerdlow A., Wiemels J.L., Wiencke J.K., Shete S., Xiang Y.B., Xiao Y., Hoover R.N.,

- Fraumeni J.F. Jr., Chatterjee N., Hartge P., Chanock S.J. Genome-wide Association Study of Glioma and Meta-analysis. *Hum. Genet.* 2012; 131 (12): 1877–1888. DOI: 10.1007/s00439-012-1212-0.
23. Wrensch M., Jenkins R.B., Chang J.S., Yeh R.F., Xiao Y., Decker P.A., Ballman K.V., Berger M., Buckner J.C., Chang S., Giannini C., Halder C., Kollmeyer T.M., Kosel M.L., LaChance D.H., McCoy L., O'Neill B.P., Patoka J., Pico A.R., Prados M., Quesenberry C., Rice T., Rynearson A.L., Smirnov I., Tihan T., Wiemels J., Yang P., Wiencke J.K. Variants in the CDKN2B and RTEL1 regions are associated with high-grade glioma susceptibility. *Nat. Genet.* 2009; 41 (8): 905–908. DOI: 10.1038/ng.408.
 24. Jenkins R.B., Wrensch M.R., Johnson D., Fridley B.L., Decker P.A., Xiao Y., Kollmeyer T.M., Rynearson A.L., Fink S., Rice T., McCoy L.S., Halder C., Kosel M.L., Giannini C., Tihan T., O'Neill B.P., Lachance D.H., Yang P., Wiemels J., Wiencke J.K. Distinct germ line polymorphisms underlie glioma morphologic heterogeneity. *Cancer Genet.* 2011; 204 (1): 13–18. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.10.002.
 25. Song X., Zhou K., Zhao Y., Huai C., Zhao Y., Yu H., Chen Y., Chen G., Chen H., Fan W., Mao Y., Lu D. Fine mapping analysis of a region of 20q13.33 identified five independent susceptibility loci for glioma in a Chinese Han population. *Carcinogenesis*. 2012; 33 (5): 1065–1071. DOI: 10.1093/carcin/bgs117.
 26. Richardson T.E., Snuderl M., Serrano J., Karajannis M.A., Heguy A., Oliver D., Raisanen J.M., Maher E.A., Pan E., Barnett S., Cai C., Habib A.A., Bachoo R.M., Hatanpaa K.J. Rapid progression to glioblastoma in a subset of IDH-mutated astrocytomas: a genome-wide analysis. *J. Neurooncol.* 2017; 133 (1): 183–192. DOI: 10.1007/s11060-017-2431-y.
 27. Baietti M.F., Zhang Z., Mortier E., Melchior A., Degeest G., Geeraerts A., Ivarsson Y., Depoortere F., Coomans C., Vermeiren E., Zimmermann P., David G. Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat. Cell Biol.* 2012; 14 (7): 677–685. DOI: 10.1038/ncb2502.
 28. Conacci-Sorrell M., McFerrin L., Eisenman R.N. An overview of MYC and its interactome. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2014; 4 (1): a014357. DOI: 10.1101/cshperspect.a014357.
 29. Hill R.M., Kuijper S., Lindsey J.C., Petrie K., Schwalbe E.C., Barker K., Boulton J.K., Williamson D., Ahmad Z., Halls-worth A., Ryan S.L., Poon E., Robinson S.P., Ruddie R., Raynaud F.I., Howell L., Kwok C., Joshi A., Nicholson S.L., Crosier S., Ellison D.W., Wharton S.B., Robson K., Michalski A., Hargrave D., Jacques T.S., Pizer B., Bailey S., Swartling F.J., Weiss W.A., Chesler L., Clifford S.C. Combined MYC and P53 defects emerge at medulloblastoma relapse and define rapidly progressive, therapeutically targetable disease. *Cancer Cell.* 2015; 27 (1): 72–84. DOI: 10.1016/j.ccell.2014.11.002.
 30. Ryzhova M.V., Zheludkova O.G., Kumirova É.V., Shishkina L.V., Panina T.N., Gorelyshev S.K., Khukhlaeva E.A., Mazerkina N.A., Matuev K.B., Medvedeva O.A. Characteristics of medulloblastoma in children under age of three years. *Zh. Vopr. Neirokhir. im. N.N. Burdenko.* 2013; 77 (1): 3–10; discussion 11.
 31. Chen R., Kim O., Li M., Xiong X., Guan J.L., Kung H.J., Chen H., Shimizu Y., Qiu Y. Regulation of the PH-domain-containing tyrosine kinase Etk by focal adhesion kinase through the FERM domain. *Nat. Cell Biol.* 2001; 3 (5): 439–444.
 32. Ducut Sigala J.L., Bottero V., Young D.B., Shevchenko A., Mercurio F., Verma I.M. Activation of transcription factor NF-kappaB requires ELKS, an IkappaB kinase regulatory subunit. *Science.* 2004; 304 (5679): 1963–1967.
 33. Alpay M., Backman L.R., Cheng X., Dukel M., Kim W.J., Ai L., Brown K.D. Oxidative stress shapes breast cancer phenotype through chronic activation of ATM-dependent signaling. *Breast Cancer Res. Treat.* 2015; 151 (1): 75–87. DOI: 10.1007/s10549-015-3368-5.
 34. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009; 1 (6): a001651. DOI: 10.1101/cshperspect.a001651.
 35. Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature.* 2006; 441 (7092): 431–436.
 36. Chan S.W., Hong W. Retinoblastoma-binding protein 2 (Rbp2) potentiates nuclear hormone receptor-mediated transcription. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (30): 28402–28412.
 37. Ornitz D.M., Xu J., Colvin J.S., McEwen D.G., MacArthur C.A., Coulier F., Gao G., Goldfarb M. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. *J. Biol. Chem.* 1996; 271 (25): 15292–15297.
 38. Lu R., Niida H., Nakanishi M. Human SAD1 kinase is involved in UV-induced DNA damage checkpoint function. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (30): 31164–31170.
 39. Franchini C., Fontana F., Minuzzo M., Babbio F., Privitera E. Apoptosis promoted by up-regulation of TFPT (TCF3 fusion partner) appears p53 independent, cell type restricted and cell density influenced. *Apoptosis.* 2006; 11 (12): 2217–2224.
 40. Millevoi S., Loulergue C., Dettwiler S., Karaa S.Z., Keller W., Antoniou M., Vagner S. An interaction between U2AF 65 and CF I(m) links the splicing and 3' end processing machineries. *EMBO J.* 2006; 25 (20): 4854–4864.
 41. Lagresle-Peyrou C., Luce S., Ouchani F., Soheili T.S., Sadek H., Chouteau M., Durand A., Pic I., Majewski J., Brouzes C., Lambert N., Bohineust A., Verhoeven E., Cosset F.L., Magerus-Chatinet A., Rieux-Laucat F., Gandemer V., Monnier D., Heijmans C., van Gijn M., Dalm V.A., Mahlaoui N., Stephan J.L., Picard C., Durandy A., Kracker S., Hivroz C., Jabado N., de Saint Basile G., Fischer A., Cavazzana M., André-Schmutz I. X-linked primary immunodeficiency associated with hemizygous mutations in the moesin (MSN) gene. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 138 (6): 1681–1689.e8. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.04.032.
 42. Major M.B., Camp N.D., Berndt J.D., Yi X., Goldenberg S.J., Hubbert C., Biechele T.L., Gingras A.-C., Zheng N., MacCoss M.J., Angers S., Moon R.T. Wilms tumor suppressor WTX negatively regulates WNT/beta-catenin signaling. *Science.* 2007; 316 (5827): 1043–1046.
 43. Stott F.J., Bates S., James M.C., McConnell B.B., Starborg M., Brookes S., Palmero I., Ryan K., Hara E., Vousden K.H., Peters G. The alternative product from the human CDKN2A locus, p14(ARF), participates in a regulatory feedback loop with p53 and MDM2. *EMBO J.* 1998; 17 (17): 5001–5014.

44. Tsubari M., Tiihonen E., Laiho M. Cloning and characterization of p10, an alternatively spliced form of p15 cyclin-dependent kinase inhibitor. *Cancer Res.* 1997; 57 (14): 2966–2973.
45. Shirahata M., Ono T., Stichel D., Schrimpf D., Reuss D.E., Sahm F., Koelsche C., Wefers A., Reinhardt A., Huang K., Sievers P., Shimizu H., Nanjo H., Kobayashi Y., Miyake Y., Suzuki T., Adachi J.I., Mishima K., Sasaki A., Nishikawa R., Bewerunge-Hudler M., Ryzhova M., Absalyamova O., Golonov A., Sinn P., Platten M., Jungk C., Winkler F., Wick A., Hänggi D., Unterberg A., Pfister S.M., Jones D.T.W., van den Bent M., Hegi M., French P., Baumert B.G., Stupp R., Gorlia T.,eller M., Capper D., Korshunov A., Herold-Mende C., Wick W., Louis D.N., von Deimling A. Novel, improved grading system(s) for IDH-mutant astrocytic gliomas. *Acta Neuropathol.* 2018; 136 (1): 153–166. DOI: 10.1007/s00401-018-1849-4.
46. Cohen H., Ben-Hamo R., Gidoni M., Yitzhaki I., Kozol R., Zilberberg A., Efroni S. Shift in GATA3 functions, and GATA3 mutations, control progression and clinical presentation in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2014; 16 (6): 464. DOI: 10.1186/s13058-014-0464-0.
47. Kaufmann I., Martin G., Friedlein A., Langen H., Keller W. Human Fip1 is a subunit of CPSF that binds to U-rich RNA elements and stimulates poly(A) polymerase. *EMBO J.* 2004; 23 (3): 616–626.
48. Heinrich M.C., Corless C.L., Duensing A., McGreevey L., Chen C.J., Joseph N., Singer S., Griffith D.J., Haley A., Town A., Demetri G.D., Fletcher C.D., Fletcher J.A. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science.* 2003; 299 (5607): 708–710. DOI: 10.1126/science.1079666.
49. Sun J., Pedersen M., Rönnstrand L. The D816V mutation of c-Kit circumvents a requirement for Src family kinases in c-Kit signal transduction. *J. Biol. Chem.* 2009; 284(17): 11039–11047. DOI: 10.1074/jbc.M808058200.
50. Watanabe T., Nobusawa S., Kleihues P., Ohgaki H. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am. J. Pathol.* 2009; 174 (4) : 1149–1153. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080958.
51. Pathania M., De Jay N., Maestro N., Harutyunyan A.S., Nirtarska J., Pahlavan P., Henderson S., Mikael L.G., Richard-Londt A., Zhang Y., Costa J.R., Hébert S., Khazaei S., Ibrahim N.S., Herrero J., Riccio A., Albrecht S., Kettler R., Brandner S., Kleinman C.L., Jabado N., Salomoni P. H3.3K27M Cooperates with Trp53 Loss and PDGFRA gain in mouse embryonic neural progenitor cells to induce invasive high-grade gliomas. *Cancer Cell.* 2017; 32 (5): 684–700.e9. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.09.014.

Сведения об авторах

Никитин Павел Владимирович, науч. сотрудник, лаборатория нейроморфологии и молекулярных методов исследования, НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, г. Москва. ORCID 0000-0003-3223-4584.

Беляев Артём Юрьевич, канд. мед. наук, врач-нейрохирург, лаборатория нейроморфологии и молекулярных методов исследования, НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, г. Москва. ORCID 0000-0002-2337-6495.

Рыжова Марина Владимировна, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией нейроморфологии и молекулярных методов исследования, НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, г. Москва. ORCID 0000-0001-7206-6365.

(✉) **Никитин Павел Владимирович**, e-mail: nikitinpaulv@yandex.com.

Поступила в редакцию 25.09.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Адипонектин и инсулин: молекулярные механизмы реализации метаболических нарушений

Учасова Е.Г., Груздева О.В., Белик Е.В., Дылева Ю.А.

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

РЕЗЮМЕ

Адипонектин – самый распространенный адипоцитокин в плазме крови, который играет критическую метаболическую и противовоспалительную роль. При инсулинорезистентности, связанной с ожирением, происходит увеличение концентрации адипонектина, что приводит к активации сигнальных путей, участвующих в регуляции метаболизма. В настоящее время адипонектин исследуется в качестве потенциальной терапевтической мишени для метаболического синдрома, хотя необходимы дополнительные исследования, чтобы понять основные механизмы, контролирующие уровень адипонектина в крови. В этом обзоре мы представим основные механизмы, контролирующие уровень адипонектина в сыворотке крови, и его роль в инсулин-сенситизирующем действии, а также оценим потенциальное использование адипонектина и его рецепторов в качестве потенциальной терапевтической мишени.

Ключевые слова: адипонектин, инсулин, адипоциты, ожирение.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Учасова Е.Г., Груздева О.В., Белик Е.В., Дылева Ю.А. Адипонектин и инсулин: молекулярные механизмы реализации метаболических нарушений. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 188–197. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-188-197>.

Adiponectin and insulin: molecular mechanisms of metabolic disorders

Uchasova E.G., Gruzdeva O.V., Belik E.V., Dyleva Yu.A.

Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6, Sosnovy Blv., 650062, Kemerovo, Russian Federation

ABSTRACT

Adiponectin, the most common plasma adipocytokine, plays a crucial metabolic and anti-inflammatory role. With insulin resistance associated with obesity, an increase of adiponectin concentration, which leads to the activation of signaling pathways involved in the regulation of metabolism, occurs. Currently, adiponectin is being investigated as a potential therapeutic target for metabolic syndrome, although more research is required to understand the underlying mechanisms controlling its levels. In this review, we will examine the main mechanisms that control

adiponectin levels in blood serum and its role in insulin-sensitizing effect, as well as evaluate the potential use of adiponectin and its receptors as a potential therapeutic target.

Keywords: adiponectin, insulin, adipocytes, obesity.

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

Source of financing. No funding was received.

For citation: Uchasova E.G., Gruzdeva O.V., Belik E.V., Dyleva Yu.A. Adiponectin and insulin: molecular mechanisms of metabolic disorders. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 188–197. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-188-197>.

ВВЕДЕНИЕ

Адипонектин – один из наиболее изученных адипоцитокинов. С момента обнаружения адипонектина в жировой ткани было показано, что он может секретироваться в скелетных мышцах, остеобластах и лимфоцитах [1, 2]. Тем не менее жировая ткань остается основным источником адипонектина в сыворотке, который варьирует от 2 до 26 мкг/мл и составляет >0,01% сывороточного белка [3–5].

Взаимосвязь адипонектина и инсулина в последние годы широко изучается, поскольку сенситизирующее влияние адипонектина на инсулин посредством связывания с его рецепторами приводит к активации аденозинмонофосфат-активируемой протеинкиназы (АМРК), рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPAR- α) и, возможно, других неизученных молекулярных путей, в связи с чем необходимо его дальнейшее исследование. При инсулинорезистентности (ИР), связанной с ожирением, содержание адипонектина снижается, что ведет к активации сигнальных путей, регулирующих метаболизм [3, 4]. При этом данных о влиянии инсулина на синтез и секрецию адипонектина в современной литературе недостаточно. В этом обзоре обобщены последние данные о влиянии инсулина на уровни адипонектина в сыворотке крови, а также рассмотрена взаимосвязь между адипонектиновой системой и ИР. Кроме того, рассмотрено возможное использование адипонектина или его рецепторов в качестве терапевтической мишени при сердечно-сосудистых заболеваниях.

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА АДИПОНЕКТИНА

Адипонектин представляет собой гликопротеин [6], кодируемый транскриптом одного гена, и состоит из 247 аминокислот соответственно. Он имеет N-концевой сигнальный пептид (~28–32 аминокислоты), за которым следует гипервариабельная область (12 аминокислот), содержащая консервативные аминокислоты, необходимые для олигомеризации, и коллагеновую область, содержащую 22 Gly-X-Y повторы, где X и Y – это, чаще всего, пролин, изолейцин или гидроксипролин (66 аминокислот) и C-концевой глобулярный домен, составляющий 55% (136–137 аминокислот) от общего количества аминокислот [7]. Интересно, что глобулярный домен адипонектина является структурным гомологом к TNF α . Однако, несмотря на структурную гомологию, гомологических последовательностей не так много, за исключением четырех консервативных остатков, ответственных за поддержание структурных складок. Коллагеновый домен адипонектина имеет общую гомологию с белком комплемента C1q [7]. Таким образом, адипонектин относят к паралогическому семейству белков, известных как C1Q/TNF-связанных белков, или CTRPs [7].

кислоты), за которым следует гипервариабельная область (12 аминокислот), содержащая консервативные аминокислоты, необходимые для олигомеризации, и коллагеновую область, содержащую 22 Gly-X-Y повторы, где X и Y – это, чаще всего, пролин, изолейцин или гидроксипролин (66 аминокислот) и C-концевой глобулярный домен, составляющий 55% (136–137 аминокислот) от общего количества аминокислот [7]. Интересно, что глобулярный домен адипонектина является структурным гомологом к TNF α . Однако, несмотря на структурную гомологию, гомологических последовательностей не так много, за исключением четырех консервативных остатков, ответственных за поддержание структурных складок. Коллагеновый домен адипонектина имеет общую гомологию с белком комплемента C1q [7]. Таким образом, адипонектин относят к паралогическому семейству белков, известных как C1Q/TNF-связанных белков, или CTRPs [7].

МУЛЬТИМЕРНЫЕ ФОРМЫ АДИПОНЕКТИНА (ОЛИГОМЕРИЗАЦИЯ)

Адипонектин в сыворотке крови существует в виде следующих олигомерных комплексов: тримера (LMW, форма low molecular weight), гексамера (MMW, форма medium molecular weight), 12- или 18-мера (HMW, форма high molecular weight) [7, 8]. Помимо этих форм адипонектина существует малая форма, которая называется gAd. gAd, состоит в основном из трех C-концевых глобулярных доменов, удерживаемых вместе сильной гидрофобностью внутреннего ядра тримера [8]. Предполагается, что HMW-адипонектин также может служить формой хранения gAd, которая образуется из HMW [9].

Существование множества олигомерных структур способствует многогранной активности адипо-

нектин, так что разные олигомеры действуют на разные ткани-мишени с разными биологическими эффектами. HMW-адипонектин действует на печень и снижает уровень глюкозы в сыворотке крови, тогда как LMW- или MMW-адипонектин не обладает данными эффектами [10]. Олигомер HMW необходим для сенсibiliзирующего действия адипонектина на инсулин путем ингибирования глюконеогенеза в печени [7]. Однако gAd усиливает окисление жирных кислот и сенсibiliзацию к инсулину в скелетных мышцах [11, 12]. В культивируемых миотрубках формы C2C12 HMW и MMW адипонектина активируют NF- κ B; в то время как тример форма активирует AMPK α [13, 14]. Напротив, Y. Nada и соавт. показали, что адипонектин HMW хорошо связывается с мембранной фракцией C2C12 мышечных трубок [15]. В центральной нервной системе олигомеры HMW (большие размеры) не проходят через гематоэнцефалический барьер. Таким образом, центральные действия адипонектина опосредованы только тримерными и гексамерными олигомерами.

Примечательно, что экзогенные олигомеры адипонектина не подвергаются превращению в сыворотке крови в другие олигомерные формы [16]. Было доказано, что внутриклеточная продукция олигомеров имеет решающее значение для поддержания их сывороточного соотношения. Более того, аффинность связывания различных олигомеров адипонектина с его рецепторами, а также тканеспецифическое распределение рецепторов, по-видимому, способствуют дифференцированному действию адипонектина [17].

АДИПОНЕКТИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

AdipoR1 и AdipoR2 принадлежат к семейству RAQR (семейство рецепторов прогестина и adipoQ), состоят из семи трансмембранных доменов, похожих на G-белок связанных рецепторов (GPCR). Однако в отличие от GPCR, adipoR не связан с G-белком, и у него внеклеточный C-конец, а N-конец – внутриклеточный [18]. Основной тканью, экспрессирующей AdipoR1, являются скелетные мышцы, а AdipoR2 экспрессируется преимущественно клетками печени. Кроме того, AdipoR1 и AdipoR2 связываются с олигомерными формами адипонектина с различной аффинностью, например gAd преимущественно связывается с AdipoR1, тогда как полноразмерный адипонектин – в основном с AdipoR2 [18]. После связывания с рецептором происходит активация внутриклеточных сигнальных путей, что приводит к появлению различных физиологических эффектов.

Белки, взаимодействующие с рецепторами адипонектина

Известно, что AdipoR1 и AdipoR2 не обладают собственной киназной/фосфорилирующей активностью. Мутагенез внутриклеточных остатков тирозина, которые обычно действуют как сигнальные остатки инициатора в других рецепторах, не блокирует передачу сигналов адипонектина [19]. До сих пор APPL1 (адаптерный белок, содержащий гомологический домен плекстрина), ERp46 (белок эндоплазматического ретикулома 46), Rack1 (рецептор для активации С-киназы 1) и CK2 β (казеин киназа 2 β) были идентифицированы для непосредственного взаимодействия с AdipoRs (рис.).

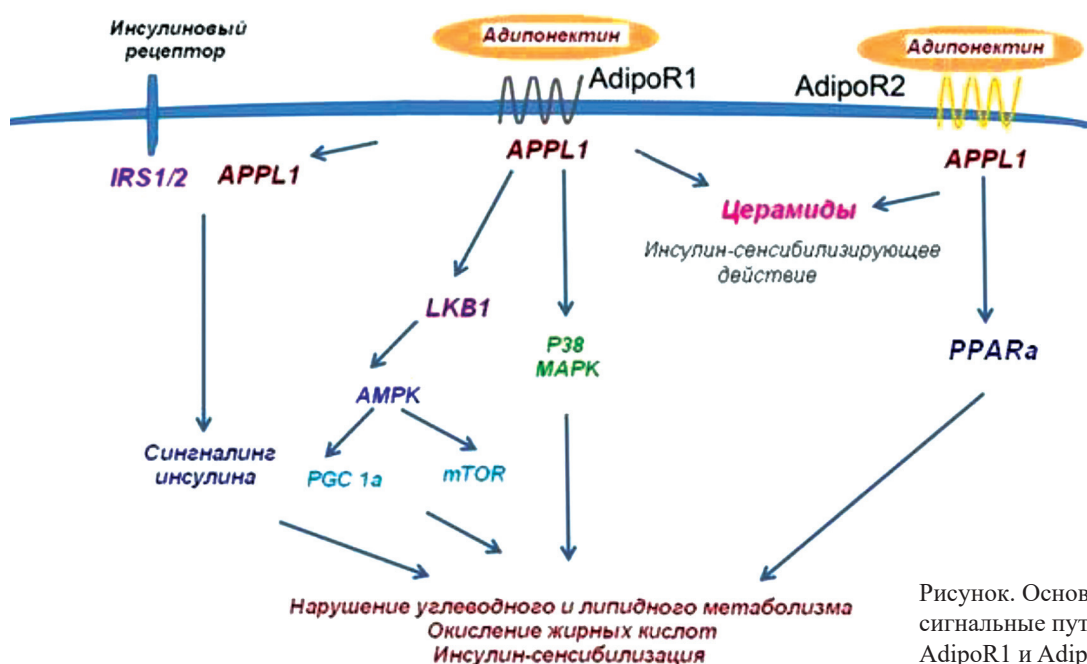


Рисунок. Основные внутриклеточные сигнальные пути, индуцированные AdipoR1 и AdipoR2

Белок APPL. Был идентифицирован как белок-адаптер, связывающийся с AdipoR, действующий как на AdipoR1, так и AdipoR2, чтобы облегчить внутриклеточную передачу сигналов. Связывание лиганда с AdipoR1 усиливает взаимосвязь AdipoR1-APPL1 [20]. Сверхэкспрессия APPL1 в C2C12 мышечных трубках повышает базальное и адипонектин-индуцированное фосфорилирование AMPK, p38 и ACC (ацетил-СоА карбоксилаза), которое опосредует метаболические функции адипонектина. В соответствии с этим показано, что нокаут APPL1 ингибирует передачу сигналов, опосредованную AdipoR1 [21].

APPL2 является изоформой APPL1 со сходством последовательностей и схожей организацией доменов, составляющим 54%. Он действует как ингибитор активности APPL1 [22]. Кроме того, способен связываться с AdipoR через свой домен BAR. Трансгенная экспрессия APPL2 предотвращает связывание APPL1-AdipoR1. Это происходит либо путем конкуренции APPL1 за связывание с AdipoR1, либо путем образования гетеродимера с APPL1, тем самым ингибируя взаимодействие APPL1-AdipoR1. Подавление экспрессии APPL2 улучшает адипонектин-индуцированное окисление жирных кислот и поглощение глюкозы [19]. Также APPL1 усиливает активацию eNOS и продукцию NO в эндотелиальных клетках посредством блокирования путем прямой конкуренции соединения Akt (сигнального промежуточного звена в пути передачи сигналов инсулина с его эндогенным ингибитором триблем 3 (TRB3)). В адипоцитах и мышечных клетках APPL1 образует комплекс с Akt2, который диссоциирует при стимуляции инсулином для регуляции стимулированной инсулином транслокации мембраны GLUT4. APPL1 также облегчает связывание IRS1/2 с рецептором инсулина.

Промежуточные сигнальные молекулы

LKB1 (b1-киназа печени). После активации лиганд-связанным AdipoR1 в цитоплазме APPL1 взаимодействует и активирует PP2A (белок фосфатазы 2A). Активированный PP2A деактивирует PKC (протеин киназа C) через дефосфорилирование (треонин 410). PKC представляет собой серин/треонин киназу, которая фосфорилирует LKB1 серин (307) и способствует его ядерной транслокации. Деактивация PKC приводит к накоплению LKB1 в цитоплазме, а также увеличивает его взаимодействие с APPL1. В цитоплазме APPL1 связывает LKB1, фосфорилирует AMPK [22].

СаМКК (кальций/кальмодулин зависимая киназа киназы). СаМКК обладает значительной последовательностью и структурной гомологией с LKB1 [23]. Есть две изоформы СаМКК: СаМКК α и СаМКК β .

Они кодируются двумя разными генами и имеют 70%-ю гомологию аминокислотной последовательности. Показано, что адипонектин усиливает наработку цитоплазматического Ca^{2+} либо путем высвобождения Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума, либо за счет внеклеточного притока Ca^{2+} [24]. В отличие от LKB1, СаМКК-опосредованное фосфорилирование AMPK зависит только от Ca^{2+} [25]. Кроме того, в экспериментальном исследовании М. Iwabu с коллегами, выполненном на мышах, нокаутированных по AdipoR1, было показано, что связывание AdipoR1 с лигандом индуцирует приток Ca^{2+} и активирует СаМКК β , что приводит к фосфорилированию AMPK [26].

АМРК. АМРК представляет собой серин/треонин протеинкиназу, также называемую метаболическим сенсором клетки. Функциональный белок АМРК представляет собой гетеротример, состоящий из α -, β - и γ -субъединиц. Каталитическая субъединица α также имеет сайт фосфорилирования треонин (172), тогда как β - и γ -субъединицы играют регуляторную роль. α -субъединица имеет два варианта: $\alpha 1$ (является исключительно цитоплазматической) и $\alpha 2$ (локализуется в ядре). Помимо вышеперечисленных киназ (LKB1 и СаМКК β) АМРК также активируется аллостерическим связыванием АМР, клеточный уровень которого увеличивается в состоянии истощения энергии [27].

Адипонектин индуцирует активацию АМРК в основных периферических тканях-мишенях. Было показано, что AdipoR1-опосредованное фосфорилирование АМРК ингибирует синтез гликогена в скелетных мышцах [28]. Вероятно, ингибирование обусловлено фосфорилированием гликогенсинтазы на серин (7) только с помощью АМРК $\alpha 2$ [29]. АМРК также может фосфорилировать и активировать PGC1 α (рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами γ -коактивированный 1 α) [30]. Также имеются данные об альтернативном пути активации PGC1 α адипонектином, включающем деацетилирование PGC1 α посредством активации сиртуина 1 (SIRT1). Впоследствии сиртуин 1-опосредованная активация PGC1 α активирует глюконеогенные гены и уровень печеночной глюкозы, а также PGC1 α -опосредованное ингибирование гликолиза [31]. Активированный СаМКК β также может активировать PGC1 α независимо от АМРК [31]. Кроме того, активированный PGC1 α увеличивает митохондриальный биогенез и митохондриальное дыхание, что впоследствии усиливает окисление жирных кислот в мышцах [31].

Активированный АМРК также индуцирует транслокацию инсулин-зависимого транспортера

глюкозы GLUT4 (глюкозный транспортер тип 4) на клеточную поверхность различных типов клеток, включая скелетные мышцы, адипоциты и кардиомиоциты, тем самым увеличивая поглощение глюкозы, которое является одним из инсулин-сенситизирующих эффектов адипонектина. S.L. Torn и соавт. предложили модель транслокации GLUT4, в которой активировали AMPK напрямую или через путь mTOR инактивации AS160 (субстрат для протеинкиназы Akt 160 кДа), как при передаче сигналов инсулина [32], тем самым иницируя транслокацию GLUT4 на клеточную поверхность [33]. Кроме того, через AMPK-опосредованное фосфорилирование Rheb (гомолог Ras) адипонектин ингибирует киназу p70 S6, которая не в состоянии фосфорилировать серин (302) и активировать IRS1 (субстрат рецептора инсулина 1). В конечном итоге это способствует инсулин-сенситизирующему действию адипонектина [34].

Добавление различных олигомерных форм адипонектина (HMW или LMW) в культуральную среду, содержащую гепатоциты, приводит к снижению выработки глюкозы в среде за счет транскрипционного подавления G6P (глюкозы 6 фосфат) и PEPCK (фосфоенолпируваткарбоксилаза), ответственного за глюконеогенез и гликогенолиз, соответственно, через AMPK-зависимый механизм [35]. Кроме того, появились данные о независимом ингибировании LKB1-AMPK глюконеогенеза [35].

AMPK-сигналинг также активирует аутофагию путем фосфорилирования Ulk1 (Unc-51-подобная киназа 1 или киназа, иницирующая аутофагию млекопитающих) в условиях дефицита питательных веществ – серин (317) и серин (777). Кроме того, AMPK фосфорилирует и тем самым деактивирует mTOR (мишень рапамицина млекопитающих), который является известным ингибитором аутофагии. В средах, богатых питательными веществами, mTOR ингибирует индукцию аутофагии, фосфорилируя серин (757) Ulk1, тем самым предотвращая связывание AMPK и последующую активацию Ulk1 [36]. Показано, что адипонектин вызывает аутофагию AMPK-зависимым образом в различных типах клеток, включая кардиомиоциты и скелетные мышцы [37]. Он также индуцирует дифференцировку клеток гладкой мускулатуры сосудов посредством AMPK-опосредованного ингибирования комплекса mTOR [38]. Примечательно, что аутофагия является важным механизмом дифференцировки клеток различных типов [38].

p38 MAPK. APPL1 действует как якорь для адипонектин-опосредованной активации пути p38 MAPK. В экспериментальных исследованиях было показано, что p38 MAPK и сигнальные компоненты

каскада объединяются с помощью APPL1. В базальных условиях TAK1 (трансформирующий фактор роста- β , активированный киназой) находится рядом с APPL1, тогда как MKK3 (MAP киназа-3) и p38 MAPK остаются слабо связанными с APPL1 [38]. APPL1, активированный адипонектином, дополнительно активирует TAK1 и впоследствии образуется комплекс, состоящий из MAPK AdipoR1, APPL1, TAK1, MKK3 и p38. Активированный TAK1 впоследствии фосфорилирует MKK3, который, в свою очередь, фосфорилирует p38 MAPK. После фосфорилирования MKK3 TAK1 диссоциирует от APPL1, и активность TAK1 быстро понижается. TAK1 может напрямую фосфорилировать AMPK. Также показано, что активированный p38 MAPK оказывает антилипогенное действие на мышцы [40].

PPAR. PPAR активирует ACO (ацетил CoA оксидазу) и UCPs (разобщающие белки), что в конечном итоге способствует окислению жирных кислот и усиленному расходу энергии в скелетных мышцах [41]. Передача сигналов PPAR α повышает чувствительность печеночного инсулина и, следовательно, улучшает усвоение глюкозы в печени [41]. PPAR-опосредованный сигналинг также активирует каталазу и SOD1 (супероксиддисмутаза 1-го типа) в гепатоцитах, что дополнительно способствует инсулин-сенситизирующему действию адипонектина в печени путем снижения окислительного стресса [41]. PPAR γ , который индуцирует экспрессию адипонектина в жировой ткани, также активируется адипонектином [41].

ИНСУЛИН-СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АДИПОНЕКТИНА

Адипонектин оказывает сенситизирующее действие на инсулин и другие полезные метаболические эффекты, ингибируя глюконеогенез в печени и усиливая окисление жирных кислот посредством активации АМФ-активированной протеинкиназы (АМФК) и рецептора, активируемого пролифератором пероксисом α (PPAR α) [42, 43], а также ингибирование ацетил-кофермент А-карбоксилазы в печени и мышцах [44]. Более того, его противовоспалительное действие обусловлено уменьшением миграции макрофагов и пенистых клеток через сосудистую стенку и поляризацией макрофагов [44]. В исследованиях Y. Fu и соавт. было показано, что избыточная экспрессия адипонектина в адипоцитах повышает чувствительность к инсулину, модулируя пролиферацию, дифференцировку и накопление липидов [45].

При ожирении наблюдается активный рост жировой ткани: гиперплазия и гипертрофия. В ответ на

энергетический баланс адипоциты продуцируют и секретируют различные пептиды. В исследованиях было показано, что адипонектин является потенциальным ключевым медиатором гомеостаза глюкозы при состояниях ожирения и ИР [46]. Тем не менее аутокринные действия и функции адипонектина для передачи сигналов инсулина адипоцитов и транспорта глюкозы в настоящее время полностью не изучены. В экспериментальном исследовании E. Chang и соавт. добавляли инсулин в культуральную среду, содержащую адипоциты, это индуцировало снижение экспрессии мРНК адипонектина [47]. В свою очередь, дефицит адипонектина в культуральной среде приводил к снижению стимулированного инсулином поглощения глюкозы и уменьшению активации AMPK в инсулин-чувствительных адипоцитах.

В настоящее время известно, что наибольшее значение для передачи инсулинового сигнала имеют IRS-белки, IRS-1 и IRS-2 экспрессируются практически во всех типах клеток и тканей [43]. IRS-1 опосредует регуляторные эффекты инсулина на метаболические и ростовые процессы на периферии, в то время как IRS-2 в большей степени ответствен за центральные эффекты инсулина, включая контроль дифференцировки и роста нейрональных клеток, центральную регуляцию пищевого поведения, глюкозного гомеостаза и эндокринных функций. Доказано, что снижение содержания IRS-1 связано с ИР и сахарным диабетом (СД) 2-го типа [48]. Кроме того, T. Yamauchi и соавт. обнаружили, что введение глобулярного адипонектина липотропным мышам улучшало чувствительность к инсулину за счет усиления стимулированного инсулином фосфорилирования тирозина IRS-1 [43]. В миотрубках C2C12 обработка адипонектином снижает фосфорилирование IRS-1 на серин (636/639), что ингибирует последующее стимулированное инсулином фосфорилирование тирозина IRS-1 с помощью инсулинового рецептора. Также было доказано, что наличие ИР приводит к изменению экспрессии GLUT4 в плазматической мембране и внутриклеточных компартментах адипоцитов с делецией гена адипонектина [49].

АКТ (протеинкиназа B) – следующая мишень для передачи сигналов инсулина в клетке, вызывает различные метаболические действия, опосредованные инсулином; доказано, что активность АКТ заметно снижается при СД 2-го типа [50]. В своем исследовании E. Chang и соавт. показали, что добавление инсулина в культуральную среду, содержащую адипоциты, сопровождается активацией АКТ. Однако делеция адипонектина не приводила к дальнейшей активации АКТ по сравнению с контрольными клетками, трансфицированными siРНК (класс

двухцепочечных РНК длиной 20–25 нуклеотидов) [47]. Эти результаты позволяют предположить, что АКТ-сигналинг не участвует в индуцированном адипонектиновом снижении транспорта глюкозы, стимулированного инсулином. В этом процессе ключевую роль играет GLUT4, который участвует в клиренсе глюкозы, а GLUT1 играет второстепенную роль, в основном для поглощения глюкозы при неинсулиновой стимуляции [50]. При ИР состояниях, включая ожирение и СД 2-го типа, экспрессия GLUT4 в адипоцитах снижается [50]. А сверхэкспрессия GLUT4 в жировой ткани приводит к повышению толерантности к глюкозе [50].

Следует отметить, что экспрессия AdipoR1/R2 в тканях-мишенях инсулина, по-видимому, обратно коррелирует с уровнем инсулина в плазме, поскольку инсулин негативно регулирует уровни экспрессии рецепторов адипонектина через путь PI3-киназы/Foxo1. Таким образом, не только агонизм AdipoR1/R2, но и стратегии по увеличению AdipoR1/R2 могут быть логическими подходами для обеспечения нового метода лечения ИР и СД 2-го типа, поскольку нами было продемонстрировано, что у пациентов с висцеральным ожирением в отдаленном постинфарктном периоде чаще наблюдалась манифестация СД 2-го типа [52].

Также известно, что адипонектин косвенно регулирует чувствительность к инсулину, модулируя иммунные ответы. Примечательно, что адипонектин оказывает антиапоптотическое действие на кардиомиоциты и β -клетки поджелудочной железы и снижает окислительный стресс в эндотелиальных клетках [43]. Несмотря на эти хорошо известные эндокринные эффекты адипонектина, его аутокринные/паракринные эффекты остаются не до конца изученными. Так, адипонектин снижает содержание церамидов в печени за счет усиления их катаболизма и выработки антиапоптотического метаболита сфингозин-1-фосфата (S1P), тем самым улучшая чувствительность к инсулину, подавляя воспаление. Тем не менее роль адипонектина в контроле содержания жировых церамидов неясна. Сверхэкспрессия адипонектина в жировой ткани мышей ob/ob уменьшает толщину жировой ткани и системное воспаление и способствует накоплению жира в подкожных жировых отложениях, включающих более мелкие адипоциты, что приводит к улучшению чувствительности к системному инсулину и выживаемости β -клеток поджелудочной железы [43]. Однако физиологическое действие эндогенного адипонектина, полученного из адипоцитов, на жировую ткань неизвестно.

При изучении молекулярных механизмов, лежащих в основе инсулин-сенсбилизирующего

действия адипонектина, появляется все больше доказательств того, что адипонектин активирует внутриклеточные сигнальные пути посредством активации AMPK и p38 MAPK в клетках скелетных мышц [53]. Стимуляция утилизации глюкозы и окисления жирных кислот адипонектином опосредуется AMPK и p38 MAPK [44]. А повышенная экспрессия AMPK в миотрубках C2C12 снижает инсулин-сенситизирующее действие адипонектина [44]. Кроме того, блокировка AMPK-пути ингибирует индуцированные адипонектином инсулинсенситизирующие эффекты [54]. Таким образом, в настоящее время инсулин-сенситизирующие эффекты адипонектина изучены только на периферических тканях, таких как мышцы и печень. Доказано, что делеция гена адипонектина ухудшает передачу сигналов инсулина одновременно со снижением активации AMPK в инсулин-чувствительных, но не инсулин-резистентных адипоцитах. Однако аутокринные эффекты адипонектина на поглощение глюкозы адипоцитами и передачу сигналов инсулина полностью не выяснены.

АДИПОНЕКТИН И ЕГО РЕЦЕПТОРЫ В КАЧЕСТВЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ МИШЕНИ ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И СД 2-ГО ТИПА

Рассматриваются несколько стратегий для усиления благоприятных эффектов адипонектина, включая повышение как его уровня в плазме, так и его активности. Уровни циркулирующего адипонектина могут быть повышены либо путем непосредственного использования экзогенного адипонектина, например посредством инъекции, либо путем увеличения эндогенного адипонектина посредством лечения. Из-за высокого уровня циркулирующей крови и мультимерных конформаций адипонектина прямое использование экзогенного адипонектина затруднено. Таким образом, лучшим вариантом остается повышение уровня эндогенного адипонектина за счет использования фармакологических препаратов, нутрицевтических соединений и модификации образа жизни. Фармацевтические продукты, эффективные для повышения уровня циркулирующего адипонектина, включают агонисты PPAR- α тиазолидионы (TZD), ингибиторы системы ренин-ангиотензин, такие как ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента и блокаторы рецепторов ангиотензина II [55, 56].

Кроме того, активно обсуждается влияние статинов. Недавно нами было показано, что раннее применение статинов у больных с инфарктом миокарда приводит к значительному повышению уровня ади-

понектина и соотношения адипонектин/лептин, что рассматривается как благоприятный эффект аторвастатина, который способствует снижению адипокинового дисбаланса, нормализации липидного обмена и снижению ИР [57].

Среди нутрицевтических соединений рыбий жир, линолевая кислота, экстракт зеленого чая, полифенол ресвератрол и представитель защитных белков растений осмотин были недавно идентифицированы как потенциальные агонисты рецепторов адипонектина, способные повышать концентрацию адипонектина [58]. Кроме того, потеря веса или физическая активность способна повысить уровень адипонектина, особенно среди лиц с ожирением или диабетом [58].

Альтернативный подход к усилению благоприятных эффектов адипонектина заключается в усилении его передачи через соединения, которые могут воздействовать на AdipoR. Лечение препаратами-агонистами PPAR γ , такими как пиоглитазон и росиглитазон, повышает уровень адипонектина в плазме, а также увеличивает чувствительность к инсулину у пациентов с ИР и диабетом [58]. Кроме того, лечение пиоглитазоном повышает уровень адипонектина в плазме. W.S. Lin и соавт. показали, что введение росиглитазона повышает уровень мРНК адипонектина в дифференцированных адипоцитах 3T3-L1 в течение 1 сут [59].

Также показано, что инсулин негативно регулирует HMW-адипонектиновый комплекс. В соответствии с этим опосредованное TZD улучшение чувствительности к инсулину коррелировало с концентрацией HMW-адипонектина [59]. Хотя TZD являются широко используемым классом противодиабетических препаратов, большая часть пациентов не демонстрирует улучшения чувствительности к инсулину [49]. Механизм, посредством которого TZD стимулируют повышение уровня адипонектина, неизвестен, но секреторный путь адипоцитов, по-видимому, является основным местом действия.

Фармакологическая активация AMFК метформином обладает терапевтическим потенциалом для устранения метаболических нарушений, таких как СД 2-го типа и неалкогольная жировая болезнь печени. AMPK напрямую фосфорилирует ферменты и факторы транскрипции, участвующие в поглощении глюкозы, жирных кислот в их митохондриальном метаболизме, путем переключения катаболических путей [60]. Он также отключает синтез глюкозы, гликогена и липидов в печени через анаболические пути и способствует усвоению глюкозы в мышцах. Сообщается также, что метформин улучшает чувствительность к инсулину, активируя AMPK, тем

самым ингибируя синтез жирных кислот и триглицеридов и способствуя окислению жиров [61].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы, благодаря своему положительному регулирующему действию при некоторых состояниях, включая ИР, адипонектин вызывает наибольший клинический интерес. Некоторые проблемы, связанные с молекулярными и клеточными механизмами, лежащими в основе функционирования системы «инсулин – адипонектин», могут быть приняты во внимание в качестве потенциально полезных при разработке новых фармакологических подходов. Необходимо дальнейшее изучение влияния инсулина на адипокины, чтобы полностью выяснить молекулярные механизмы биосинтеза, секреции и передачи сигналов и их потенциальную терапевтическую ценность.

ЛИТЕРАТУРА

- Maeda K. CDNA Cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (diseased Abundant Gene Transcript 1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 425 (3): 556–559. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.08.023.
- Liu Y., Sweeney G., Adiponectin action in skeletal muscle. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014; 28 (1): 33–41. DOI: 10.1016/j.beem.2013.08.0034.
- Crawford L.J.A., Peake R., Price S., Morris T.C.M., Irvine A.E. Adiponectin is produced by lymphocytes and is a negative regulator of granulopoiesis. *J. Leukoc. Biol.* 2010; 88 (4): 807–811. DOI: 10.1189/jlb.1109723.
- Akingbemi B.T. Adiponectin receptors in energy homeostasis and obesity pathogenesis. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2013; 114: 317–342. DOI: 10.1016/B978-0-12-386933-3.00009-1.
- Беспалова И.Д., Рязанцева Н.В., Калужин В.В., Осихов И.А., Мурашев Б.Ю., Медянцева Ю.А., Рудницкий В.А. Гендерные особенности взаимосвязи гормональной активности жировой ткани и провоспалительного статуса при гипертонической болезни с метаболическим синдромом. *Бюллетень сибирской медицины.* 2014; 13 (5): 12–19. DOI: 10.20538/1682-0363-2014-5-12-19 [
- Wang Y., Lu G., Wong W.P.S., Vliegenthart J.F.G., Gerwig G.J., Lam K.S.L., Cooper G.J., Xu A. Proteomic and functional characterization of endogenous adiponectin purified from fetal bovine serum. *Proteomics.* 2004; 4 (12): 3933–3942. DOI: 10.1002/pmic.200400826.
- Wang Y., Lam K.S., Yau M.H., Xu A. Post-translational modifications of adiponectin: mechanisms and functional implications. *Biochem. J.* 2008; 409 (3): 623–633. DOI: 10.1042/BJ20071492.
- Waki H., Yamauchi T., Kamon J., Kita S., Ito Y., Hada Y., Uchida S., Tsuchida A., Takekawa S., Kadowaki T. Generation of globular fragment of adiponectin by leukocyte elastase secreted by monocytic cell line THP-1. *Endocrinology.* 2005; 146 (2): 790–796. DOI: 10.1210/en.2004-1096.
- Halberg N., Schraw T.D., Wang Z.V., Kim J.Y., Yi J., Hamilton M.P., Luby-Phelps K., Scherer P.E. Systemic fate of the adipocyte-derived factor adiponectin. *Diabetes.* 2009; 58 (9): 1961–1970. DOI: 10.2337/db08-1750.
- Pajvani U.B., Hawkins M., Combs T.P., Rajala M.W., Doebber T., Berger J.P., Wagner J.A., Wu M., Knopps A., Xiang A.H., Utzschneider K.M., Kahn S.E., Olefsky J.M., Buchanan T.A., Scherer P.E. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (13): 12152–12162. DOI: 10.1074/jbc.M311113200.
- Wang Y., A. Xu, C. Knight, L.Y. Xu, Cooper G.J.S. Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (22): 19521–19529. DOI: 10.1074/jbc.M200601200.
- Fruebis J., Tsao T.S., Javorschi S., Ebbets-Reed D., Erickson M.R.S., Yen F.T., Bihain B.E., Lodish H.F. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001; 98 (4): 2005–2010. DOI: 10.1073/pnas.98.4.2005.
- Tsao T.S.S., Murrey H.E., Hug C., Lee D.H., Lodish H.F. Oligomerization statedependent activation of NF- κ B signaling pathway by adipocyte complement-related protein of 30 kDa (Acrp30). *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (33): 29359–29362. DOI: 10.1074/jbc.C200312200.
- Tsao T.S., Tomas E., Murrey H.E., Hug C., Lee D.H., Ruderman N.B., Heuser J.E., Lodish H.F. Role of disulfide bonds in Acrp30/Adiponectin structure and signaling specificity: different oligomers activate different signal transduction pathways. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (50): 50810–50817. DOI: 10.1074/jbc.M309469200.
- Hada Y., Yamauchi T., Waki H., Tsuchida A., Hara K., Yago H., Miyazaki O., Ebinuma H., Kadowaki T. Selective purification and characterization of adiponectin multimer species from human plasma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 356 (2): 487–493. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.03.004.
- Peake P.W., Kriketos A.D., Campbell L.V., Shen Y., Charlesworth J.A. The metabolism of isoforms of human adiponectin: studies in human subjects and in experimental animals. *Eur. J. Endocrinol.* 2005; 153 (3): 409–417. DOI: 10.1530/eje.1.01978.
- Pischoon T., Hotamisligil G.S., Rimm E.B. Adiponectin: stability in plasma over 36 hours and within-person variation over 1 year. *Clin. Chem.* 2003; 49 (4): 650–652. DOI: 10.1373/49.4.650.
- Tanabe H., Fujii Y., Okada-Iwabu M., Iwabu M., Nakamura Y., Hosaka T. Crystal structures of the human adiponectin receptors. *Nature.* 2015; 520 (7547): 312–316. DOI: 10.1038/nature14301.
- Ruan H., Dong L.Q. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *J. Mol. Cell Biol.* 2016; 8: 101–109. DOI: 10.1093/jmcb/mjw014.
- Mao X., Kikani C.K., Riojas R.A., Langlais P., Wang L., Ramos F.J., Fang Q., Christ-Roberts C.Y., Hong J.Y., Kim R.Y., Liu F., Dong L.Q. APPL1 binds to adiponectin receptors and

- mediates adiponectin signalling and function. *Nat. Cell Biol.* 2006; 8 (5): 516–523. DOI: 10.1038/ncb1404.
21. Buechler C., Wanninger J., Neumeier M. Adiponectin receptor binding proteins – recent advances in elucidating adiponectin signalling pathways. *FEBS Lett.* 2010; 584 (20): 4280–4286. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.09.035.
 22. Deepa S.S., Zhou L., Ryu J., Wang C., Mao X., Li C., Zhang N., Musi N., DeFronzo R.A., Liu F., Dong L.Q. APPL1 mediates adiponectin-induced LKB1 cytosolic localization through the PP2A-PKC ζ signaling pathway. *Mol. Endocrinol.* 2011; 25 (10): 1773–1785. DOI: 10.1210/me.2011-0082.
 23. Gormand A., Henriksson E., Ström K., Jensen T.E., Sakamoto K., Göransson O., Regulation of AMP-activated protein kinase by LKB1 and CaMKK in adipocytes. *J. Cell. Biochem.* 2011; 112: 1364–1375. DOI: 10.1002/jcb.23053.
 24. Woods A., Dickerson K., Heath R., Hong S.P., Momcilovic M., Johnstone S.R., Carlson M., Carling D. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase- β acts upstream of AMP-activated protein kinase in mammalian cells. *Cell Metab.* 2005; 2 (1): 21–33. DOI: 10.1016/j.cmet.2005.06.005.
 25. Zhou L., Deepa S.S., Etzler J.C., Ryu J., Mao X., Fang Q., Liu D.D., Torres J.M., Jia W., Lechleiter J.D., Liu F., Dong L.Q. Adiponectin activates AMP-activated protein kinase in muscle cells via APPL1/LKB1-dependent and phospholipase C/Ca²⁺/Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase dependent pathways. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (33): 22426–22435. DOI: 10.1074/jbc.M109.028357.
 26. Iwabu M., Yamauchi T., Okada-Iwabu M., Sato K., Nakagawa T., Funata M. Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1 α and mitochondria by Ca(2+) and AMPK/SIRT1. *Nature.* 2010; 464 (7393): 1313–1319. DOI: 10.1038/nature08991.
 27. Kahn B.B., Alquier T., Carling D., Hardie D.G. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 2005; 1 (1): 15–25. DOI: 10.1016/j.cmet.2004.12.003.
 28. Ceddia R.B., Somwar R., Maida A., Fang X., Bikopoulos G., Sweeney G. Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. *Diabetologia.* 2005; 48 (1): 132–139. DOI: 10.1007/s00125-004-1609-y.
 29. Jørgensen S.B., Nielsen J.N., Birk J.B., Olsen G.S., Viollet B., Andreelli F., Schjerling P., Vaulont S., Hardie D.G., Hansen B.F., Richter E.A., Wojtaszewski J.F. The α 2-5'AMP-activated protein kinase is a site 2 glycogen synthase kinase in skeletal muscle and is responsive to glucose loading. *Diabetes.* 2004; 53 (12): 3074–3081. DOI: 10.2337/diabetes.53.12.3074.
 30. Jäger S.S., Handschin C.C., St-Pierre J.J., Spiegelman B.M. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104 (29): 12017–12022. DOI: 10.1073/pnas.0705070104.
 31. Rodgers J.T., Lerin C., Haas W., Gygi S.P., Spiegelman B.M., Puigserver P. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature.* 2005; 434 (7029): 113–118. DOI: 10.1038/nature03314.1.
 32. Thorn S.L., Gollob M.H., Harper M.E., Beanlands R.S., De-kemp R.A., Dasilva J.N. Chronic AMPK activity dysregulation produces myocardial insulin resistance in the human Arg302Gln-PRKAG2 glycogen storage disease mouse model. *EJNMMI Res.* 2013; 3 (1): 48. DOI: 10.1186/2191-219X-3-48.
 33. Stöckli J., Davey J.R., Hohnen-Behrens C., Xu A., James D.E., Ramm G. Regulation of glucose transporter 4 translocation by the Rab guanosine triphosphatase-activating protein AS160/TBC1D4: role of phosphorylation and membrane association. *Mol. Endocrinol.* 2008; 22 (12): 2703–2715. DOI: 10.1210/me.2008-0111.
 34. Wang C., Mao X., Wang L., Liu M., Wetzel M.D., Guan K.L., Dong L.Q., Liu F. Adiponectin sensitizes insulin signaling by reducing p70 S6 kinase-mediated serine phosphorylation of IRS-1. *J. Biol. Chem.* 2007; 282 (11): 7991–7996. DOI: 10.1074/jbc.M700098200.
 35. Combs T.P., Marliss E.B. Adiponectin signaling in the liver. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2014; 15 (2): 137–147. DOI: 10.1007/s11154-013-9280-6.
 36. Kim J., Kundu M., Viollet B., Guan K.L. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat. Cell Biol.* 2011; 13 (2): 132–141. DOI: 10.1038/ncb2152.
 37. Gamberi T., Modesti A., Magherini F., Souza D.M.D., Hawke T., Fiaschi T. Activation of autophagy by globular adiponectin is required for muscle differentiation. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016; 1863 (4): 694–702. DOI:10.1016/j.bbamcr.2016.01.016.
 38. Nollet M., Santucci-Darmanin S., Breuil V., Al-Sahlanee R., Cros C., Topi M., Momier D., Samson M., Pagnotta S., Cailleteau L., Battaglia S., Farlay D., Dacquin R., Barois N., Jurdic P., Boivin G., Heymann D., Lafont F., Lu S.S., Dempster D.W., Carle G.F., Pierrefite-Carle V. Autophagy in osteoblasts is involved in mineralization and bone homeostasis. *Autophagy.* 2014; 10 (11): 1965–1977. DOI:10.4161/auto.36182.
 39. Xie M., Zhang D., Dyck J.R.B., Li Y., Zhang H., Morishima M., Mann D.L., Taffet G.E., Baldini A., Khoury D.S., Schneider M.D. A pivotal role for endogenous TGF- β -activated kinase-1 in the LKB1/AMP-activated protein kinase energy-sensor pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103 (46): 17378–17383. DOI:10.1073/pnas.0604708103.
 40. Yan J., Gan L., Qi R., Sun C. Adiponectin decreases lipids deposition by p38 MAPK/ATF2 signaling pathway in muscle of broilers. *Mol. Biol. Rep.* 2013; 40 (12) 7017–7025. DOI: 10.1007/s11033-013-2821-y.
 41. Yamauchi T., Nio Y., Maki T., Kobayashi M., Takazawa T., Iwabu M. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat. Med.* 2007; 13 (3): 332–339. DOI: 10.1038/nm1557.
 42. Berg A.H., Combs T.P., Du X., Brownlee M., Scherer P.E. The adipocyte-secreted protein crp30 enhances hepatic insulin action. *Nat. Med.* 2001; 7 (8): 947–953. DOI: 10.1038/90992.
 43. Yamauchi T., Kamon J., Waki H., Terauchi Y., Kubota N., Hara K. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat. Med.* 2001; 7 (8): 941–946. DOI: 10.1038/90984.
 44. Yoon M.J., Lee G.Y., Chung J.J., Ahn Y.H., Hong S.H., Kim J.B. Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor α . *Diabetes.* 2006; 55 (9): 2562–2570. DOI: 10.2337/db05-1322.

45. Fu Y., Luo N., Klein R.L., Garvey W.T. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J. Lipid. Res.* 2005; 46 (7): 1369–1379. DOI: 10.1194/jlr.M400373-JLR200.
46. Weyer C., Funahashi T., Tanaka S., Hotta K., Matsuzawa Y., Pratley R.E. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86 (5): 1930–1935. DOI: 10.1210/jcem.86.5.7463.
47. Chang E., Choi J.M., Park S.E., Rhee E.J., Lee W.Y., Oh K.W., Park S.W., Park C.Y. Adiponectin deletion impairs insulin signaling in insulin-sensitive but not insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes. *Life Sci.* 2015; 132: 93–100. DOI: 10.1016/j.lfs.2015.02.013.
48. Kern P.A., Di Gregorio G.B., Lu T., Rassouli N., Ranganathan G. Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor- α expression. *Diabetes.* 2003; 52 (7): 1779–1785. DOI: 10.2337/diabetes.52.7.1779.
49. Danielsson A., Ost A., Lystedt E., Kjolhede P., Gustavsson J., Nystrom F.H., Stralfors P. Insulin resistance in human adipocytes occurs downstream of IRS1 after surgical cell isolation but at the level of phosphorylation of IRS1 in type 2 diabetes. *FEBS J.* 2005; 272 (1): 141–151. DOI: 10.1111/j.1432-1033.2004.04396.x.
50. Pessin J.E., Saltiel A.R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2000; 106 (2): 165–169. DOI: 10.1172/JCI10582.
51. Hammarstedt A., Graham T.E., Kahn B.B. Adipose tissue dysregulation and reduced insulin sensitivity in non-obese individuals with enlarged abdominal adipose cells. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2012; 4 (1): 42. DOI: 10.1186/1758-5996-4-42.
52. Arbarash O., Gruzdeva O., Uchasova E., Belik E., Dyleva Y., Karetnikova V. Biochemical markers of type 2 diabetes as a late complication of myocardial infarction: a case-control study. *Archives of Medical Science.* 2017; 13 (2): 311–320. DOI: 10.5114/aoms.2017.65240.
53. Xin X., Zhou L., Reyes C.M., Liu F., Dong L.Q. APPL1 mediates adiponectin-stimulated p38 MAPK activation by scaffolding the TAK1-MKK3-p38 MAPK pathway. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2011; 300 (1): 103–110. DOI: 10.1152/ajpendo.00427.2010.
54. Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizo T., Kita S. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003; 423 (6941): 762–769. DOI: 10.1038/nature01705.
55. Ghadge A.A., Harke S.M., Khadke S.P., Diwan A.G., Pan-kaj M., Kulkarni O.P., Ranjekar P.K., Kuvalekar A.A. Circulatory adipocytokines and lipid profile variations in type-2 diabetic subjects: desirable side-effects of antidiabetic drugs. *Diabetes Metab. Syndr.* 2014; 8 (4): 230–232. DOI: 10.1016/j.dsx.2014.09.010.
56. Wang Z.V., Scherer P.E. Adiponectin, cardiovascular function, and hypertension. *Hypertension.* 2008; 51 (1): 8–14. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.099424.
57. Gruzdeva O., Uchasova E., Dyleva Y., Karetnikova V., Barbarash O., Akbasheva O. Early effects of treatment low-dose atorvastatin on markers of insulin resistance and inflammation in patients with myocardial infarction. *Frontiers in Pharmacology.* 2016; 7: 324. DOI: 10.3389/fphar.2016.00324.
58. Rasouli N., Yao-Borengasser A., Miles L.M., Elbein S.C., Kern P.A. Increased plasma adiponectin in response to pioglitazone does not result from increased gene expression. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006; 290: 42–46. DOI: 10.1152/ajpendo.00240.2005.
59. Lin W.S., Chang H.M., Tai T.Y., Chuang L.M. Effect of thiazolidinedione on gene expression in NIH3T3-L1 adipocytes (Abstract). *Diabetes.* 1999; 48 (1): 217.
60. Ghadge A.A., Khaire A.A., Kuvalekar A.A. Adiponectin: potential therapeutic target for metabolic syndrome. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018; 39: 151–158. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2018.01.004.
61. Srivastava R.A.K., Pinkosky S.L., Filippov S., Hanselman J.C., Cramer C.T., Newton R.S. AMP-activated protein kinase: an emerging drug target to regulate imbalances in lipid and carbohydrate metabolism to treat cardio-metabolic diseases: thematic review series: new lipid and lipoprotein targets for the treatment of cardiometabolic diseases. *J. Lipid. Res.* 2012; 53 (12): 2490–2514. DOI: 10.1194/jlr.R025882.

Сведения об авторах

Учасова Евгения Геннадьевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория исследований гомеостаза, диагностика сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0003-4321-8977.

Груздева Ольга Викторовна, д-р мед. наук, зав. лабораторией исследований гомеостаза, отдел диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-7780-829X.

Белик Екатерина Владимировна, мл. науч. сотрудник, лаборатория исследований гомеостаза отдел, диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0003-3996-3325.

Дылева Юлия Александровна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория исследований гомеостаза отдел, диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-6890-3287.

(✉) **Учасова Евгения Геннадьевна**, e-mail: evg.uchasova@yandex.ru.

Поступила в редакцию 07.02.2019

Подписана в печать 25.12.2019

УДК 616.12-005.755-005.4-06:616.831-005.1]-089.819.6-039.74

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-198-203>

Неотложная рентгенэндоваскулярная тромбаспирация при ишемическом кардиоэмболическом инсульте

Атаманов С.А.¹, Мельник А.В.¹, Квашин А.И.¹, Коробейников И.В.¹, Григорьев Е.Г.^{2,3}

¹ Иркутская областная клиническая больница (ИОКБ)

Россия, 664049, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100

² Иркутский научный центр хирургии и травматологии (ИНЦХТ)

Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1

³ Иркутский государственный медицинский университет (ИГМУ)

Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

РЕЗЮМЕ

Представлено клиническое наблюдение успешной внутрисосудистой аспирации у пациента с острым ишемическим инсультом кардиоэмболического генеза. Верифицирован неокклюзивный критический тромбоз экстракраниального сегмента левой внутренней сонной артерии с дистальной тотальной эмболизацией средней мозговой артерии. В ходе проведения вмешательства произошла дислокация тромботических масс в супраклиноидный сегмент.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, кардиоэмболия, ишемический инсульт, внутренняя сонная артерия, тромбаспирация, тромбэкстракция.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Атаманов С.А., Мельник А.В., Квашин А.И., Коробейников И.В., Григорьев Е.Г. Неотложная рентгенэндоваскулярная тромбаспирация при ишемическом кардиоэмболическом инсульте. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 198–203. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-198-203>.

Emergency roentgen-endovascular clot aspiration in cardioembolic stroke

Atamanov S.A.¹, Mel'nik A.V.¹, Kvashin A.I.¹, Korobeinikov I.V.¹, Grigoryev T.G.^{2,3}

¹ Irkutsk Regional Clinic

100, Yubileyniy Str., Irkutsk, 664049, Russian Federation

² Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology

1, Bortsov Revolyutsii Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

³ Irkutsk State Medical University

1, Krasnogo Vosstaniya Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

✉ Григорьев Евгений Георгиевич, e-mail: egg@iokb.ru.

ABSTRACT

A case report of successful intravascular aspiration in a patient with acute cardioembolic stroke is presented. Non-occlusive critical thrombosis of the extracranial segment of the left internal carotid artery with distal total embolization of the medial cerebral artery was verified. During the intervention, the dislocation of thrombotic masses into the supraclinoid segment occurred.

Key words: atrial fibrillation, cardiac embolism, ischemic stroke, cerebral angiography, thromboembolism, thrombectomy, internal carotid artery.

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

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Atamanov S.A., Mel'nik A.V., Kvashin A.I., Korobeinikov I.V., Grigoryev T.G. Emergency roentgen-endovascular clot aspiration in cardioembolic stroke. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 198–203. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-198-203>.

ВВЕДЕНИЕ

Инсульт остается одной из лидирующих причин смертности, лишь немного уступая ишемической болезни сердца. Инвалидизация, реабилитационные затраты, потеря социальной активности и работоспособности – факторы, наносящие удар как по семье пациента, так и по экономике государства в целом.

Ежегодно в Соединенных Штатах регистрируют около 800 тыс. инсультов, в Европейском Союзе – примерно 1 млн [1], в России – более 450 тыс. На ишемический вариант болезни приходится 80% из них. Устранение острой тромботической окклюзии интракраниальной артерии как причины инфаркта мозга является основной целью эндоваскулярного вмешательства [2], а внедрение внутрисосудистых методов лечения ишемического инсульта (ИИ) в последнее десятилетие привело к снижению летальности при остром нарушении мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому типу кардиоэмболического или атеротромботического генеза [1].

Восстановление кровотока по инсульт-зависимой артерии в ранние сроки обеспечивает уменьшение области инфаркта за счет сохранения пенумбры – зоны «оглушения» мозгового вещества. Именно от этого зависит непосредственный результат реабилитации пациента [3].

Внутривенная тромболитическая терапия (ВТТ) рекомендована как стандарт лечения при отсутствии противопоказаний в острейшем периоде ИИ [4, 5]. Проведение тромболитизиса в течение 4,5 ч от возникновения клинических проявлений значительно улучшает исход заболевания [6].

Эндоваскулярная контактная (аспирационная) тромбэкстракция и механическая тромбэктомия

(МТЭ) являются современными методами лечения ИИ, способствующими быстрому восстановлению пациентов и снижению риска неблагоприятного исхода.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациент 64 лет доставлен бригадой скорой медицинской помощи в Иркутскую областную клиническую больницу в острейшей стадии ишемического инсульта, через 1 ч 45 мин после начала клинических проявлений. При осмотре неврологом установлены правосторонний гемипарез, афазия, оглушение. В анамнезе постоянная форма фибрилляции предсердий, нерегулярный прием антикоагулянтов.

Проведена компьютерная томография (КТ) головного мозга, включая КТ-ангиографию. Согласно клиническим рекомендациям произведен забор крови для выполнения комплекса экстренных лабораторных исследований.

При КТ-ангиографии визуализирован тромбоз М1 сегмента средней мозговой артерии (СМА) слева, критический стеноз с признаками изъязвленной бляшки в начальном сегменте внутренней сонной артерии (ВСА) слева с потерей просвета до 90%, окклюзия наружной сонной артерии слева (рис. 1).

Оценка ранних признаков ишемии мозга по шкале ASPECTS (Alberta Stroke Program early computed tomography) [7] составила 8 баллов. Суммарный балл по шкале тяжести инсульта NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) – 19 баллов. Шкала комы Глазго – 10–14 баллов (умеренное и глубокое оглушение). Индекс по модифицированной шкале Ренкина – 5 баллов (грубое нарушение жизнедеятельности, прикован к постели, постоянно нуждается в помощи медицинского персонала).

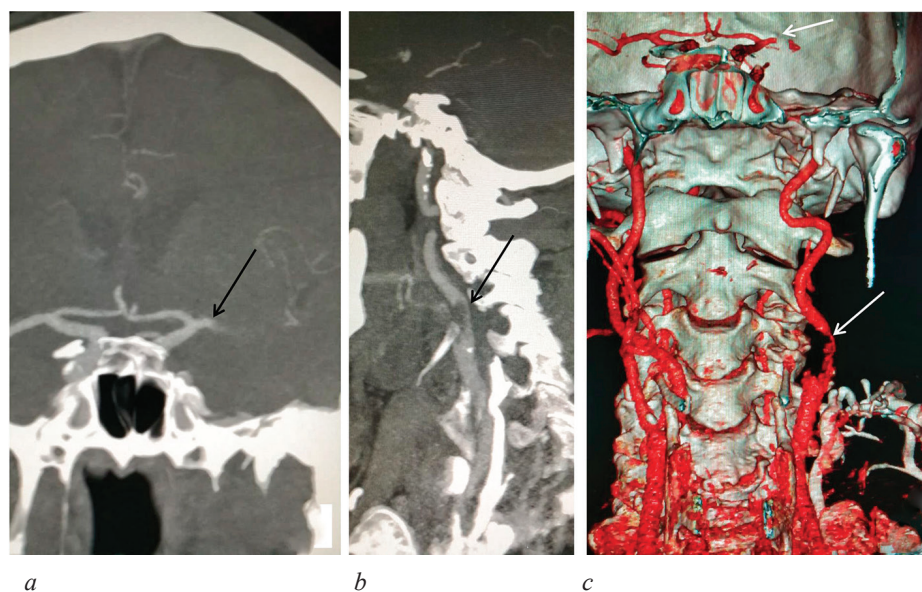


Рис. 1. Компьютерная томограмма-ангиограмма при поступлении: окклюзия сегмента М1 средней мозговой артерии (стрелка, *a*); тромб внутренней сонной артерии (стрелка, *b*); 3D-реконструкция, окклюзия сегмента М1 средней мозговой артерии и тромб внутренней сонной артерии (стрелки, *c*)

Оценивались основные показатели жизнедеятельности: уровень артериального давления, частота сердечных сокращений, выполнялась электрокардиограмма.

Основной диагноз: ишемический (вероятно кардиоэмболический) инсульт в бассейне СМА слева. Атеросклероз церебральных сосудов. Гипертоническая болезнь 3-й стадии, риск 4. Выраженный правосторонний гемипарез. Афазия. Оглушение. Сопутствующий диагноз: ишемическая болезнь сердца, постоянная форма фибрилляции предсердий, гипертоническая болезнь 3-й стадии, риск 4.

Учитывая клинические данные, результаты рентгенологических и лабораторных исследований (международное нормализованное отношение 1,5 – ВТТ противопоказана), принято решение о проведении эндоваскулярной реперфузии. Пациент доставлен в рентгенохирургическую операционную.

Пункция бедренной артерии выполнена через 3 ч от момента клинических проявлений ИИ. После установки интратрадиосера 8F, в условиях внутривенной седации, выполнена полипозиционная каротидная ангиография слева. Общая сонная артерия (ОСА) без патологии. Окклюдированный тромбоз наружной сонной артерии. В проекции начального экстракраниального отдела ВСА от устья визуализируется неокклюдированный тромбоз 18×5 мм с потерей просвета артерии до 90% (кровоток по шкале окклюзионного поражения артерии (AOL) – 1). Отмечается выраженная извитость экстра- и интракраниальных отделов ВСА, без стенотически-окклюзионных поражений.

Кровоток по передней мозговой артерии (ПМА) в полном объеме. Визуализируется окклюдивный тромбоз М1-сегмента СМА (шкала AOL – 0). Видимые коллатерали в зоне ишемии отсутствуют (шкала оценки коллатерального кровотока (ACG) – 0).

Решено выполнить контактную тромбаспирацию под эндотрахеальным наркозом. Артериальное давление 140–150 мм рт. ст. В левую ОСА установлен гайд-катетер Neuron MAX (Penumbra, США). Реперфузионный катетер ACA 68 (Penumbra) и микрокатетер 3MAX (Penumbra), на коронарном проводнике Fielder FC (Asahi), подведены к тромбозу ВСА. После удаления микрокатетера и проводника аспирационный катетер фиксирован у тромба и подключен к насосу Penumbra MAX. Аспирация в течение 5 мин. Катетер извлечен, тромботических масс не получено. На контрольных ангиограммах – смещение тромба в супраклиноидный сегмент ВСА. ПМА и СМА слева не контрастируют (рис. 2).

Триаксиальная система установлена в ВСА, аспирационный катетер подведен к тромбу, выполнена двухкратная тромбаспирация (до 4 мин) из супраклиноидного отдела ВСА. В ходе второй попытки аспирирован тромб до 4 см длиной (рис. 3).

При контрольной каротидной ангиографии – восстановление кровотока по ВСА и ПМА. СМА окклюдирована в М1. Проведена внутрисосудистая тромбаспирация из бассейна СМА (М1) в течение 4,5 мин. Аспирирован тромб длиной до 7 см. На итоговых ангиограммах – полное восстановление

кровотока по ВСА, ПМА, СМА слева (шкала AOl – 3, шкала mTICI – 3 балла). Экстравазации контраста нет, венозная фаза контрастирования наступает своевременно (рис. 4).

Артериальное давление на момент реканализации 110–115 мм рт. ст. Время от начала ИИ до полного восстановления кровотока в бассейне левой внутренней сонной артерии 4 ч 47 мин. Пациент переведен в реанимацию, экстубирован через 15 ч.



Рис. 2. Исходная каротидная ангиография слева, тромб внутренней сонной артерии и окклюзия сегмента М1 средней мозговой артерии (стрелки, *a*); смещение тромба внутренней сонной артерии в супраклиноидный отдел внутренней сонной артерии (стрелка, *b*)

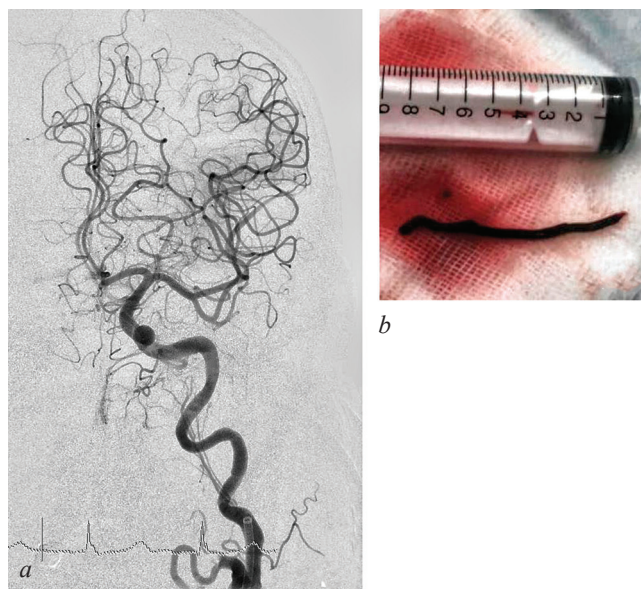


Рис. 4. Каротидная ангиография слева после тромбаспирации из сегмента М1 средней мозговой артерии слева (*a*); аспирированный тромб (*b*)

Адекватен, контакту доступен. Речевые нарушения – дизартрия, элементы афазии с выраженным регрессом. Правосторонний гемипарез уменьшился до умеренного.

Выполнена КТ: геморрагическая трансформация в области базальных ядер слева (размер 14×13 мм), проявление церебрального атеросклероза и дисциркуляторной энцефалопатии, наружная и внутренняя гидроцефалия (рис. 5).

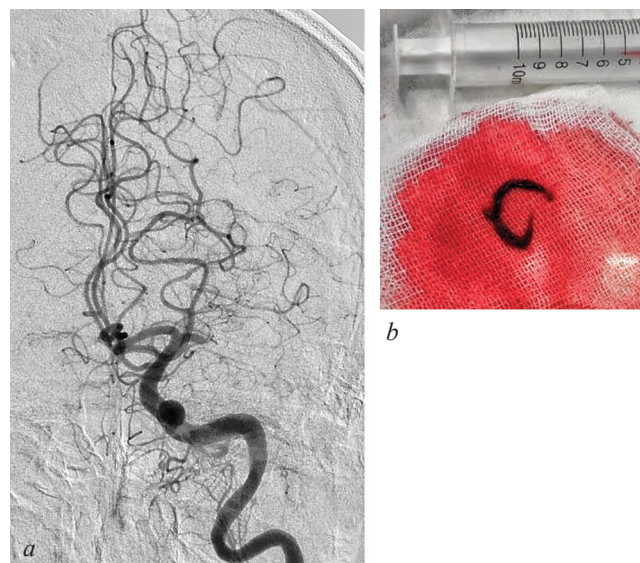


Рис. 3. Каротидная ангиография слева после тромбаспирации из супраклиноидного отдела внутренней сонной артерии (*a*); аспирированный тромб (*b*)

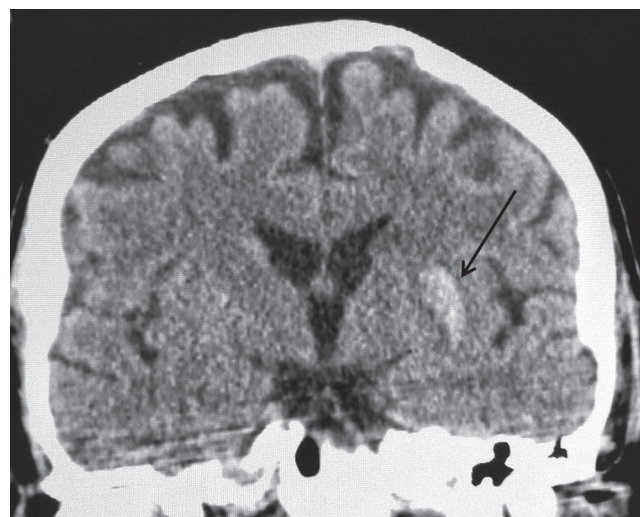


Рис. 5. Компьютерная томограмма через 1 сут после эндоваскулярной тромбаспирации. Очаг геморрагической трансформации (стрелка)

Через 3 сут переведен из палаты реанимации в стационар. На момент выписки нарушений речи нет. Умеренный правосторонний гемипарез. Суммарный балл по шкале тяжести инсульта NIHSS – 7 баллов. Индекс по модифицированной шкале Ренкина – 3 балла.

ОБСУЖДЕНИЕ

Кардиоэмболический тип ОНМК составляет около 20% всех транзиторных ишемических атак и 12–31% всех ИИ. Основными факторами риска кардиоэмболии являются фибрилляция предсердий, мерцательная аритмия и инфаркт миокарда [8, 9].

В представленном клиническом наблюдении у пациента с фибрилляцией предсердий на фоне нерегулярного приема антикоагулянтных препаратов возникло ОНМК, что позволило заподозрить кардиоэмболическую природу ИИ. Гипотеза подтверждена результатами КТ-ангиографии, где обнаружены как окклюзия наружной сонной артерии, так и тандемное поражение ВСА (неокклюзирующий тромбоз в начальном отделе с дистальной тотальной эмболизацией СМА). Учитывая «терапевтическое окно», решено выполнить один из вариантов реперфузии целевой артерии. При наличии противопоказаний к ВТТ, с одной стороны, и малой эффективности последней при кардиоэмболическом поражении – с другой, наиболее оправданной является эндоваскулярная реперфузия.

Эндоваскулярная тромбэктомия должна выполняться опытными рентгенохирургами в операционной, оснащенной необходимым ангиографическим оборудованием и расходными материалами. Нередко требуется эндотрахеальный наркоз. При проведении вмешательства может возникнуть трудно купируемый спазм сонной артерии, ее диссекция, а также фрагментация тромба с дистальной эмболизацией и усугублением неврологического дефицита.

На сегодняшний день существуют два наиболее изученных метода эндоваскулярной реперфузии при ИИ – контактная тромбаспирация и механическая тромбэктомия. Наиболее обнадеживающие результаты МТЭ показала при использовании стент-ретриверов Solitaire FR (EV3, США) и Trevo Pro (Stryker, США). Достоверных различий при применении тромбаспирационной системы Penumbra и стент-ретриверов точно не установлено [10].

В исследовании Trevo versus Merci retrievers for thrombectomy Revascularisation of large Vessel Occlusion (TREVO-2) применение стент-ретривера Trevo позволило достичь частоты реканализации TICI 2–3 в 86% случаев, а хороший клинический исход через 90 сут отмечен у 40% больных при уровне

90-суточной летальности 34,1% [4, 11]. Применение аспирационной системы Penumbra в рамках клинического исследования позволило реканализовать обтурированную артерию до уровня TIMI 2–3 в 87% случаев с хорошим клиническим исходом через 90 сут у 41% больных и смертностью 20% [2, 12, 13].

На начальном этапе выбрана тактика контактной тромбаспирации с применением широкопросветного аспирационного катетера системы Penumbra (при этом отделение имеет необходимый инструментарий для выполнения механической тромбэктомии, включая проводниковый баллон-катетер). После подведения катетера к тромбу и проведенной аспирации возникло осложнение – дислокация тромба с тотальной окклюзией супраклиноидного сегмента. Возможно, МТЭ стент-ретривером на фоне реверсивного кровотока с применением баллон-катетера позволила более эффективно выполнить вмешательство на начальном этапе. Однако была выбрана другая тактика. При этом после дополнительных проведенных трех сеансов тромбаспирации удалось добиться полного восстановления церебрального кровотока по левому каротидному бассейну с регрессом неврологического дефицита и восстановлением основных витальных функций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует вероятность дислокации тромботических масс при проведении контактной тромбаспирации у пациентов со сложными тандемными поражениями ВСА. Только многократные, последовательные, «поэтажные» тромбэкстракции позволяют добиться успеха и восстановить магистральный кровоток.

ЛИТЕРАТУРА

1. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2017 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2017; 135: e146-ecod603. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000485.
2. Ciccone A., del Zoppo G.J. Evolving role of endovascular treatment of acute ischemic stroke. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2014; 14(1): 416. DOI: 10.1007/s11910-013-0416-6.
3. Papanagiotou P., Ntaios G. Endovascular thrombectomy in acute ischemic stroke. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2018; 11: e005362. DOI: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.117.005362.
4. Савелло А.В., Вознюк И.А., Свистов Д.В. Внутрисосудистое лечение ишемического инсульта в острейшем периоде (клинические рекомендации). СПб., 2015: 36.
5. Rudd A.G., Hoffman A., Grant R., Campbell J.T., Lowe D. Stroke thrombolysis in England, Wales and Northern Ireland: how much do we do and how much do we need? *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2011; 82 (1): 14–19. DOI: 10.1136/jnnp.2009.203174.

6. Stroke Thrombolysis Trialists' Collaborative Group. Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet*. 2014; 384 (9958): 1929–1935. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60584-5.
7. Hill M.D., Demchuk A.M., Goyal M., Jovin T.G., Foster L.D., Tomsick T.A., Rüdiger von Kummer R., Yeatts S.D., Palesch Y.Y., Broderick J.P. Alberta stroke program early computed tomography score to select patients for endovascular treatment: interventional management of stroke (IMS)-III Trial. *Stroke*. 2014; 45 (2): 444–449. DOI: 10.1161/STROKEA-HA.113.003580.
8. Дамулин И.В., Андреев Д.А., Салпагарова З.К. Кардиоэмболический инсульт. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2015; 7 (1): 80–86. DOI: 10.14412/2074-2711-2015-1-80-86.
9. Wang D., Liu M., Hao Z., Tao W. Association between reduced kidney function and clinical outcomes after ischaemic stroke with atrial fibrillation. *Eur. J. Neurol*. 2014; 21 (1): 160–166. DOI: 10.1111/ene.12293.
10. American Heart Association Stroke Council. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke. *Stroke*. 2013; 44 (3): 870–947. DOI: 10.1161/STR.0b013e318284056a.
11. Nogueira R.G., Lutsep H.L., Gupta R., Jovin T.G., Albers G.W., Walker G.A., Liebeskind D.S., Smith W.S. Trevo versus Merci retrievers for thrombectomy revascularisation of large vessel occlusions in acute ischaemic stroke (TREVO 2): a randomised trial. *Lancet*. 2012; 380 (9849): 1231–1240. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61299-9.
12. Аналеев А.И., Семитко С.П. Эндоваскулярное лечение ишемического инсульта: история развития и первый опыт. *Consilium Medicum*. 2017; 19 (1): 36–41.
13. Tarr R., Hsu D., Kulcsar Z., Bonvin C., Rufenacht D., Alfke K., Stinge R., Jansen O., Frei D., Bellon R., Madison M., Struffert T., Dorfler A., Grunwald I., Reith W., Haass A. The POST trial: initial post-market experience of the Penumbra system: revascularization of large vessel occlusion in acute ischemic stroke in the United States and Europe. *J. Neurointerv. Surg*. 2010; 2 (4): 341–344. DOI: 10.1136/jnis.2010.002600.

Сведения об авторах

Атаманов Сергей Анатольевич, канд. мед. наук, врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению, ИОКБ, г. Иркутск. ORCID 0000-0002-9660-3740.

Мельник Алексей Викторович, врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению, ИОКБ, г. Иркутск.

Квашин Александр Иванович, канд. мед. наук, зав. отделением рентгенохирургических методов диагностики и лечения, ИОКБ, г. Иркутск.

Коробейников Иван Викторович, врач-невролог, ИОКБ, г. Иркутск. ORCID 0000-0003-0361-1512.

Григорьев Евгений Георгиевич, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, научный руководитель ИНЦХТ; зав. кафедрой госпитальной хирургии, ИГМУ, г. Иркутск. ORCID 0000-0002-5082-7028.

(✉) Григорьев Евгений Георгиевич, e-mail: egg@iokb.ru.

Поступила в редакцию 06.08.2019

Подписана в печать 25.12.2019

Оптимизация иммуносупрессивной терапии при выполнении третьей пересадки почки в раннем послеоперационном периоде. Клиническое наблюдение

Ржевская О.Н.¹, Пинчук А.В.¹, Первакова Э.И.², Бабкина А.В.¹

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

² Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Россия, 129090, г. Москва, Большая Сухаревская пл., 3

РЕЗЮМЕ

Выбор иммуносупрессивной терапии определяется степенью сенсibilизации к комплексу генов гистосовместимости на 6-й хромосоме (HLA). У пациентов при повторной пересадке почки риск отторжения в ранние сроки после операции увеличивается. Оптимизация иммуносупрессивной терапии – единственный путь продления жизни пациента с хронической почечной недостаточностью в терминальной стадии. Проведен анализ клинического случая пациента 47 лет после выполнения третьей аллотрансплантации трупной почки в 2016 г., находившегося на лечении в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского с диагнозом «хронический гломерулонефрит (IgA-нефропатия), хроническая почечная недостаточность, терминальная стадия». В раннем послеоперационном периоде помимо базовой иммуносупрессии были назначены антилимфоцитарные поликлональные антитела в сочетании с сеансами плазмафереза для лечения и профилактики острого криза отторжения в ранние сроки после операции.

Впервые с целью профилактики развития острого криза отторжения, минимизации инфекционных осложнений иммуносупрессивной терапии у реципиента после третьей пересадки почки были применены сеансы плазмафереза с использованием плазмодифильтра с полиметокрилатной мембраной в сочетании с коротким курсом поликлональных антител.

Ключевые слова: трансплантация почки, иммуносупрессивная терапия, сенсibilизация пациента.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Ржевская О.Н., Пинчук А.В., Первакова Э.И., Бабкина А.В. Оптимизация иммуносупрессивной терапии при выполнении третьей пересадки почки в раннем послеоперационном периоде. Клиническое наблюдение. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 204–208. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-204-208>.

Optimization of immunosuppressive therapy during the third kidney transplant in the early postoperative period. Clinical observation

Rzhevskaya O.N.¹, Pinchuk A.V.¹, Pervakova E.I.², Babkina A.V.¹

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

✉ Ржевская Ольга Николаевна, e-mail: dr_rzhevskayaolga@mail.ru.

² N.V. Sklifosovsky Scientific Research Institute of Emergency Medicine
3, Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow, 129090, Russian Federation

ABSTRACT

The choice of immunosuppressive therapy is determined by the degree of sensitization to the histocompatibility gene complex on chromosome 6 (HLA). The risk of rejection in the early periods after surgery increases for the patients with repeated kidney transplantation. Optimizing immunosuppressive therapy is the only way to prolong the life of a patient with a terminal stage of chronic renal failure. The analysis of a clinical case of a 47-year-old patient who was undergoing treatment at the N.V. Sklifosovsky Scientific Research Institute of Emergency Medicine after the third allotransplantation of a cadaveric kidney in 2016 was performed. The patient was diagnosed with chronic glomerulonephritis (IgA-nephropathy) chronic end-stage renal failure; in the early postoperative period, in addition to basic immunosuppression, anti-lymphocytic polyclonal antibodies were prescribed in combination with plasmapheresis sessions for the treatment and prevention of acute rejection crisis in the early postoperative period. For the first time, in order to prevent the development of an acute rejection crisis and minimize infectious complications of immunosuppressive therapy in the recipient after the third kidney transplant, plasmapheresis sessions were used using a plasmapheresis filter with a polymethylacrylate membrane in combination with a short course of polyclonal antibodies.

Key words: kidney transplantation, immunosuppressive therapy, sensitization of the patient.

Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Source of financing. No funding was received.

For citation: Rzhetskaya O.N., Pinchuk A.V., Pervakova E.I., Babkina A.V. Optimization of immunosuppressive therapy during the third kidney transplant in the early postoperative period. Clinical observation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 204–208. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-204-208>.

ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом в листе ожидания увеличивается количество пациентов для повторной пересадки почки. Несмотря на появление новых поколений иммуносупрессивных препаратов (микофеноловой кислоты, даклизумаба, базиликсимаба, такролимуса), плазмафереза с использованием плазмофильтра с полиметилакрилатной мембраной (ПММА), вопрос о повторной трансплантации почки остается открытым. Пациенты из этой категории могут быть отнесены в группу с высоким риском развития острого криза отторжения (ОКО) в раннем послеоперационном периоде. Отторжение – основная проблема в раннем послеоперационном периоде и одна из основных причин ранних потерь трансплантатов. В реализации механизма отторжения участвуют циркулирующие иммунные комплексы и циркулирующие антитела, направленные к эндотелиальным, HLA или другим почечным антигенам. В результате чего возникает острый ангиит с поражением мелких и средних артерий почечного трансплантата, нередко с сопутствующим гломерулитом [1].

В клинической трансплантологии предлагались различные методы профилактики ОКО у этой ка-

тегории больных. С успехом использовались экстракорпоральные методы терапии в комбинации с базовой иммуносупрессивной терапией или применялись антилимфоцитарные препараты [2, 3]. Но воздействия не всегда оказывались эффективными, и с учетом их высокой стоимости не во всех случаях могли быть использованы. Следует учитывать факт, что моно- или поликлональные антилимфоцитарные препараты назначать с целью профилактики ОКО у сенсibilизированных реципиентов при повторных пересадках почки невозможно из-за формирования титра антител [1, 3, 4].

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациент Д., 1969 г. р., поступил в мае 2016 г. в отделение пересадки почки и поджелудочной железы с целью проведения третьей трансплантации почки. Клинический диагноз – «хронический гломерулонефрит (IgA-нефропатия). Хроническая почечная недостаточность (ХПН), терминальная стадия. Состояние после двух аллотрансплантаций почек (АТП) (1997, 2008 г). Стероидный сахарный диабет в стадии субкомпенсации. Вторичная анемия. Вторичная артериальная гипертензия.

Состояние после иссечения опухоли теменной области. Хронический вирусный гепатит В и С. Поверхностный гастрит. Хронический рефлюкс-эзофагит. Аксиальная кардиальная грыжа пищевода отдела диафрагмы».

Из анамнеза заболевания известно, что пациент болен с 1996 г., когда впервые диагностировали хронический гломерулонефрит с признаками ХПН. В 1997 г. была проведена первая АТП. В ранние сроки после операции диагностировали ОКО, проводилась пульстерапия метилпреднизолоном в дозе 3 г, использовали антилимфолин (суммарная доза составила 1,6 г). После терапии отмечено восстановление суточного диуреза и снижение креатинина до 0,15 ммоль/л.

Пациент был выписан из стационара с удовлетворительной функцией почечного трансплантата. С 2000 г. отмечены признаки дисфункции почечного трансплантата в виде появления протеинурии повышения креатинина до 0,250 ммоль/л. В 2001 г. с диагностической целью проведена биопсия почечного трансплантата и выявлены морфологические признаки возвратного гломерулонефрита (IgA-нефропатия) почечного трансплантата. Проводилась симптоматическая и иммуносупрессивная терапия. С 2006 г. нарастали боли в крупных и мелких суставах, периодически прослеживалась макрогематурия. При обследовании диагностировали подагрический артрит, был назначен аллопуринол.

В течение последующих месяцев отмечено нарастание уровня креатинина в крови до 0,68 ммоль/л и снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) до 8 мл/мин. Диагностирована возвратная ХПН почечного трансплантата, назначена заместительная почечная терапия. Продолжена терапия гемодиализом.

В июле 2009 г. выполнена повторная АТП. Отмечена немедленная функция трансплантата с постепенным снижением азотемических шлаков и длительным заживлением послеоперационной раны. Пациенту назначена 3-компонентная схема иммуносупрессии: циклоспорин, микофеноловая кислота, преднизолон. При выписке из стационара на 42-е сут уровень креатинина составлял 0,08 ммоль/л. Концентрация циклоспорина в крови – 144 нг/мл. Через 2 мес пациент отметил боли в области послеоперационной раны. По данным УЗИ выявлено увеличение размеров почечного трансплантата, на фоне нарастания креатинина до 0,15 ммоль/л, появления протеинурии до 0,3 г/сут и эритроцитурии. В связи с этим пациенту выполнена биопсия почечного трансплантата. По результатам биопсии верифицирован острый криз отторжения. Назначена пульстерапия

метилпреднизолоном (МП), суммарная доза составила 1,5 г. С 2013 г. диагностирована возвратная ХПН и начато лечение программным гемодиализом (ПГД). В последующие сроки были определены показания к проведению третьей АТП, и пациент направлен в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

В мае 2016 г. проведена третья АТП слева. Срок холодовой ишемии почечного трансплантата составил 20 ч, cross-match test отрицательный, mismatch A, A, B, Drb1. Учитывая высокий риск развития ОКО в ранние сроки после операции, с целью профилактики ОКО назначался внутривенно тимоглобулин в дозе 50 мг/сут в течение 5 сут, а также пульс-терапия МП (суммарная доза 1 г). В связи с повышенным уровнем азотемических остатков больному в ранние сроки после пересадки проводили гемодиализ с использованием диализаторов на основе полиметилметакрилатных мембран (ГД-ПММА) № 4. В течение первых 18–24 ч после операции назначался такролимус в дозе 0,1 мг/кг в сутки. С первых суток после операции реципиент получал 3-компонентную схему иммуносупрессии – преднизолон 0,6 г/кг в сутки, селлсепт 2 г/сут и такролимус. На фоне терапии отмечалась начальная функция трансплантата с медленным снижением азотемических шлаков. Восстановление диуреза прослеживалось со 2-х сут после операции. Суточный диурез был достаточный, до 2000–2500 мл/сут со стимуляцией петлевыми диуретиками от 120 до 60 мг в 1-е сут после операции. Артериальное давление (АД) в послеоперационном периоде изменялось на фоне применения комбинированной гипотензивной терапии, было не выше 115/75 мм рт. ст. В течение 1-го мес после операции уровень АД оставался стабильными – не ниже 110/65 мм рт. ст., не превышал 125/75 мм рт. ст., вес 63–65 кг. Заживление послеоперационной раны осуществлялось вторичным натяжением, на 21-е сут выявлено расхождение кожных швов в верхней и средней трети раны.

При ультразвуковом исследовании почечного трансплантата размеры оставались стабильными на протяжении всего периода наблюдения в стационаре: 134 × 60 × 17 мм, контуры почечного трансплантата были четкие, ровные, чашечно-лоханочная система не расширена, величина лоханки не более 1,4 см, индекс резистентности 0,52–0,68. Магистральный тип артерий в области устья не лоцировался, венозный отток не нарушался. На 14-е сут после операции была проведена динамическая нефросцинтиграфия почечного трансплантата, выявлена удовлетворительная перфузия и умеренные нарушения экскреторной функции трансплантата, СКФ составила 42 мл/мин. При рентгенологическом ис-

следовании органов грудной клетки отмечено расширение тени сердца в поперечнике за счет левых отделов, признаки обызвествления аорты. Пациент в удовлетворительном состоянии был выписан на 31-е сут. Наблюдения в последующие 12 мес выявили сохранную функцию трансплантата на фоне удовлетворительного состояния и самочувствия пациента.

ОБСУЖДЕНИЕ

Пациент расценивался в «листе ожидания» как реципиент с очень высоким иммунологическим риском развития ОКО в ранние сроки после аллотрансплантации. Учитывая наличие острых и хронических кризов отторжения в анамнезе, подтвержденных биопсией, а также высокий титр преобладающих антител перед выполнением третьей пересадки почки. В качестве профилактики и терапии острых реакций отторжения при повторных пересадках почек используют внутривенное введение поликлональных антител и сеансы плазмафереза [1, 4, 5].

В качестве лечения и профилактики ОКО при выполнении первых двух аллотрансплантаций нами использовалась пульстерапия метилпреднизолоном без применения поликлональных антител. Поэтому при третьей АТПП в качестве четвертого компонента иммуносупрессивной терапии был использован тимоглобулин, а также гемодиализ (ГД-ПММА). Механизм действия тимоглобулина обуславливает снижение количества лимфоцитов, вовлеченных в каскад активации Т-клеток в реакции отторжения трансплантата, таких как СВ2, СВ3, СВ4, СВ8, СВ11а, СВ, В 25, HLA DR- и HLA Drl-класса.

Также тимоглобулин вызывает активацию функций лимфоцитов, связанных с их иммунодепрессивной активностью. Так, *in vitro* в концентрации около 0,1 мг/мл тимоглобулин активирует Т-лимфоциты и стимулирует их пролиферацию (одинаково для субпопуляций CD 4+ и CD8+) с синтезом интерлейкина-2 и экспрессией CD-25. Эта митогенная активность реализуется в основном посредством CD-2 [2]. В нашем случае тимоглобулин назначался с целью профилактики ОКО почечного трансплантата в дозе 1 мг/кг в сутки в течение 5 сут после пересадки почки с предварительным внутривенным введением глюкокортикоидов и антигистаминных препаратов. Кроме использования тимоглобулина впервые при проведении четырех сеансов гемодиализа были использованы диализаторы с ПММА-мембранами. Гемодиализ проводился на аппарате «Искусственная почка» в течение 4 ч. Тип диализатора ВК-2,1 F TORAY [5]. На фоне лечения у пациента в течение первых 2 нед отмечалось выраженное снижение аб-

солютного числа всех популяций лимфоцитов более чем на 80%. Спустя 21 сут после операции уровень лейкоцитов в крови не превышал $2,78 \times 10^9/\text{л}$, а количество лимфоцитов – не выше 4,3%. При этом в процессе лечения осуществлялся еженедельный мониторинг количества антител к HLA. До проведения процедуры титр антител по II классу превышал 8 585 [3]. На фоне комплексной терапии и после проведения четырех сеансов гемодиализа титр антител снизился и составил 1 468.

Учитывая такие значимые предикторы, как начальная функция почечного трансплантата, отсутствие острой реакции криза отторжения в ранние сроки после операции, нормализация азотемических шлаков и отсутствие протеинурии, возможно предположить оптимистичный прогноз для оценки исхода третьей трансплантации почки. Применение сеансов гемодиализа с использованием диализаторов на основе ПММА-мембран и назначение коротких курсов поликлональных антител в раннем послеоперационном периоде позволили избежать развития необратимого острого отторжения, развития инфекционных осложнений и утраты функции почечного трансплантата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Превентивная профилактика острых кризов отторжения позволила осуществить третью пересадку почки пациенту с высоким иммунологическим риском развития ОКО. С целью оптимизации иммуносупрессивной терапии в раннем послеоперационном периоде пациенту были проведены сеансы гемодиализа с использованием диализаторов на основе ПММА-мембран. Проводимая комплексная терапия позволила предотвратить развитие острого криза отторжения в ранние сроки после аллотрансплантации почки и минимизировать инфекционные осложнения четырехкомпонентной схемой иммуносупрессивной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шумакова В.И. (ред.) Трансплантология. Руководство. М.: Медицина, 1995: 384.
2. Belitsky P., MacDonald A., Lawen J. et al. Use of rabbit anti-monocyte globulin for induction immunosuppression in high-risk kidney transplant recipients. *Transplant. Proc.* 1997; 29 (7A): 16S–17S.
3. Lefaucheur C., Loupy A., Hill G.S. et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J. Soc. Nephrol.* 2010; 21 (8): 1398–13406. DOI: 10.1681/ASN.2009101065.
4. Lee C.-Y., Lin W.-C., Wu M.-S., Yang C.-Y., Yeh C.-C., Tsai M.-K. Repeated cycles of high-dose intravenous immunoglobulin and plasmapheresis for treatment of late antibody-mediated

ed rejection of renal transplants. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2016; 115 (10): 845–852. DOI: 10.1016/j.jfma.2016.07.007.

5. Казимиров В.Г. Перлин Д.В., Щербакова Е.О. и др. При-

менение плазмофереза в интенсивной терапии острой стероидрезистентной реакции отторжения ренальных трансплантатов. *Анестезиология и реаниматология*. 1998; (6): 62–65.

Сведения об авторах

Ржевская Ольга Николаевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение трансплантации почки и поджелудочной железы, НИИ им. Н.С. Склифосовского; профессор, кафедра трансплантологии и искусственных органов, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва. ORCID 0000-0001-6849-145.

Пинчук Алексей Валерьевич, канд. мед. наук, зав. науч. отделением трансплантации почки и поджелудочной железы, НИИ им. Н.С. Склифосовского; доцент, кафедра трансплантологии и искусственных органов, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва. ORCID 0000-0001-9019-9567.

Первакова Эльза Ибрагимовна, канд. мед. наук, зав. отделением реанимации и интенсивной терапии для больных после трансплантации, НИИ им. Н.С. Склифосовского, г. Москва. ORCID 0000-0002-2163-5537.

Бабкина Анна Васильевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра трансплантологии и искусственных органов, МГМСУ им. А.И. Евдокимова; врач, отделение острых гинекологических заболеваний, НИИ им. Н.С. Склифосовского, ORCID 0000-0002-5342-8268.

(✉) **Ржевская Ольга Николаевна**, e-mail: dr_rzhevskayaolga@mail.ru.

Поступила в редакцию 02.02.2020

Подписана в печать 16.06.2020

АВТОРОМ ПЕРВОГО В РОССИИ УЧЕБНИКА ПО БИОИНФОРМАТИКЕ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ СТАЛ УЧЕНЫЙ СИБГМУ

Издание и. о. заведующего кафедрой
медицинской и биологической кибернетики
Сибирского государственного медицинского университета,
доктора медицинских наук Наталии Часовских
впервые в России опубликовано в качестве учебника
по биоинформатике для медицинских специальностей.



Наталия
Часовских

«Основательная работа с изданиями и учебными материалами по биоинформатике ведется мной на протяжении пяти лет. Несмотря на перспективность данной области знаний, существует нехватка информационных ресурсов по теме, и, как следствие, возникает необходимость обращения к зарубежным источникам. Поэтому актуальным стал вопрос о создании такого труда, который позволил бы на доступном уровне познакомиться с основами биоинформатики. При подготовке учебника использовался материал ранее изданных собственных пособий, а также тематические публикации на английском языке и информация от разработчиков биоинформационных инструментов», – отметила Наталия Часовских.

Это первый учебник, рекомендованный Координационным советом по области образования «Здравоохранение и медицинские науки» к использованию в образовательных учреждениях для таких направлений подготовки, как «Медицинская биохимия», «Медицинская биофизика», «Медицинская кибернетика». Учебник также может быть рекомендован студентам технических специальностей, интересующимся медико-биологическими дисциплинами.

«Для медицинских вузов отечественных учебников по биоинформатике не существовало, в образовательной сфере применялись книги зарубежных авторов, переведенные на русский язык достаточно давно (5–10 лет), что для стремительно развивающейся дисциплины является крайне неэффективным. С появлением учебника основная задача – поддерживать актуальным его содержание, так как биоинформатика – одна из динамично развивающихся областей», – подчеркнула Наталия Часовских.

Современное издание составлено не только с учетом систематизации имеющегося опыта, но и адаптировано для медицинской науки. Такая практика позволит студентам медицинских вузов освоить междисциплинарную область в контексте фундаментальной медицины и биологии, что способствует оптимизации образовательного процесса.


«Специальность «Медицинская кибернетика», обучение по которой ведется на кафедре медицинской и биологической кибернетики СибГМУ, является современной и перспективной, так как учитывает основные тренды развития нашего общества: цифровизацию, нарастание объемов данных, персонализированную медицину. Помимо учебного процесса, на кафедре ведутся биоинформационные исследования механизмов социально-значимых заболеваний, к которым привлекаются и обучающиеся. Наши выпускники востребованы в разных сферах деятельности: как системные аналитики в здравоохранении, специалисты по работе с медицинскими данными (статистики), разработчики и аналитики программного обеспечения в биомедицинской сфере, специалисты по биоинформационной аналитике, в том числе для фармацевтической промышленности. Очевидно, что с каждым годом потребность в таких специалистах будет только нарастать», – добавила автор.

ISSN PRINT: 1682-0363
ISSN ONLINE: 1819-3684
Бюллетень сибирской медицины
bulletin.tomsk.ru

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 общенационального профиля «Бюллетень сибирский»

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 биомеханика,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инновационные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармакология,
- 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 – академик РАН И.В. Новиков.

Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Санктельство ПМ № 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 рекомендуются публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция от 12.2015).

Индексация:

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- КиберЛенинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- Web of Science (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года

Продолжил традиции первых медицинских журналов, на

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционный коллектив


Рецензирование

Этапа публикации

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Соблюдение этики: этикетки безопасности в лечении детей: факторы, влияющие на развитие сексуальности

Вып. 16, № 2 (2019)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Новиков И.В.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация протезирование гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети

OPEN ACCESS

PDF GENERATED BY

АНТИПЛАГИАТ

Академия наук

АНРИ

СИБИРЛЕНКА

DOAJ

LIBRARY.RU

ДИСТАНЦИОННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ

Global

Google

www.sibmedjournal.com

WELCOM

NLM Catalog

Open Archives

Research Index

РГБ

Scopus

WORLD SCIENCE

WorldCat

znanium.com